

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

Cristiane Gonçalves Souza

Influência de fatores abióticos na viabilidade polínica em *Adenium obesum*

Montes Claros

2020

Cristiane Gonçalves Souza

Influência de fatores abióticos na viabilidade polínica em *Adenium obesum*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientadora: Profa. Dra. Silvia Nietsche

Coorientadora: Profa. Dra. Clivia Carolina F. Possobom

Montes Claros
Outubro de 2020

Souza, Cristiane Gonçalves.

S729i Influência de fatores abióticos na viabilidade polínica em *Adenium obesum*/ Cristiane Gonçalves Souza.
2021 Montes Claros, 2020.

40 f.

Dissertação (mestrado) - Área de concentração em Produção Vegetal. Universidade Federal de Minas Gerais / Instituto de Ciências Agrárias.

Orientadora: Sílvia Nietzsche.

Banca examinadora: Clívia Carolina Fiorilo Possobom, Claudinéia Ferreira Nunes, Marlon Cristian Toledo Pereira.

Inclui referências: f.17-20; f.32-34.

1. Germinação. 2. Grãos de pólen. 3. Sacarose. 4. Temperatura. I. Nietzsche, Sílvia. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 631.53

ATA DE DEFESA DE DISSERTAÇÃO

Aos 30 dias do mês de outubro de 2020, às 09:00 horas, sob a Presidência da Professora Sílvia Nietzsche, D. Sc. (Orientadora - ICA-UFMG) e com a participação dos Professores Clivia Carolina Fiorilo Possobom, D. Sc. (Coorientadora - ICA/UFMG), Claudinéia Ferreira Nunes, D. Sc. (ICA/UFMG) e Marlon Cristian Toledo Pereira, D. Sc. (Unimontes), reuniu-se, por videoconferência, a Banca de defesa de dissertação de **CRISTIANE GONÇALVES SOUZA**, aluna do Curso de Mestrado em Produção Vegetal. O resultado da defesa de dissertação intitulada: **"Influência de fatores abióticos na viabilidade polínica em *Adenium obesum*"**

sendo a aluna considerada (aprovada/reprovada) Aprovada. E, para constar, eu, Professora Sílvia Nietzsche, Presidente da Banca, lavrei a presente ata que depois de lida e aprovada, será assinada por mim e pelos demais membros da Banca examinadora.

OBS.: A aluna somente receberá o título após cumprir as exigências do ARTIGO 68 do regulamento do Curso de Mestrado em Produção Vegetal, conforme apresentado a seguir:

Art. 68 Para dar andamento ao processo de efetivação do grau obtido, o candidato deverá, após a aprovação de sua Dissertação ou Tese e da realização das modificações propostas pela banca examinadora, se houver, encaminhar à secretaria do Colegiado do Programa, com a anuência do orientador, no mínimo 3 (três) exemplares impressos e 1 (um) exemplar eletrônico da dissertação ou, 4 (quatro) exemplares impressos e 1 (um) exemplar eletrônico da tese, no prazo de 60 (sessenta) dias.

Montes Claros, 30 de outubro de 2020.



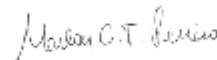
Sílvia Nietzsche
Orientadora



Claudinéia Ferreira Nunes
Membro



Clivia Carolina Fiorilo Possobom
Membro
Coorientadora



Marlon Cristian Toledo Pereira
Membro

Dedico a Deus que me permitiu a realização dessa dissertação e a dívida da vida. Ao meu pai Geraldo, a minha mãe Valdivia e minha irmã Eliane.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meu Deus por me permitir realizar esse sonho e ter me dado sabedoria e discernimento.

Aos meus queridos, meu pai minha mãe e minha irmã, que sempre acreditaram no meu potencial, e me incentivaram com muito carinho.

Agradeço a minha orientadora Professora Dra. Sílvia Nietzsche pela oportunidade ter sido orientada por ela, que é uma excelente profissional, por todo seu incentivo, exemplo e apoio, o meu muito obrigado.

À minha coorientadora Professora Dra. Clívia por todos os ensinamentos.

À professora Claudineia por toda paciência e oportunidade de aprendizagem em cultura de tecidos, e por todo carinho.

À professora Elka por ser tão prestativa e ao conhecimento na área do paisagismo.

Ao professor Marlon Cristian Toledo Pereira, por todas as suas contribuições positivas neste trabalho, disposição e orientação o meu muito obrigado.

Ao meu grupo de oração Shalom, por todo apoio espiritual, em especial aos integrantes do grupo Santa Teresinha gratidão.

As minhas colegas de equipe por toda ajuda durante esse período Rosane, Maria, Bruna, Deborah, Sabrina, Ludimila, Mirella.

Aos meus amigos por todo carinho, Felipe Leal, Ludmilla Leal, Afrânio, Brayonn, Eduardo, Guilherme, Fábio, Alex, Fernanda, Rayane, Nicole, Ana e Dani.

A CAPES, pelo incentivo e concessão da bolsa;

Ao laboratório de biotecnologia, e a EPAMIG Janaúba pelo estágio e contribuições para meu engrandecimento pessoal.

À Universidade Federal de Minas Gerais/ Instituto de Ciências Agrárias e a todos os professores que contribuíram para minha formação acadêmica e pessoal.

Muito Obrigada!

“As flores do futuro dependem da semente que você planta hoje.”

(Provérbio Chinês)

Influência de fatores abióticos na viabilidade polínica em *Adenium obesum*

RESUMO

A rosa-do-deserto, *Adenium obesum* (Forssk.) Roem. & Schult, é originária da África mais precisamente da região Sul do Saara. Pertence à família Apocynaceae. O conhecimento sobre a biologia reprodutiva das espécies é fundamental nos estudos de botânica e na propagação sexuada. Os grãos de pólen são um dos componentes mais importantes, e a sua viabilidade é essencial na área o melhoramento genético para produção de novos recombinantes. Os estudos indicam uma possível autoincompatibilidade e baixas taxas de viabilidade dos grãos de pólen nessa espécie, fatores que dificultam a polinização natural e artificial. Objetivou-se avaliar a influência de fatores abióticos na viabilidade polínica de *A. obesum*. Foram implantados dois experimentos que foram conduzidos no laboratório de Biotecnologia do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais. Experimento 1 (Viabilidade polínica *in vitro* sob diferentes temperaturas e concentrações de sacarose): o delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 4, com quatro temperaturas de germinação (15, 20, 30, 35°C), quatro diferentes concentrações de sacarose no meio de cultivo (0%, 1%, 2%, 3%) e quatro repetições. As flores da rosa-do-deserto foram coletadas na antese e os grãos de pólen foram inoculados em lâminas juntamente com o meio de cultura. Foram acondicionadas em câmara do tipo B.O.D por seis horas, e em seguida realizada a coloração com corante azul de toluidina. Experimento 2 (Efeito da temperatura no desenvolvimento e viabilidade dos grãos de pólen): o delineamento foi inteiramente casualizado com três temperaturas (20, 25 e 30°C) e três repetições. As plantas da rosa-do-deserto foram mantidas em três câmaras do tipo B.O.D para incubação sob as diferentes temperaturas, em fotoperíodo de dezesseis horas de luz. Foram avaliadas cinco flores na antese. Os grãos de pólen foram coletados, colocados em lâminas com uma gota do corante azul de anilina, uma gota de lugol, e fixados com uma gota de glicerina. Houve interação significativa entre os fatores temperatura e concentração de sacarose. A partir dos desdobramentos foi constatado que a maior porcentagem de grãos de pólen germinados *in vitro* viáveis foi de 39,81% na temperatura estimada de 26,05°C. Os acessos de rosa-do-deserto mantidos em B.O.D. sob temperatura de 30°C e fotoperíodo de 16 horas de luz apresentaram florescimento mais rápido e as temperaturas $\geq 25^\circ\text{C}$ indicaram porcentagens de viabilidade dos grãos de pólen acima de 69%.

Palavras-chave: Germinação. Rosa-do-deserto. Grãos de pólen. Sacarose. Temperatura.

Abiotic factors influence on polynic viability in *Adenium obesum*

ABSTRACT

The desert rose *Adenium obesum* (Forssk.) Roem. & Schult, that it is originated in Africa, more precisely in the Southern Sahara region belongs to the *Apocynaceae* family. The knowledge about the species reproductive biology is essential in studies of botany and in sexual propagation. Pollen grains are one of the most important components and their viability is essential in the genetic improvement area for the production of new recombinants. Studies indicate a possible self-incompatibility and low viability rates of pollen grains in this species and these are factors that hinder natural and artificial pollination. The objective of this study was to evaluate the influence of abiotic factors on the pollen viability of *A. obesum*. Two experiments were implemented and conducted in Biotechnology laboratory (CPCA / UFMG). Experiment 1 (Pollen viability in vitro under different temperatures and sucrose concentrations): the experimental design was in a 4 x 4 factorial scheme with four germination temperatures (15, 20, 30, 35°C), four different sucrose concentrations in the culture medium (0%, 10%, 20%, 30%) and four replications. The flowers of the desert rose were collected in the anthesis and the pollen grains were inoculated in slides together with the culture medium. They were stored in a B.O.D type chamber for six hours and then stained. Experiment 2 (Effect of temperature on the development and viability of pollen grains): the design was completely randomized with three treatments, different temperatures (20, 25 and 30°C) and five replications. The desert rose plants were kept in three B.O.D chambers for incubation under different temperatures (20, 25 and 30°C) in a sixteen-hour photoperiod of light. Five flowers were evaluated at anthesis. The pollen grains were collected, placed on slides with a drop of the toluidine blue dye, a drop of lugol, and fixed with a drop of glycerin. There was a significant interaction between the factor's temperature and sucrose concentration. The highest percentage of pollen grains germinated in vitro viable was observed (39.81%) at the estimated temperature of (26.05°C) and (25.70%) at the estimated sucrose concentration of (18%), presented quadratic behavior for all temperatures and concentrations tested. It is concluded that the significant interactions observed between temperature and sucrose concentrations indicate that both factors are important in the pollen viability of *Adenium obesum*. The accessions of desert rose kept in B.O.D under a temperature of 30°C and a photoperiod of 16 hours of light showed faster flowering and temperatures \geq 25°C indicated percentages of pollen grains viability above 69%.

Keywords: Germination. Desert Rose. Pollen grains. Sacarose. Temperature.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Planta de <i>Adenium obesum</i> evidenciando os primórdios florais, caracterizando o estágio de seleção dos acessos para acondicionamento em BOD sob diferentes temperaturas. Montes Claros, MG, 2020	36
Figura 2 – Acessos de <i>Adenium obesum</i> acondicionadas em câmaras do tipo B.O.D sob diferentes temperaturas (A) 20oC, (B) 25oC e (C) 30oC, Montes Claros, MG, 2020	36
Figura 3 – Corte longitudinal de uma flor de <i>Adenium obesum</i> em antese (A) e detalhe dos grãos de pólen aderidos nas anteras (B), Montes Claros, MG, 2020	37
Figura 4 – Viabilidade dos grãos de pólen de <i>Adenium obesum</i> por meio do teste colorimétrico. A – grãos de pólen viáveis; B – grãos de pólen inviáveis	37
Figura 5 – Superfície de resposta para a germinação in vitro de grãos de pólen de <i>Adenium obesum</i> , em função das concentrações de sacarose (0%, 1%, 2% e 3%) e temperaturas (15°, 20°, 25° e 30°C). Médias transformadas (logX+1). Montes Claros, MG, 2020	38
Figura 6 – Germinação in vitro dos grãos de pólen de <i>Adenium obesum</i> em diferentes concentrações de sacarose: A – 0%; B – 1%; C – 2%; D – 3%. Montes Claros, MG, 2020	38

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Resumo da análise de variância para os dados de viabilidade dos grãos de pólen em diferentes temperaturas Montes Claros, MG, 2020	39
----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------	----

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 OBJETIVOS	12
2.1 Objetivo Geral	12
2.2 Objetivos Específicos	12
3 REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1 Importância econômica e social	14
3.2 Polinização e biologia reprodutiva	15
3.3 Desenvolvimento e viabilidade polínica	16
3.4 Referências	17
4 ARTIGO	20
4.1 ARTIGO 1 – Viabilidade Polínica em <i>Adenium obesum</i>	21
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	39

1 INTRODUÇÃO

A rosa-do-deserto, *Adenium obesum* (Forssk.) Roem. & Schult, é originária da África, mais precisamente do Sul do Saara, pertence à família Apocynaceae. No ambiente nativo a planta pode se encontrar em dormência, com evidência de perda de folhas, cenário em que as flores ganham destaque em virtude da beleza e coloração, em especial nas cores rosa, vermelho e branco (MCBRIDE *et al.*, 2012; COLOMBO, 2018). A rosa-do-deserto se destaca pelo valor ornamental, além do uso medicinal no controle de microrganismos (ADAMU *et al.*, 2005).

As plantas desse gênero caracterizam-se pela produção de quantidades variadas de seiva leitosa e são consideradas tolerantes a resistentes a climas áridos e semiáridos (MCLAUGHLIN; GAROFALO, 2002), e essa última característica é responsável pelo nome popular de *Adenium obesum* (HASTUTI; SETYONO, 2009). A rosa-do-deserto tem sido amplamente utilizada como ornamental por ser de fácil manutenção, ampla variabilidade dos arranjos florais se tornando atraente e a presença marcante da estrutura denominada caudex esculpido e base dilatada (ROWLEY, 1987).

O funcionamento de todo o sistema reprodutivo de uma planta pode variar em função das condições climáticas às quais é submetida (ESCOBAR *et al.*, 1986). Conhecer a biologia reprodutiva das espécies é primordial para a permanência e evolução (PRATHAMA, 2009), porém, esse sistema ainda é pouco compreendido em diversas espécies de plantas superiores (CHAN; LIM; SAW, 2011). A biologia floral pode ser entendida, portanto, como o estudo de todas as manifestações de vida da flor, incluindo a fertilização, combinando-se com a biologia reprodutiva e com a ecologia da polinização, resultando no entendimento de como a reprodução das plantas acontece (FAEGRI; PIJL, 1979).

Os grãos de pólen são um dos componentes mais importantes, e a sua viabilidade é essencial na área do melhoramento genético para produção de novos recombinantes. Os estudos sobre o grão de pólen são úteis para direcionar o melhor momento para realização de cruzamentos (SOARES *et al.*, 2011), conservação de recursos genéticos (CHAUDHURY *et al.*, 2010) e indicação de potencial de viabilidade (BREWBAKER, 1967). Em estudos realizados em *Adenium* indicam uma possível autoincompatibilidade e baixas taxas de viabilidade dos grãos de pólen nessa espécie, fatores que dificultam a polinização natural e artificial (ROWLEY, 1980; AVEKIN; Ramos,2020).

Diante dos relatos descritos acima, objetivou avaliar a influência de fatores abióticos na viabilidade do pólen de *A. obesum* avaliados através de métodos colorimétricos e de germinação *in vitro*.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Objetivou-se avaliar a influência de fatores abióticos na viabilidade polínica de *A. obesum*.

2.2 Objetivos Específicos

- Testar concentrações de sacarose e diferentes temperaturas na germinação *in vitro* de grãos de pólen de *Adenium obesum* coletados na antese;

– Identificar a melhor temperatura na viabilidade dos grãos de pólen de *Adenium obesum* na antese.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Importância econômica e social

Ao se tratar de plantas ornamentais, deve-se considerar que existe ampla gama de espécies vegetais que compõem esse grupo. As diferentes espécies são adaptadas às diferentes condições climáticas e de solo, o que favorece a produção nas distintas regiões em todo o mundo. Além da diversidade existente, é conhecida a importância relacionada às flores que ao longo do tempo sempre tiveram ligação à história do homem, que determinou o cultivo dessas em escala comercial para algumas espécies. Flores e plantas ornamentais apresentam boa rentabilidade e podem ser cultivadas em pequenas extensões, sob condições controladas (NEVES *et al.*, 2015).

O Brasil teve indícios de origem com plantas ornamentais através de firmas habituais da fruticultura. Contudo, o desenvolvimento comercial foi registrado somente em 1950 e 1970 alcançou sua estabilidade trabalhista. Inicialmente os estados de Santa Catarina e São Paulo produziram em escala para mercados (JUNQUEIRA; PEETZ, 2008).

Recentemente o Brasil estima em torno de oito mil produtores de flores. São produzidas três mil variedades, entre essas 350 espécies cultivadas. No entanto o mercado de flores vem ganhando relevância pois movimenta e aquece a economia, gerando 199.100 empregos acessíveis, são (39,53%) que equivale 78.700 relacionado com a produtividade, 8.400 (4,22%) à distribuição, 105.500 (53%) no varejo e 6.500 (3,25%) a outros encargos. O rendimento do mercado de ornamentais em 2018 foi de R\$ 8,1 bilhões, com possibilidades de crescimento entre 8 e 10% ano, de acordo com Instituto Brasileiro de Floricultura (IBRAFLOR, 2020).

No estado de Minas Gerais, o cultivo de flores e plantas ornamentais compreende 645 hectares e em torno de 130 municípios. O faturamento calculado é de R\$169,3 milhões, em que 70% é obtidos do comércio de flores e folhagens de corte, 20% de ornamentais e 10% de plantas e flores. Em média são contabilizados 576 agricultores operando na produção em todo o estado. Há consolidação de pequenos produtores, com poucas associações e ausência de articulações específica para organização do setor (IBRAFLOR, 2020).

Adenium obesum, trata-se de uma planta ornamental inclusa na família *Apocynaceae*, habitualmente renomada como rosa-do-deserto considerada uma planta herbácea, suculenta, de aspecto escultural e floração exuberante e intensa. No entanto há informações que a espécie teve origem na África Oriental e comumente é cultivada em áreas húmidas tropicais (TALUKDAR, 2012).

Apesar de ser pouco conhecida mundialmente, a rosa-do-deserto apresenta alto potencial exploratório, bem como ótimas perspectivas quanto ao crescimento de cultivo, constituindo alternativa para pequenos e médios produtores rurais provenientes do semiárido e sem sistema de irrigação. Este fato está associado a anatomia do caule, que apresenta reservatório de água e nutrientes por períodos de estiagem e seca prolongada (MCLAUGHLIN; GAROFALO, 2002).

Nos últimos anos obteve-se maior abrangência da rosa-do-deserto por parte de floricultores e paisagistas brasileiros, em virtude do elevado valor ornamental. Contudo, ainda são escassos conhecimentos técnicos e agrônômicos para demanda comercial (SANTOS *et al.*, 2015).

A rosa-do-deserto vem ganhando importância pois mostra resultados satisfatórios relacionado a produção pois se trata de uma planta ornamental nova no mercado, no entanto é a quinta mais comercializada em todo o país, que vem crescendo a cada ano e aumenta a procura na área paisagista (IBRAFLOR, 2020).

3.2 Polinização e biologia reprodutiva

Adenium obesum pertence ao grupo das arbustivas, e plantas arbóreas. Essas apresentam raízes suculentas e caule engrossado na base, que é considerado adaptação e consiste em reservatório para água e nutrientes em regiões áridas (SANTOS *et al.*, 2015). É composta por folhas simples, dispostas em forma de espiral nas extremidades dos ramos, possui flores de diferentes formatos e cores, no entanto não possuem cheiro próprio. O fruto é proveniente de um único carpelo que se divide com finalidade de liberação de sementes com tufo peludo para melhor dispersão pelo vento (TALUKDAR, 2012).

Em relação aos frutos, estes são formados em pares logo após a fertilização e são divididos em folículos. Após o processo de maturação se abrem de forma longitudinal de modo que facilite a dispersão e que ocorra a liberação das sementes pelo vento. Contudo, algumas plantas não conseguem produzir sementes, em virtude do insucesso da polinização depende de aspectos como a falta de polinizadores, morfologia floral complexa e a própria fecundação.

A propagação sexuada é considerada relevante para o cultivo da rosa-do-deserto, sobretudo para os programas de melhoramento genético dessa categoria, isso se deve em razão da diversidade morfológica que é averiguada na linhagem decorrente de apenas um cruzamento, sendo uma boa escolha para fabricação de porta-enxertos (MCLAUGHLIN; GAROFALO, 2002; DIMMITT; JOSEPH; PALZKILL, 2009; COLOMBO *et al.*, 2018).

As flores são hermafroditas com uma grande diversidade na sua coloração. Mesmo contendo essas características não atraem muitos polinizadores nas flores, sendo mais eficaz a polinização cruzada. Os aparelhos reprodutivos que constitui a parte feminina da flor são compostos por estilete, ovário e estigma, e a parte masculina é constituída por estames que são constituídos pelo filete, grão de pólen e a antera (ROWLEY, 1980; BRAUM, 2008). Os cinco estames possuem forma de cone e anteras têm fendas voltadas para o interior desse cone. O ápice do cone, se assemelham as verdadeiras anteras. Quanto ao estigma, este se encontra escondido dentro do cone (DIMMITT; JOSEPH; PALZKILL, 2009).

As flores da rosa-do-deserto apresentam em geral cinco sépalas e cinco pétalas, possuem várias tonalidades, com inserção no tubo floral, sendo que o tubo de superfície interna pode ter cinco ou 15 linhas vermelhas, denominadas néctar guias. As flores podem apresentar as bordas avermelhadas a sua composição na cor rosa e interior amarelo, e a disposição destas em formato de sino (ROMAHN, 2012).

O florescimento em *Adenium obesum*, ocorre essencialmente na primavera, sendo verificada possibilidades de floração no verão e outono de acordo com a condução da planta. Isso pode ocorrer mais rapidamente em plantas derivadas de sementes com um ano de cultivo e com altura suficiente (MCLAUGHLIN; GAROFALO, 2002).

Em geral a rosa-do-deserto demonstra crescimento lento e vida prolongada, todavia podem permanecer por vários anos, sua propagação pode ser por sementes ou estaquia. Em regiões onde há invernos frios e secos deve ser feita a indução por um período de dormência, no entanto pode ocorrer a

perda de folhas. As sementes geralmente são descritas de cor marrom claro, ásperas e se dispõem em sistema para desmembramento, que é caracterizada como plumagem nas bases (MCLAUGHLIN; GAROFALO, 2002).

A propagação *in vitro* com plantas do gênero *Adenium* são desconhecidas, mas são informações que se tornam fundamentais pois permite produzir explantes com qualidade, já se sabe que sementes reproduzidas *in vitro*, não tem contaminação mas há pouca germinação (MACHADO JUNIOR; FERNANDES, 2018). Um dos indicadores do potencial embriogênico, é a indução de calos, que é a produção de vários tecidos oriundos de uma planta em condições assépticas, em estudos com o gênero se percebe uma suscetibilidade para regeneração e formação de calos com propriedades medicinais anti-inflamatório biologicamente ativo (LEE *et al.*, 2017).

3.3 Desenvolvimento e viabilidade polínica

O plantio e germinação das sementes constituem etapas fundamentais na produção de plantas e flores ornamentais. Compete aos agricultores o uso de mão-de-obra qualificada e tecnologias que tenham a capacidade de obter mudas de qualidade (CAMPANHARO *et al.*, 2006).

A rosa-do-deserto caracteriza-se por ser um gênero diversificado que não apresenta um inseto nativo que seja capaz de polinizar em condições de produção no Brasil, no entanto a formação de sementes ocorre por meio de polinização cruzada (COLOMBO *et al.*, 2018; PORTES, 2018).

A propagação de *A. obesum* é feita, sobretudo por sementes, já que as plantas oriundas de sementes possuem caudex e raízes primárias e principais superiores as que são providas de estacas (COLOMBO *et al.*, 2015). Em relação a polinização manual, esta é efetuada por meio da extração de uma ou duas pétalas da flor coletada, com a exibição das anteras. Posterior a isso, as anteras são retiradas e com auxílio da pinça é realizado o recolhimento dos grãos de pólen que é concedido para o estigma da flor destinada. Ao final de 90 dias de hibridação da flor, verifica-se a deiscência do folículo e em seguida pode ser feita a colheita das sementes para o plantio (COLOMBO *et al.*, 2018).

A microesporogênese é a formação de esporos primários no aparelho reprodutivo masculino de uma planta. Eles se diferenciam por meiose e ficam armazenados na parede interna da antera. O microsporócito que é a diferenciação do esporo primário, após a meiose, formam duas células haploides, que ficam unidas por uma parede do microsporócito, que se denomina grão de pólen (LORA *et al.*, 2009; SCOTT *et al.*, 2006; GBOL, 2020).

Os grãos de pólen de *Adenium*, possuem um volume interno considerável compacto a antera, se localizam na cabeça do estilete, quando se expandem liberam os grãos de pólen próximos da antese (GAYDARZHI, 2016; RAMOS, 2020).

Estudos indicam que algumas espécies do gênero *Adenium* apresentam um bom potencial polínico dias após antese, e uma possível autoincompatibilidade entre os indivíduos (ROWLEY 1980; AVEKIN; GAYDARZHI, 2016). As flores se encontram receptivas antes da antese, mas os melhores resultados de germinação foram obtidos no período de pós antese (RAMOS, 2020).

Dentre os fatores que podem afetar a performance dos grãos de pólen das espécies, a temperatura é apontada como um dos mais importantes interferindo na fertilidade (HEDHLY, 2011; PRASAD; BOOTE; ALLEN, 2011). Incrementos suaves da temperatura durante o crescimento e desenvolvimento dos tecidos

reprodutivos, podem acelerar ou atrasar o florescimento (BALASUBRAMANIAN *et al.*, 2006; TONSOR *et al.*, 2008), afetar a sincronia no desenvolvimento dos sistemas reprodutivos masculino e feminino (BARNABA'S; JAGER; FEHER, 2008; HEDHLY; HORMAZA; HERRERO, 2008) e originar defeitos nos gametas (MORRISON; STEWART, 2002). As temperaturas elevadas também podem afetar a quantidade de grão de pólen, sua morfologia, composição química e metabolismo (PRASAD *et al.*, 2002; KOTI *et al.*, 2005; ALONI *et al.*, 2001).

A estimativa da viabilidade do grão de pólen permite inferir sobre a capacidade de germinação e fecundação, sendo importante destacar que a variação da umidade e temperatura do ambiente, estágio de desenvolvimento da flor, coleta e condições de armazenamento do grão de pólen influenciam direta e indiretamente a sua viabilidade (STANLEY; LINSKENS, 1974). De acordo com Galetta (1983) a viabilidade polínica pode ser estimada por quatro principais métodos: germinação *in vitro*; métodos colorimétricos; germinação *in vivo* e porcentagem de frutificação efetiva, obtida com a utilização do pólen em teste.

A utilização de corantes para estimar a viabilidade polínica é o método mais rápido utilizado pelos pesquisadores (RODRIGUEZ-RIANO; DAFNI, 2000). Entretanto, o método de germinação *in vitro* é um dos métodos mais utilizados e difundidos na comunidade científica, devido a sua rapidez, eficiência, e pode apresentar alta correlação com o pegamento de frutos e sementes (DAFNI; FIRMAGE, 2000). O sucesso da germinação do grão de pólen *in vitro* é influenciado por alguns fatores como os constituintes do meio de cultura, o tempo de incubação e a temperatura (TAYLOR; HEPLER, 1997). Diferentes meios para a germinação de pólen *in vitro* têm sido relatados para várias espécies (TAYLOR; HEPLER, 1997), sendo utilizado principalmente o meio básico desenvolvido por Brewbaker e Kwack (1963).

3.4 Referências

- ADAMU, H. M.; ABAYEH, J. O.; AGHO, M. O.; ABDULLAHI, A. L. Um estudo etnobotânico de plantas herbáceas do estado de Bauchi e sua atividade antimicrobiana. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 99, p.1-4, 2005.
- ALONI, B.; PEET, M.; PHARR, M.; KARNI, L. The effect of high temperature and high atmospheric CO₂ on carbohydrate changes in bell pepper (*Capsicum annuum*) pollen in relation to its germination. **Physiologia Plantarum**, v. 112, p. 505-512, 2001.
- AVEKIN, J. V.; GAYDARZHI, M. M. ГЕНЕРАТИВНЕ РОЗМНОЖЕННЯ ADENIUM OBESUM (FORSSK.) ROEM. & SCHULT. В УМОВАХ ІНТРОДУКЦІЇ. **Інтродукція рослин**, n. 3, p. 57-63, 2016.
- BALASUBRAMANIAN S.; SURESHKUMAR S.; LEMPE J.; WEIGEL D. Potent induction of Arabidopsis thaliana flowering by elevated growth temperature. **Plos Genetics**, v. 2, p. 980-989, 2006.
- BARNABA'S, B.; JAGER, K.; FEHER, A. The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals. **Plant, Cell and Environment**, v. 31, p. 11-38, 2008.
- BRAUM, A. F. **Morfologia, Anatomia e Imunocitoquímica da interação pólene estigma em duas espécies de Passiflora (Passifloraceae)**. 2008. 117f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008.
- BREWBAKER, J. L.; KWACK, B. H. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. **American Journal of Botany**, v. 50, n. 9, p. 859-865, 1963.
- BREWBAKER, J. L. The distribution and phylogenetic significance of binucleate and trinucleate pollen grains in the angiosperms. **American Journal of Botany**, v. 54, n. 9, p. 1069-1083, 1967.

- CAMPANHARO, M.; RODRIGUES, J. J. V.; LIRA JÚNIOR, E.; COSTA, M. C. Características físicas de diferentes substratos para produção de mudas de tomateiro. **Revista Caatinga**, v. 19, n. 2, p.140-145, 2006.
- CHAN, Y. M.; LIM, A. L.; SAW, L. G. Reproductive biology of the endangered and endemic palm *Johannesteijsmannia lanceolata* (Arecaceae). **Journal of Tropical Forest Science**, p. 213-221, 2011.
- CHAUDHURY, R.; MALIK, S. K.; RAJAN, S. An improved pollen collection and cryopreservation method for highly recalcitrant tropical fruit species of mango (*Mangifera indica* L.) and litchi (*Litchi chinensis* Sonn.). **CryoLetters**, v. 31, p. 268-278, 2010.
- COLOMBO, R. C.; CRUZ, M. A.; CARVALHO, D. U.; HOSHINO, R. T.; ALVES, G. A. C.; FARIA, R. T. *Adenium obesum* as a new potter flower: growth management. **Ornamental Horticulture**, v. 24, n. 3, p. 197-205, 2018.
- COLOMBO, R.C.; FAVETTA, V.; YAMAMOTO, L.Y.; ALVES, G.A.C.; ABATI, J.; TAKAHASHI, L.S.A.; FARIA, R.T. Biometric description of fruits and seeds, germination and imbibition pattern of desert rose [*Adenium obesum* (Forssk.), Roem. & Schult.]. **Journal of Seed Science**, v. 37, n. 4, p. 206-213, 2015.
- DAFNI, A.; FIRMAGE, D. Pollen viability and longevity: practical, ecological and evolutionary implications. **Plant Systematics and Evolution**, v. 222, n. 1-4, p. 113-132, 2000.
- DIMMITT, M.; JOSEPH, G.; PALZKILL, D. *Adenium*: Sculptural Elegance, Floral Extravagance. **Tucson: Scathingly Brilliant Idea**, 2009. 152p.
- ESCOBAR, W.; ZÁRATE, R. D.; BASTIDAS, A. Biología floral y polinización artificial del guanábano *Annona muricata* L. en condiciones del valle del Cauca, Colombia. **Acta agrônômica**, v. 36, n. 1, p. 7-20, 1986.
- ESTRADA-LUNA, A. A.; HUANCA-MAMAMI, W.; ACOSTA-GARCÍA, G.; LEÓN-MARTÍNEZ, G.; BECERRA-FLORA, A.; PÉREZ-RUIZ, R.; VIELLE-CALZADA, Ph. Beyond promiscuity: from sexuality to apomixis in flowering plants. **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, v. 38, p. 146-151, 2002.
- FAEGRI, K.; VAN DER PIJL, L. **The Principles of Pollination Ecology**. Oxford: Pergamon Press, 1979. 244p
- FREITAS, L. L. **Efeito da temperatura sobre a germinação *in vitro* de grãos de pólen em dois genótipos de mamoeiro (*Carica papaya* L.)**. 2013. 69f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2013.
- GALLETA, G. J. Pollen and seed management. *In*: MOORE, J. N.; JANICK, J. **Methods in fruits breeding**. Indiana: Purdue University Press. 1983, p. 23-47.
- GBOL. **Programa GBOL** [Genética Básica on Line]. 2020. Disponível em: <http://arquivo.ufv.br/dbg/gbol/gbol.htm>. Acesso em: 1 set. 2020.
- HASTUTI, D.; SURANTO; SETYONO, P. Variation of morphology, karyotype and protein band pattern of *Adenium (Adenium obesum)* varieties. **NusantaraBioscience**, 2009, vol. 1, n. 2, p. 78-83.
- HEDHLY, A. Sensitivity of flowering plant gametophytes to temperature fluctuations. **Environmental and Experimental Botany**, v. 74, n. 1, p. 9-16, 2011.
- HEDHLY, A.; HORMAZA, J. I.; HERRERO, M. Global warming and plant sexual reproduction. **Trends in Plant Science**, v. 14, p. 30-36, 2008.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORICULTURA – IBRAFLO. **O mercado de flores no Brasil**. 2020.

Disponível em: https://354d6537-ca5e-4df4-8c1b-3fa4f2dbe678.filesusr.com/ugd/875639_f02d8909d93a4f249b8465f7fc0929b4.pdf. Acesso em: 15 ago. 2020.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. Mercado interno para os produtos da floricultura brasileira: características, tendências e importância socioeconômica recente. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 14, n. 1, p. 37-52, 2008.

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, n. 1, p. 59-67, 2005.

KOTI, S.; REDDY, K. R.; REDDY, V. R.; KAKANI, V. G.; ZHAO, D. Interactive effects of carbon dioxide, temperature, and ultraviolet-B radiation on soybean (*Glycine max* L.) flower and pollen morphology, pollen production, germination, and tube lengths. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, p. 725-736, 2005.

LEE, Y.D; MIN, W.J; JOO, S.G; KANG, C.H. Callus Induction and Increase in Anti-Inflammatory Activity by Treatment of Methyl Jasmonate in *Adenium obesum*. **Life Science Research Institute, GFC Co., Ltd., 17095 Yongin, Korea, 2017.**

LORA, J.; TESTILLANO, P. S.; RISUEÑO, M. C., HORMAZA, J. I., HERRERO, M. Pollen development in *Annona cherimola* Mill. (Annonaceae). Implications for the evolution of aggregated pollen. **BMC Plant Biology**, v. 9, p. 129-139, 2009.

MACHADO JUNIOR, G.R; FERNANDES, A.D. Assepsia e germinação *in vitro* de *adenium obesum*. **Revista Eletrônica Univag**, n.18, 2018.

MCBRIDE, K.; HENNY, R. J.; CHEN, J.; MELLICH, T. A. Effect of light intensity and nutrition level on growth and flowering of *Adenium obesum* 'Red' and 'Ice Pink'. **HortScience**, Alexandria, v. 49, n. 4, p. 430-433, 2014.

MCLAUGHLIN, J.; GAROFALO, J. O. E. The Desert Rose, *Adenium obesum*: nursery production. **University of Florida**, 2002.

MORRISON, M. J.; STEWART, D. W. Heat stress during flowering in summer Brassica. **Crop Science**, v. 42, p. 797-803, 2002.

NEVES, M. F.; PINTO, M. J. A.; LIMA JÚNIOR, J. C.; NAKATANI, J. K.; MONACO NETO, L. C.; LIMA, L. A. C. V.; KALAKI, R. B.; CAMARGO, R. B. Mapeamento e quantificação da cadeia de flores e plantas ornamentais do Brasil. **Journal of agronomic sciences**, v. 7, São Paulo: OCESP, 2015.

PEÇANHA, S.; CARDOSO, S. A.; OLIVEIRA E SILVA, G. F. Efeito de diferentes substratos na germinação e crescimento de *Adenium obesum* – Apocynaceae (rosa-do-deserto). **Vita et Sanitas**, v. 14, n. 1, p. 54-65, 2020.

PONTES, F. S. S. Principais pragas e nível tecnológico do seu manejo na floricultura cearense: um estudo de caso para a cultura da roseira. 2007. 82f. **Dissertação** (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

PORTES, R. G. R. Curva de embebição e interferência da luz na germinação de sementes de rosa-do-deserto (*Adenium obesum* (Forssk), Roem. & Schult.). **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 5, n. 1, p. 9-19, 2018.

PRASAD, P. V. V.; BOOTE, K. J.; ALLEN JR, L. H.; THOMAS, J. M. G. Effects of elevated temperature and carbon dioxide on seed-set and yield of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Glob. Change Biol**, v.8, p.710-721, 2002.

- PRASAD, P. V. V.; BOOTE, K. J.; ALLEN, J. R., 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, n. 1, p. 51-57, 2011.
- PRATHAMA, M. **Fenologi dan biologi pembungaan *Adenium Obesum***. 2009. 60 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor, 2009.
- RAMOS, B. M. S. **Biologia floral de *Adenium obesum***. 2020. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2020.
- RODRIGUEZ-RIANO, T; DAFNI, A. A new procedure to asses pollen viability. **Sexual Plant Reproduction**, v. 12, n. 4, p. 241-244, 2000.
- ROMAHN, V. **Enciclopédia ilustrada das plantas & flores: suculentas, samambaias e aquáticas**. São Paulo: Europa, 2012.
- ROWLEY, G. D. The pollination mechanism of *Adenium (Apocynaceae)*. **The National Cactus and Succulent Journal**, v. 35, n. 1, p. 2-5, 1980.
- SAKHANOKHO, H. F.; RAJASEKARAN, K. Pollen biology of ornamental ginger (*Hedychium* spp. J. Koenig). **Scientia Horticulturae**, v. 125, n. 2, p. 129-135, 2010.
- SALEM, M. A.; KAKANI, V. G.; REDDY, K. R. Temperature effects on *in vitro* pollen germination and pollen tube growth of soybean genotypes. **Annual Meetings of the Southern Branch of the American Society of Agronomy**, p. 27-29, 2004.
- SANTOS, M. M.; COSTA, R. B.; CUNHA, P. P.; SELEGUINI, A. Tecnologias para produção de mudas de rosa do deserto (*Adenium obesum*). **Multi-Science Journal**, v. 1, n. 3, p. 79-82, 2015.
- SCOTT, R. J.; SPIELMAN, M., DICKINSON, H. G. Stamen development: primordium to pollen. **In The molecular biology and biotechnology of flowering**, 2nd ed. [s. l.]: [s.n.], 2006. p. 298-331. [CAB International].
- SOARES, T. L.; JESUS, O. N.; SOUZA, E. H.; OLIVEIRA, E. J. Reproductive biology and pollen–pistil interactions in *Passiflora* species with ornamental potential. **Scientia Horticulturae**, v. 197, p. 339-349, 2015.
- SOARES, T. L.; SOUZA, E. H. D.; ROSSI, M. L.; SOUZA, F. V. D. Morfologia e viabilidade de grãos de pólen de acessos silvestres de abacaxi. **Ciência Rural**, v. 41, n. 10, p. 1744-1749, 2011.
- STANLEY, R. G.; LINSKENS, H. F. **Pollen: biology, Biochemistry management**. New York: [Springer], 1974. 172p.
- TALUKDAR, T. Development of NaCl-tolerant line in an endangered ornamental, *Adenium multiflorum* Kklotzsch through in vitro selection. **International Journal of Recent Scientific Research**, v. 3, n. 10, p. 812-821, 2012.
- TAYLOR, L. P.; HEPLER, P. K. Pollen germination and tube growth. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 48, p. 461-91, 1997.
- TONSOR, S. J.; SCOTT, C.; BOUMAZA I.; LISS, T. R.; BRODSKY, J. L.; VIERLING, E. Heat shock protein 101 effects in *A. thaliana*: genetic variation, fitness and pleiotropy in controlled temperature conditions. **Molecular Ecology**, v. 17, p. 1614-1626, 2008.

4 ARTIGO

4.1 ARTIGO 1 – Viabilidade Polínica em *Adenium obesum*

Este artigo foi elaborado conforme as normas da revista Ornamental Horticulture: Revista Brasileira de Horticultura Ornamental.

Viabilidade Polínica em *Adenium obesum*

Cristiane Gonçalves Souza¹, Silvia Nietsche¹, Clivia Carolina Fiorilo Possobom¹

¹Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, MG, Brasil

Resumo

Objetivou-se com o presente estudo: (1) Testar concentrações de sacarose e temperaturas na germinação *in vitro* de grãos de pólen de *Adenium obesum* e; (2) identificar o efeito da temperatura na viabilidade de grãos de pólen de *Adenium obesum*. Foram realizados dois experimentos e utilizados acessos de *A. obesum* com 18 meses de idade cultivados em vasos em viveiro. Em ambos experimentos as flores dos acessos foram coletadas manualmente no dia da antese. No primeiro experimento, para o teste de germinação *in vitro* os grãos de pólen foram extraídos e inoculados em lâminas de vidro com 150µL do meio de cultura padrão com variações nas concentrações de sacarose (0%, 1%, 2% e 3%) e incubados sob diferentes temperaturas (15°, 20°, 25° e 30°C). Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. No segundo experimento, acessos de *A. obesum* no início do desenvolvimento do primórdio floral foram selecionadas em viveiro e acondicionadas em câmara B.O.D. sob diferentes temperaturas (20°, 25° e 30°C) e fotoperíodo de 16 horas de luz, com delineamento inteiramente casualizado e três repetições. A viabilidade dos grãos foi realizada por meio do teste colorimétrico. Interação significativa entre temperaturas e concentrações de sacarose foi observada no teste de germinação *in vitro*. A maior porcentagem de germinação *in vitro* dos grãos de pólen foi observada (39,81%) na temperatura estimada de 26,05°C. Os acessos de rosa-do-deserto mantidos em B.O.D. sob temperatura de 30°C e fotoperíodo de 16 horas de luz apresentaram florescimento mais rápido e as temperaturas $\geq 25^\circ\text{C}$ indicaram porcentagens de viabilidade dos grãos de pólen acima de 69%.

Palavras-chave: antese, rosa-do-deserto, grãos de pólen, sacarose, temperatura.

Abstract

Pollen Viability in *Adenium obesum*

The aim of this study was: (1) to test sucrose concentrations and temperatures in the *in vitro* germination of *Adenium obesum* pollen grains and; (2) to identify the effect of air temperature on the viability of *Adenium obesum* pollen grains collected in anthesis. In the experiments conducted in the present work, accessions of *A. obesum* (18 months old) grown in pots in a nursery were

selected. In the *in vitro* germination and viability tests, the accession flowers were collected manually on the anthesis day. For the *in vitro* germination test, pollen grains were extracted and inoculated in glass slides with 150µL of the standard culture medium with variations in sucrose concentrations (0%, 10%, 20% and 30%) and incubated under different temperatures controlled (15°, 20°, 25° and 30°C). The data were submitted to variance analysis. In the second experiment, accessions of *A. obesum* at the beginning of the development of the floral primordium were selected in a nursery and stored in a B.O.D. under different temperatures (20°, 25° and 30°C) and a photoperiod of 16 hours of light. The pollen grains viability was accomplished through the colorimetric test. Significant interaction between temperatures and sucrose concentrations was observed in the *in vitro* germination test. The highest percentage of *in vitro* pollen grains germination was observed (39.81%) at the estimated temperature of 26.05°C. Desert rose accessions maintained in B.O.D. under a temperature of 30 ° C and a photoperiod of 16 hours of light, they flowered faster and temperatures $\geq 25^{\circ}\text{C}$ indicated percentages of pollen grains viability above 69%.

Keywords: anthesis, desert rose, pollen grains, sacarose, temperature.

INTRODUÇÃO

A espécie *Adenium obesum* (Forssk.) Roem. & Schult, conhecida comumente como rosado-deserto caracteriza-se por ser ramificada, com caule curto que atua como reserva, vem ganhando relevância como ornamental devido à alguns aspectos botânicos e fisiológicos, diversidade de cores nas pétalas e disposições florais, resistência ao estresse hídrico, excelente adaptação em ambientes de pleno sol e por fim, o fato de ser uma planta perene. Pertence à família Apocynaceae, e relatos indicam que a sua origem foi na África, mais precisamente do Sul do Saara (Brown, 2012; Oyen, 2008; Lorenzi, 2015 ; Wannakrairoj, 2008; McBride *et al.*, 2014).

É de fundamental importância a multiplicação da rosa do deserto por semente devido suas características morfológicas e genéticas, tais como caudex e coloração das flores, apreciadas por colecionadores (Colombo *et al.*, 2018).

As flores do gênero têm uma complexa morfologia floral, pode ser de formato redondo ou estrela, a corola tem aspecto de funil, ovário superior, estiletos reunidos, estames com filetes fortes e pequenos, longas anteras que se encontra dentro de um cone em cima do estigma (Rowley, 1980).

O pólen fica armazenado na base das anteras e o estigma fica encoberto por este, as flores são hermafroditas com diferentes cores. Elas podem ficar abertas de três a trinta e dois dias e não exalam perfume. São bissexuais actinomórficas, com parte feminina composta por estilete, estigma e ovário, e a masculina por filete, antera e pólen. Reproduzem-se através de alogamia, ou seja, reprodução cruzada, pois há uma possível autoincompatibilidade entre o gênero, dificultando a autopolinização das flores. A polinização natural é feita por polinizadores com apêndice alongado que se localiza na cabeça de algumas espécies, o que dificulta pois não se encontra no nosso território, todavia se faz necessário a polinização artificial para produção de sementes (Brown, 2012; Rowley 1980; Ramos, 2020).

O grão de pólen é de grande importância na reprodução sexuada, pois permite que o tubo polínico leve o gameta masculino até o gameta feminino. O formato pode ser elíptico ou esférico e o diâmetro, variam de 0,01 a 0,1mm. É produzido no microsporângio, formado por duas células haploides e uma película protetora. Uma célula se dividiu e formará dois gametas masculinos e a outra célula vegetativa vai dar origem ao tubo polínico (Bennett e Willis, 2002; Santos, 2020).

Foi constatado em estudos que a fertilidade do pólen da espécie *Adenium obesum* é de 70% a 90% do primeiro ao terceiro dia após antese (Avekin e Gaydarzhi, 2016). Entretanto, dados sobre a viabilidade dos grãos de pólen na antese são desconhecidos, apesar de relatos de produtores acerca da eficiência da fertilização por meio do uso dos grãos de pólen coletados no dia da abertura das flores.

As mudanças no clima, tais como aquecimento global, chuvas, geadas e a própria sazonalidade climática influenciam na produção agrícola, principalmente na produção de ornamentais pois são sensíveis a alterações no clima. A temperatura é o fator abiótico que mais altera o aspecto reprodutivo das flores. Em temperaturas mínimas inferiores a 15°C compromete a

viabilidade do pólen, e o máximo ou superior a 30°C de temperatura pode influenciar o processo de desenvolvimento dos grãos de pólen, ou seja interfere em todo o dinamismo de formação (Stainforth *et al.*, 2005; Young *et al.*, 2004).

Em temperaturas de 30° a 40°C tendem a encurtar algumas fases de desenvolvimento das plantas, tais como a fase reprodutiva. Assim, a quantidade e a morfologia do pólen, deiscência das anteras e arquitetura da parede do pólen, bem como a composição química e metabolismo de pólen demonstraram ser influenciados por essas temperaturas elevadas (Prasad *et al.*, 2002; Koti *et al.*, 2005; Aloni *et al.*, 2001). Embora a rosa-do-deserto seja de origem de regiões desérticas, não existem relatos científicos sobre a influência da temperatura na viabilidade polínica.

O presente estudo objetivou avaliar a influência de fatores abióticos na viabilidade dos grãos de pólen de *A. obesum* através de métodos colorimétricos e de germinação *in vitro*.

MATERIAL E MÉTODOS

Área experimental e Material genético

A partir do banco de germoplasma de rosa do deserto localizado na UFMG/Montes ClarosMG, foram selecionadas plantas pertencentes a dois acessos conforme descrição, denominados:

(a) ICA-bd, acesso com flores de cor branca e disposição das pétalas em arranjo duplo; e (b) ICA-vt, acesso com flores de cor vermelha e arranjo de pétalas triplo. Seis plantas de cada acesso com 18 meses de idade e duas florações finalizadas foram selecionadas (Ramos, 2020).

Os experimentos foram conduzidos em laboratório e as plantas em casa-de-vegetação com tela antiafídio e 20% de sombreamento, localizada na Universidade Federal de Minas Gerais UFMG, Campus Montes Claros-MG, no período de março a agosto de 2020. O município de Montes Claros se encontra em região semiárida no norte de Minas Gerais, localizada com as seguintes coordenadas geográficas (Latitude = 16°43'13"S, Longitude = 43°52'52"O, altitude

média de 638mm). O clima é considerado tropical de savana (Aw), segundo Koppen, com precipitação média anual superior a 1060 mm, com inverno seco e verão chuvoso (INMET, 2017).

Os acessos utilizados estavam acondicionados em vasos de plásticos (4 L) e 17 cm de diâmetro, contendo substrato comercial da marca Bioplant[®] sob cultivo em casa-de-vegetação. Os seguintes tratamentos culturais foram conduzidos ao longo do experimento conforme orientação de Ramos (2020); (1) irrigação semanal de 500mL de água por vaso e (2) adubação semanal realizada por vaso pela aplicação manual de 200mL do produto Fort flores[®], na dosagem de 10 g do produto comercial diluída em 2 litros de água.

Contudo essas plantas foram utilizadas para a condução dos dois experimentos descritos a seguir.

Experimento 1: Viabilidade polínica em flores submetidas a diferentes temperaturas durante o desenvolvimento

As plantas de *Adenium obesum* que apresentavam o início do desenvolvimento do primórdio floral (Figura 1) foram selecionadas e acondicionadas duas plantas para cada câmara, foram utilizadas três câmaras do tipo B.O.D (Limatec[®]) com temperaturas controladas de 20°C, 25°C e 30°C e 16h de fotoperíodo (Figura 2).

A partir da floração plena foram coletadas as flores no primeiro dia da antese e a extração dos grãos de pólen foi realizada conforme metodologia proposta (Acar e Kakani, 2010; Dafni e Firmage, 2000), porém com a adição de uma gota do corante azul de anilina. As lâminas foram fixadas com uma gota de glicerina, e logo após foram visualizadas em microscópio (Binocular, LED digilab[®]) de campo claro com objetiva de baixa magnitude (16x) (Zambon *et al.*, 2014).

Cada lâmina foi dividida em quatro quadrantes e foram contados 100 grãos de pólen por quadrante. Foram considerados viáveis os grãos de pólen que se apresentaram coloridos de azul

(Figura 4). O percentual de viabilidade foi obtido pela razão entre os grãos viáveis e o total de grãos avaliados na lâmina.

Foi utilizado delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) com três tratamentos (20, 25 e 30°C) e três repetições. Cada parcela experimental foi composta por uma lâmina contendo pelo menos 400 grãos de pólen.

Os dados avaliados foram submetidos à análise de variância, e quando significativo pelo teste F, as médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

Experimento 2: Germinação *in vitro* dos grãos de pólen em concentrações de sacarose e diferentes temperaturas

Para realização dos testes de germinação *in vitro*, as flores dos acessos selecionados foram coletadas manualmente no dia da antese às 08:00 horas da manhã.

Em câmara de fluxo laminar foi realizada a extração dos grãos de pólen das anteras com auxílio de uma agulha (0,45 x 13 mm da marca TKL), e logo em seguida foram inoculados no centro de uma lâmina de vidro, contendo 150µL do meio de cultura padrão: 1,27mM de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,87mM de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,99mM de KNO_3 , 1,62mM H_3BO e diferentes concentrações de sacarose (0, 10, 20 e 30 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), em pH 7,0 (Brewbaker e Kwack, 1963).

Após a inoculação, as lâminas foram acondicionadas em placas de Petri com papel filtro humedecido, formando uma câmara húmida, e em seguida mantidas em incubador do tipo BOD com temperaturas controladas de 15°, 20°, 25° e 30°C. Seis horas após a incubação foi adicionado uma gota do corante azul de toluidina e a contagem dos grãos de pólen germinados foi realizada sob microscópio Binocular, LED digilab® de campo claro com objetiva de baixa magnitude (16x). Cada lâmina foi dividida em quatro quadrantes e foram contados 100 grãos de pólen por quadrante. O percentual de germinação *in vitro* dos grãos de pólen foi estimado pela relação entre o número de grãos de pólen germinados em relação ao número total de grãos de pólen contados em cada

lâmina. Foram considerados viáveis os grãos de pólen que apresentaram tubo polínico com o comprimento igual ou superior ao diâmetro do grão de pólen (Acar e Kakani, 2010; Dafni e Firmage, 2000).

O delineamento experimental inteiramente casualizado foi em esquema fatorial 4 x 4, sendo testadas quatro temperaturas de incubação (15, 20, 30 e 35°C), quatro concentrações de sacarose (0%, 1%, 2% e 3%), e quatro repetições. Cada parcela experimental foi composta por uma lâmina contendo pelo menos 400 grãos de pólen.

Os dados foram submetidos a análise de variância, e assim foi possível calcular estatisticamente alguns preceitos importantes. Os valores quando o teste “F” foi significativo, ou seja, maior que F tabelado, foram analisados e gerado um gráfico de superfície resposta em função das variáveis independentes (doses de sacarose e temperaturas), determinando quais seriam as condições favoráveis para cada uma das variáveis, por meio do programa R *studio*.

Os dados de porcentagem de germinação dos grãos de pólen foram transformados, por meio da transformação logarítmica ($\text{Log } X+1$) para obter a normalidade do conjunto de dados.

RESULTADOS

Experimento 1: Viabilidade polínica em flores submetidas a diferentes temperaturas durante o desenvolvimento

De maneira geral, os acessos de rosa-do-deserto mantidas em BOD na temperatura de 30°C e fotoperíodo de 16 horas de luz se desenvolveram mais rápido. Da emissão do botão floral até antese levaram em média 15 dias para atingir a antese. Na temperatura de 25°C levaram em média 22 dias para o seu desenvolvimento, e na temperatura de 20°C atingiram a antese com 28 dias. Também foi possível observar que nas temperaturas de 20 e 25°C, as plantas apresentaram abortamento floral e amarelecimento de folhas.

A análise de variância indicou diferença significativa a nível de probabilidade de 5% da viabilidade polínica da rosa-do-deserto entre as temperaturas (Tabela 1). Observou-se que a viabilidade dos grãos de pólen apresentou médias superiores a 69% nas temperaturas de 25 e 30°C e foram significativamente superiores quando comparado à temperatura de 20°C (Tabela 1).

Experimento 2: Germinação *in vitro* dos grãos de pólen em concentrações de sacarose e diferentes temperaturas

De acordo com a análise de variância houve interação significativa ($p < 0,05$) entre as temperaturas e as concentrações de sacarose para a característica de germinação *in vitro* dos grãos de pólen de *Adenium obesum*.

Obteve-se um aumento da germinação *in vitro* em condições de temperatura e concentração de sacarose favoráveis, demonstrando crescimento linear, nos demais o crescimento ocorreu de forma quadrática (Figura 5). Houve um incremento da germinação *in vitro*, com incremento da temperatura e concentração ideais atingindo seu valor máximo de 39,81% germinação, depois houve uma queda atingindo seu valor mínimo de 16,60% germinação (Figuras 5 e 6).

DISCUSSÃO

A germinação *in vitro* é um método seguro e adequado para testar a viabilidade de grãos de pólen, sendo, portanto, o mais utilizado (Almeida *et al.*, 2002). E o conhecimento deste importante caractere se torna crucial para conhecer aspectos de fertilidade e melhorar as práticas de hibridação artificial para produção das populações segregantes em programas de melhoramento (Soares *et al.*, 2018). No entanto, fatores abióticos como a temperatura (alta ou baixa) e alguns fatores

nutricionais, podem ocasionar a diminuição ou aceleração da reação das enzimas pertencentes aos grãos de pólen (Taiz e Zeiger, 2013).

No presente estudo foi observada interação entre dois fatores abióticos: temperatura e concentração de sacarose na germinação *in vitro* dos grãos de pólen da rosa-do-deserto coletados na antese. Os resultados indicaram que a germinação *in vitro* dos grãos de pólen coletados no momento da antese de *Adenium obesum* respondeu positivamente aos efeitos de temperatura em uma faixa entre 20° e 30°C com variações amplas em função da concentração de sacarose. Taylor e Hepler (1997), Zhang *et al.* (2003) destacaram em seu estudo que fatores como temperatura, o tempo de incubação e componentes do meio de cultura, influenciam diretamente a germinação de pólen *in vitro*, pois dependendo da quantidade de sacarose ou de micronutrientes podem impedir o tubo polínico de se desenvolver ou romper a película ou desnaturar o grão de pólen tornando o inviável, o que dificulta a disseminação de espécies como frutíferas e ornamentais.

García *et al.* (2012), nos relata que a sacarose é uma fonte fundamental de energia para a germinação do pólen, induzindo o crescimento do tubo polínico e sintetiza células novas. Nossos resultados indicaram que mesmo na ausência de sacarose foi observada germinação *in vitro* dos grãos de pólen superior a 30%. Esse resultado pode ser explicado em função do genótipo dos acessos, e em função de outros componentes do meio de cultura. O meio de cultura padrão desenvolvido por Brewbaker e Kwack (1963), Galletta (1983) além da fonte de carbono, possui em sua composição um micronutriente essencial associado a germinação dos grãos de pólen, o boro. No entanto uma fonte de carbono ou de boro se torna suficiente para a germinação do pólen, não sendo essencial outros nutrientes, o boro induz o crescimento do tubo polínico.

Recentemente, um estudo realizado em *Adenium obesum* indicou que grãos de pólen coletados em pré-antese apresentaram a maior porcentagem de germinação *in vitro*, em condições de meio de cultivo contendo 1 % de sacarose e uma temperatura entre 25° a 30°C (Ramos, 2020).

Adenium obesum é típico de regiões áridas e semiáridas, se desenvolve bem em condições de exposição à luz e as flores do gênero geralmente têm antese pela manhã, horário onde são observadas temperaturas mais amenas (Braun, 2008; Ramos, 2020). Eventualmente as rosas-do-deserto não se adaptam ao frio, mostrando sensibilidade em baixas temperaturas. Seu metabolismo fica muito lento e dormente, podendo ocasionar folhas amarelas e perdas dessa, além de abortamento floral (Braga, 2017).

Todavia, a temperatura alta influencia diretamente a vitalidade do pólen antes da antese, podendo causar efeitos negativos tais como acúmulo de amido, desnaturação, rompimento da parede celular, alterações na composição química. Assim como uma temperatura baixa, altera o metabolismo, e ocasiona a esterilidade, no entanto é fundamental se saber a temperatura ideal, visto que as oscilações da sazonalidade climática podem dificultar a produção de sementes (Rodrigues, 2017).

No entanto, alguns autores descrevem essa relação de importância entre a temperatura e a viabilidade do pólen em algumas espécies, rosa-do-deserto (Akevin, 2016), babaçu (Araújo *et al.*, 2017), mamoeiro (Moura *et al.*, 2010), milho (Davide *et al.*, 2009).

No presente estudo ficou evidente que temperaturas de 20°C em um fotoperíodo de 16 horas de luz afetaram consideravelmente a viabilidade polínica, atrasou o desenvolvimento das flores, levando em média 28 dias do estágio de primórdio floral até a antese e causou um amarelecimento das folhas e maior abortamento floral. Segundo Kakani *et al.* (2005), a temperatura é um dos fatores mais importantes pois é o que mais influencia o desenvolvimento das plantas. Altas ou baixas temperaturas têm vários efeitos importantes sobre tecidos reprodutivos e os principais fenômenos observados são florescimento rápido ou tardio (Tonsor *et al.*, 2008), assincronia no desenvolvimento do sistema reprodutivo masculino e feminino (Hedhly; Hormaza; Herrero, 2008) e defeitos nos gametas masculinos e femininos (Takeoka *et al.*, 1991, Morrison e Stewart, 2002).

Em contrapartida, a temperatura ambiente de 30°C em fotoperíodo de 16 horas de luz proporcionou uma grande viabilidade dos grãos de pólen, acelerou o desenvolvimento floral e menor número de abortamentos florais foram observados. McLaughlin e Garofalo (2002), Avelin (2016), também relatou em seu estudo que *Adenium* se adapta bem em temperatura acima de +25°C e iluminação suficiente (máximo - 13.000 lux), e que a melhor fertilidade do pólen foi observada entre o primeiro dia da antese.

As estimativas de viabilidade dos grãos de pólen e das condições ideais de cultivo de uma espécie são fundamentais e permitem aos pesquisadores inferir sobre a capacidade de germinação, efeitos da temperatura no manejo das espécies, estágio de desenvolvimento da flor para a coleta e condições de armazenamento do grão de pólen (Nietsche *et al.*, 2009; Pereira *et al.*, 2014; Stanley e Linskens, 1974).

CONCLUSÕES

A maior porcentagem estimada de germinação de grãos de pólen *in vitro* de *Adenium obesum* é de 39,81%, obtida na temperatura de 26,05°C.

A viabilidade dos grãos de pólen de *Adenium obesum* é maior em temperaturas de 25 e 30°C.

REFERÊNCIAS

ALONI, B.; PEET, M.; PHARR, M.; KARNI, L. The effect of high temperature and high atmospheric CO₂ on carbohydrate changes in bell pepper (*Capsicum annum*) pollen in relation to its germination. **Physiologia Plantarum**, v. 112, p. 505-512, 2001.

ARAÚJO, E. C. E; LIMA P. S. C; VIEIRA, P. F. M. J; SITTOLIN, I.M; VELOSO, M. E. C. Efeito do tempo de armazenamento em baixa temperatura na viabilidade do pólen de espécies do complexo babaçu. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 25., 2017, Porto Seguro, Bahia. **Anais** [...]. Porto Seguro, Bahia, 2017.

AVEKIN, J. V.; GAYDARZHI, M. M. ГЕНЕРАТИВНЕ РОЗМНОЖЕННЯ ADENIUM OBESUM (FORSSK.) ROEM. & SCHULT. В УМОВАХ ІНТРОДУКЦІЇ. **Інтродукція рослин**, n. 3, p. 57-63, 2016.

BRAGA, I. *et al.* [**Rosa do deserto**: categorias]. *In*: ÍTALO Braga: loja virtual de rosas do deserto. 2017. Disponível em: <https://italobraga.com.br/>. Acesso em: 6 ago. 2020.

BRAUM, A. F. **Morfologia, Anatomia e Imunocitoquímica da interação pólene estigma em duas espécies de *Passiflora* (Passifloraceae)**. 2008. 117 f. Dissertação (Mestrado) – (Pósgraduação em Botânica) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008.

BREWBAKER, J. L. The distribution and phylogenetic significance of binucleate and trinucleate pollen grains in the angiosperms. **American journal of botany**, v. 54, n. 9, p. 1069-1083, 1967.

BREWBAKER, J. L.; KWACK, B. H. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. **American Journal of Botany**, v. 50, n. 9, p. 859-865, 1963.

CHATTERJEE, R.; SARKAR, S.; RAO, G. M. N. Birbal Sahni Institute of Palaeobotany; Improved media for *in vitro* pollen germination of some Species of apocynaceae. **International Journal of Environment**, v. 3, p. 146-153, 2014.

COLOMBO, R. C.; CRUZ, M. A.; CARVALHO, D. U.; HOSHINO, R. T.; ALVES, G. A. C.; FARIA, R. T. *Adenium obesum* as a new potter flower: growth management. **Ornamental Horticulture**, v. 24, n. 3, p. 197-205, 2018.

DAFNI, A.; FIRMAGE, D. Pollen viability and longevity: practical, ecological and evolutionary implications. **Plant Systematics and Evolution**, v. 222, n. 1-4, p. 113-132, 2000.

DAVIDE, C. M. L.; PEREIRA, C. R.; ABREU, B. G.; SOUZA, C. J.; PINHO, V. V. É. Viabilidade de pólen de milho em diferentes períodos de armazenamento em baixa temperatura. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 8, n. 2, p. 199-206, 2009.

GALLETA, G. J. Pollen and seed management. *In*: MOORE, J. N.; JANICK, J. **Methods in fruits breeding**. Indiana: Purdue University Press, 1983. p. 23-47.

GARCÍA, C. C.; GUARNIERI, M.; PACINI, E. Tomato pollen tube development and carbohydrate fluctuations in the autotrophic phase of growth. **Acta Physiologiae Plantarum**, Kraków, v. 34, n. 6, p. 2341-2347, 2012.

HEDHLY, A.; HORMAZA, J. I.; HERRERO, M. Global warming and plant sexual reproduction. **Trends in Plant Science**, v. 14, p. 30-36, 2008.

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, n. 1, p. 59-67, 2005.

KOTI, S.; REDDY, K. R.; REDDY, V. R.; KAKANI, V. G.; ZHAO, D. Interactive effects of carbon dioxide, temperature, and ultraviolet-B radiation on soybean (*Glycine max* L.) flower and

pollen morphology, pollen production, germination, and tube lengths. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, p. 725-736, 2005.

MCBRIDE, K.; HENNY, R. J.; CHEN, J.; MELLICH, T. A. Effect of light intensity and nutrition level on growth and flowering of *Adenium obesum* 'Red' and 'Ice Pink'. **HortScience**, Alexandria, v. 49, n. 4, p. 430-433, 2014.

MORRISON, M. J.; STEWART, D. W. Heat stress during flowering in summer Brassica. **Crop Science**, v. 42, p. 797-803, 2002.

MOURA, P. H. C.; PEREIRA, S. N. T.; CORTES, M. F. D.; PEREIRA, G. M. **Efeito da temperatura na germinação "in vitro" de grãos de pólen e crescimento do tubo polínico em genótipos de mamoeiro**. 2010. Tese (Doutorado em genética e melhoramento de plantas) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Rio de Janeiro, 2010.

NIETSCH, S.; PEREIRA, M. C. T.; OLIVEIRA, C.; DIAS, M. M.; REIS, S. T. Viabilidade dos grãos de pólen de flores de pinheira (*Annona squamosa*) em diferentes horários. **Ciência e Agrotecnologia**, v.33, n.2, p.527-531, 2009.

PEREIRA, M. C. T.; CRANE, J. H.; MONTAS, W.; NIETSCH, S.; VENDRAME, W. A. Effects of storage length and flowering stage of pollen influence its viability, fruit set and fruit quality in 'Red' and 'Lessard Thai' sugar apple (*Annona squamosa*) and 'Gefner' atemóia (*A. cherimola* × *A. squamosa*). **Scientia Horticulturae**, v. 178, p. 55-60, 2014.

PRASAD, P. V. V.; BOOTE, K. J.; ALLEN JR, L. H.; THOMAS, J. M. G. Effects of elevated temperature and carbon dioxide on seed-set and yield of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Glob. Change Biol**, v. 8, p.710-721, 2002.

PRASAD, P. V. V.; BOOTE, K. J.; ALLEN, J. R., 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, n. 1, p. 51-57, 2011.

RAMOS, B. M. S. **Biologia floral de *Adenium obesum***. 2020. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2020.

RODRIGUES, A. R. B. **A sazonalidade climática influencia o desenvolvimento dos grãos de pólen e a frutificação em *Annona squamosa* L.** 2017. Dissertação (Mestrado em Produção vegetal) – Universidade Estadual de Montes Claros, Montes Claros, 2017.

ROWLEY, G. D. The pollination mechanism of *Adenium* (*Apocynaceae*). **The National Cactus and Succulent Journal**, v. 35, n. 1, p. 2-5, 1980.

SANTOS, M. M.; COSTA, R. B.; CUNHA, P. P.; SELEGUINI, A. Tecnologias para produção de mudas de rosa do deserto (*Adenium obesum*). **Multi-Science Journal**, v. 1, n. 3, p. 79-82, 2015.

SOARES, T. L.; JESUS, O. N.; SOUZA, E. H.; OLIVEIRA, E. J. Reproductive biology and pollen–pistil interactions in *Passiflora* species with ornamental potential. **Scientia Horticulturae**, v. 197, p. 339-349, 2015.

SOARES, T. L.; SOUZA, E. H. D.; ROSSI, M. L.; SOUZA, F. V. D. Morfologia e viabilidade de grãos de pólen de acessos silvestres de abacaxi. **Ciência Rural**, v. 41, n. 10, p. 1744-1749, 2011.

STAINFORTH, D. A.; AINA, T.; CHRISTENSEN, C.; COLLINS, M.; FAULL, N.; FRAME, D. J.; KETTLEBOROUGH, J. A.; KNIGHT, S.; MARTIN, A.; MURPHY, J. M.; PIANI, C.; SEXTON, D.; SMITH, L. A.; SPICER, R. A.; THORPE, A. J.; ALLEN, M. R. Uncertainty in predictions of the climate response to rising levels of greenhouse gases. **Nature**, 433:403–406, 2005.

STANLEY, R. G.; LINSKENS, H. F. **Pollen: biology, Biochemistry management**. New York: 1974. 172p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**, 5th Edn. Sunderland, MA: Sinauer Associates. 2010.

TAKEOKA, Y.; HIROI, K.; KITANO, H.; WADA T. Pistil hyperplasia in rice spikelets as affected by heat-stress. **Sexual Plant Reproduction**, v.4, p. 39-43, 1991.

TAYLOR, L. P.; HEPLER, P. K. Pollen germination and tube growth. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 48, p. 461-91, 1997.

TONSOR, S. J.; SCOTT, C.; BOUMAZA I.; LISS, T. R.; BRODSKY, J. L.; VIERLING, E. Heat shock protein 101 effects in *A. thaliana*: genetic variation, fitness and pleiotropy in controlled temperature conditions. **Molecular Ecology**, v. 17, p. 1614-1626, 2008.

YOUNG, L.; R. WILEN; BONHAM-SMITH, P. High temperature stress of *Brassica napus* during flowering reduces micro- and megagametophyte fertility, induces fruit abortion, and disrupts seed production. **J. Expt. Bot.**, v. 55, p. 485–495, 2004.

ZAMBON, R. C.; SILVA, O. F. L.; PIO, R.; FIGUEIREDO, A. M.; SILVA, N. K. Estabelecimento de meio de cultura e quantificação da germinação de grãos de pólen de cultivares de marmeleiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 2, p. 400-407, 2014.



Figura 1 – Planta de *Adenium obesum* evidenciando os primórdios florais, caracterizando o estágio de seleção dos acessos para acondicionamento em BOD sob diferentes temperaturas. Montes Claros, MG, 2020

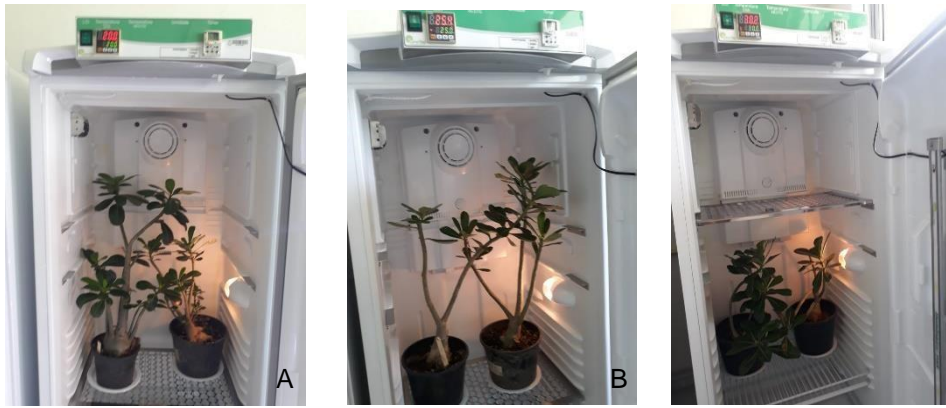


Figura 2 –

Acessos de *Adenium obesum* acondicionadas em câmaras do tipo B.O.D sob diferentes temperaturas (A) 20°C, (B) 25°C e (C) 30°C, Montes Claros, MG, 2020



Figura 3 – Corte longitudinal de uma flor de *Adenium obesum* em antese (A) e detalhe dos grãos de pólen aderidos nas anteras (B), Montes Claros, MG, 2020

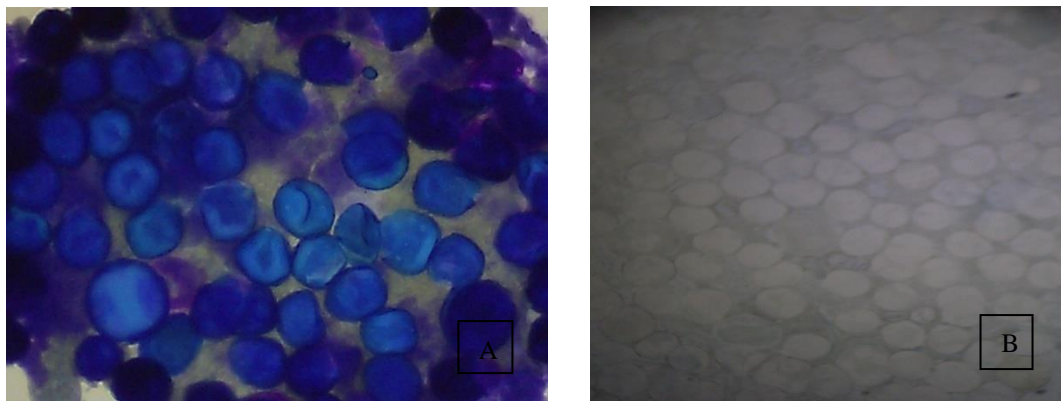


Figura 4 – Viabilidade dos grãos de pólen de *Adenium obesum* por meio do teste colorimétrico. A – grãos de pólen viáveis; B – grãos de pólen inviáveis

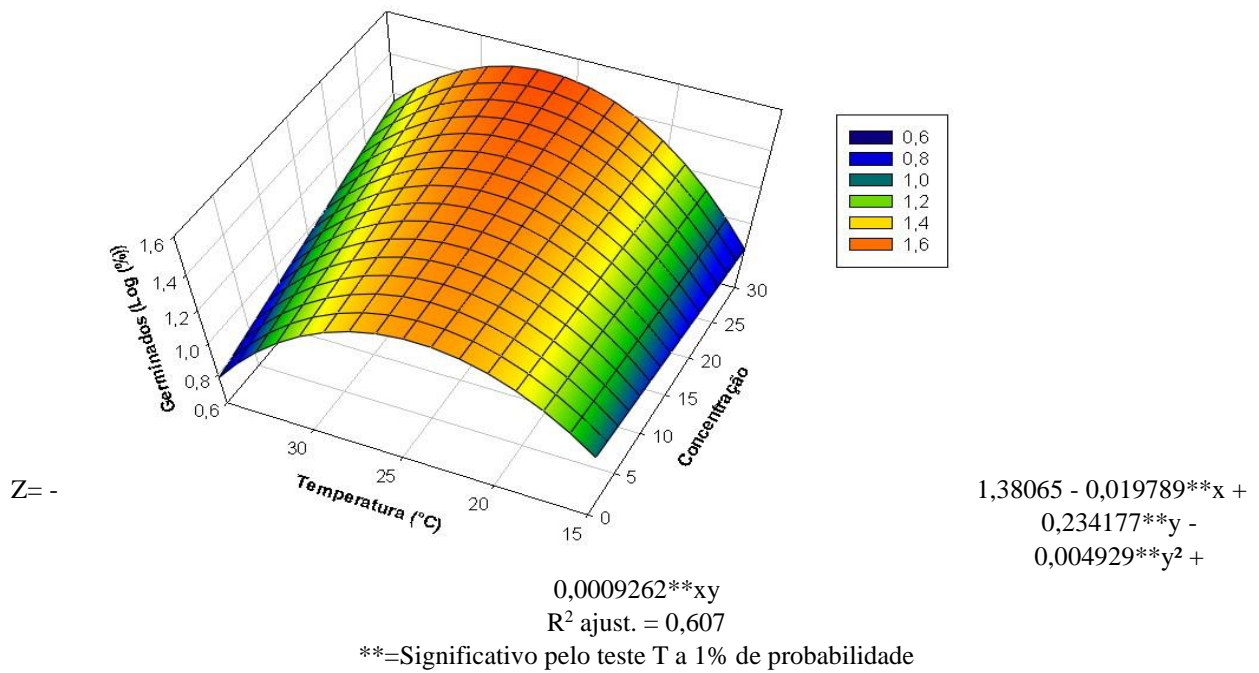


Figura 5 – Superfície de resposta para a germinação *in vitro* de grãos de pólen de *Adenium obesum*, em função das concentrações de sacarose (0%, 1%, 2% e 3%) e temperaturas (15°, 20°, 25° e 30°C). Médias transformadas (log^{X+1}). Montes Claros, MG, 2020

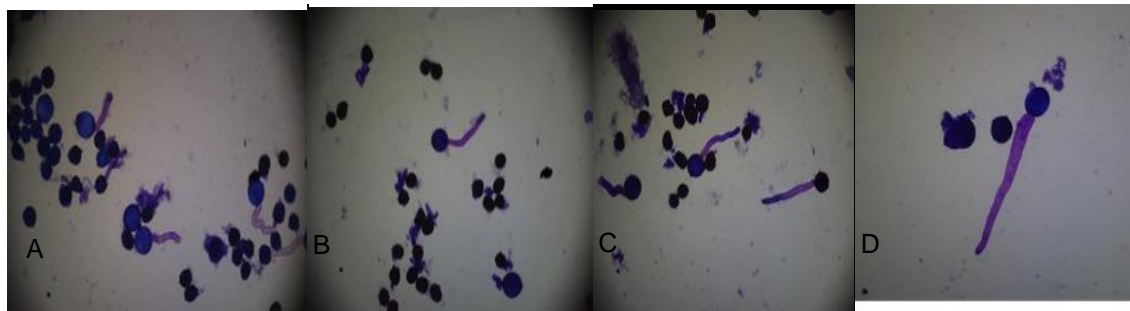


Figura 6 – Germinação *in vitro* dos grãos de pólen de *Adenium obesum* em diferentes concentrações de sacarose: A – 0%; B – 1%; C – 2%; D – 3%. Montes Claros, MG, 2020

Tabela 1 – Resumo da análise de variância para os dados de viabilidade dos grãos de pólen em diferentes temperaturas Montes Claros, MG, 2020

FV	GL	QM	F
Temperaturas	2	1131,56	41,54 *
Resíduo	12	27,23	
Total	14		

CV (%)	8,68		
Temperaturas (°C)	30	25	20
Germinação <i>in vitro</i> (%)	72,61a	69,93a	38,00b

(*) significativo a 5 % pelo teste F. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos principais resultados apresentados pelo trabalho, podemos afirmar que os grãos de pólen de *Adenium obesum* são influenciados diretamente por fatores abióticos como por exemplo a temperatura e concentrações de sacarose. Temperaturas inferiores a 25°C reduzem significativamente a viabilidade polínica e atrasam o florescimento de *Adenium obesum*. Em relação a germinação in vitro dos grãos de pólen as melhores condições foram observadas em concentração de 3% de sacarose associada a temperatura de 26,05°C.

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

Cristiane Gonçalves Souza

Influência de fatores abióticos na viabilidade polínica em *Adenium obesum*

Montes Claros

2020

Cristiane Gonçalves Souza

Influência de fatores abióticos na viabilidade polínica em *Adenium obesum*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientadora: Profa. Dra. Silvia Nietsche

Coorientadora: Profa. Dra. Clivia Carolina F. Possobom

Montes Claros
Outubro de 2020

Souza, Cristiane Gonçalves.

S729i Influência de fatores abióticos na viabilidade polínica em *Adenium obesum*/ Cristiane Gonçalves Souza.
2021 Montes Claros, 2020.

40 f.

Dissertação (mestrado) - Área de concentração em Produção Vegetal. Universidade Federal de Minas Gerais / Instituto de Ciências Agrárias.

Orientadora: Sílvia Nietzsche.

Banca examinadora: Clivia Carolina Fiorilo Possobom, Claudinéia Ferreira Nunes, Marlon Cristian Toledo Pereira.

Inclui referências: f.17-20; f.32-34.

1. Germinação. 2. Grãos de pólen. 3. Sacarose. 4. Temperatura. I. Nietzsche, Sílvia. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 631.53

ELABORADA PELA BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA DO ICA/UFMG
Edêlzia Cristina Sousa Versiani - Bibliotecária CRB-6 1349

Cristiane Gonçalves Souza

Influência de fatores abióticos na viabilidade polínica em *Adenium obesum*

Aprovada pela banca examinadora constituída pelos professores:

Profa. Dra. Clívia Carolina Fiorilo Possobom
(Universidade Federal de Minas Gerais)

Profa. Dra. Claudinéia Ferreira Nunes
(Universidade Federal de Minas Gerais)

Prof. Dr. Marlon Cristian Toledo Pereira
(Universidade Estadual de Montes Claros)

Profa. Dra. Silvia Nietsche
(Universidade Federal de Minas Gerais)

Montes Claros, 30 de outubro de 2020.

Dedico a Deus que me permitiu a realização dessa dissertação e a dadiva da vida. Ao meu pai Geraldo, a minha mãe Valdivia e minha irmã Eliane.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meu Deus por me permitir realizar esse sonho e ter me dado sabedoria e discernimento.

Aos meus queridos, meu pai minha mãe e minha irmã, que sempre acreditaram no meu potencial, e me incentivaram com muito carinho.

Agradeço a minha orientadora Professora Dra. Silvia Nietzsche pela oportunidade ter sido orientada por ela, que é uma excelente profissional, por todo seu incentivo, exemplo e apoio, o meu muito obrigado.

À minha coorientadora Professora Dra. Clívia por todos os ensinamentos.

À professora Claudineia por toda paciência e oportunidade de aprendizagem em cultura de tecidos, e por todo carinho.

À professora Elka por ser tão prestativa e ao conhecimento na área do paisagismo.

Ao professor Marlon Cristian Toledo Pereira, por todas as suas contribuições positivas neste trabalho, disposição e orientação o meu muito obrigado.

Ao meu grupo de oração Shalom, por todo apoio espiritual, em especial aos integrantes do grupo Santa Teresinha gratidão.

As minhas colegas de equipe por toda ajuda durante esse período Rosane, Maria, Bruna, Deborah, Sabrina, Ludimila, Mirella.

Aos meus amigos por todo carinho, Felipe Leal, Ludmilla Leal, Afrânio, Brayonn, Eduardo, Guilherme, Fábio, Alex, Fernanda, Rayane, Nicole, Ana e Dani.

A CAPES, pelo incentivo e concessão da bolsa;

Ao laboratório de biotecnologia, e a EPAMIG Janaúba pelo estágio e contribuições para meu engrandecimento pessoal.

À Universidade Federal de Minas Gerais/ Instituto de Ciências Agrárias e a todos os professores que contribuíram para minha formação acadêmica e pessoal.

Muito Obrigada!

“As flores do futuro dependem da semente que você planta hoje.”

(Provérbio Chinês)

Influência de fatores abióticos na viabilidade polínica em *Adenium obesum*

RESUMO

A rosa-do-deserto, *Adenium obesum* (Forssk.) Roem. & Schult, é originária da África mais precisamente da região Sul do Saara. Pertence à família Apocynaceae. O conhecimento sobre a biologia reprodutiva das espécies é fundamental nos estudos de botânica e na propagação sexuada. Os grãos de pólen são um dos componentes mais importantes, e a sua viabilidade é essencial na área o melhoramento genético para produção de novos recombinantes. Os estudos indicam uma possível autoincompatibilidade e baixas taxas de viabilidade dos grãos de pólen nessa espécie, fatores que dificultam a polinização natural e artificial. Objetivou-se avaliar a influência de fatores abióticos na viabilidade polínica de *A. obesum*. Foram implantados dois experimentos que foram conduzidos no laboratório de Biotecnologia do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais. Experimento 1 (Viabilidade polínica *in vitro* sob diferentes temperaturas e concentrações de sacarose): o delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 4, com quatro temperaturas de germinação (15, 20, 30, 35°C), quatro diferentes concentrações de sacarose no meio de cultivo (0%, 1%, 2%, 3%) e quatro repetições. As flores da rosa- do-deserto foram coletadas na antese e os grãos de pólen foram inoculados em lâminas juntamente com o meio de cultura. Foram acondicionadas em câmara do tipo B.O.D por seis horas, e em

seguida realizada a coloração com corante azul de toluidina. Experimento 2 (Efeito da temperatura no desenvolvimento e viabilidade dos grãos de pólen): o delineamento foi inteiramente casualizado com três temperaturas (20, 25 e 30°C) e três repetições. As plantas da rosa-do-deserto foram mantidas em três câmaras do tipo B.O.D para incubação sob as diferentes temperaturas, em fotoperíodo de dezesseis horas de luz. Foram avaliadas cinco flores na antese. Os grãos de pólen foram coletados, colocados em lâminas com uma gota do corante azul de anilina, uma gota de lugol, e fixados com uma gota de glicerina. Houve interação significativa entre os fatores temperatura e concentração de sacarose. A partir dos desdobramentos foi constatado que a maior porcentagem de grãos de pólen germinados *in vitro* viáveis foi de 39,81% na temperatura estimada de 26,05°C. Os acessos de rosa-do-deserto mantidos em B.O.D. sob temperatura de 30°C e fotoperíodo de 16 horas de luz apresentaram florescimento mais rápido e as temperaturas $\geq 25^{\circ}\text{C}$ indicaram porcentagens de viabilidade dos grãos de pólen acima de 69%.

Palavras-chave: Germinação. Rosa-do-deserto. Grãos de pólen. Sacarose. Temperatura.

Abiotic factors influence on polynic viability in *Adenium obesum*

ABSTRACT

The desert rose *Adenium obesum* (Forssk.) Roem. & Schult, that it is originated in Africa, more precisely in the Southern Sahara region belongs to the *Apocynaceae* family. The knowledge about the species reproductive biology is essential in studies of botany and in sexual propagation. Pollen grains are one of the most important components and their viability is essential in the genetic improvement area for the production of new recombinants. Studies indicate a possible self-incompatibility and low viability rates of pollen grains in this species and these are factors that hinder natural and artificial pollination. The objective of this study was to evaluate the influence of abiotic factors on the pollen viability of *A. obesum*. Two experiments were implemented and conducted in Biotechnology laboratory (CPCA / UFMG). Experiment 1 (Pollen viability in vitro under different temperatures and sucrose concentrations): the experimental design was in a 4 x 4 factorial scheme with four germination temperatures (15, 20, 30, 35°C), four different sucrose concentrations in the culture medium (0%, 10%, 20%, 30%) and four replications. The flowers of the desert rose were collected in the anthesis and the pollen grains were inoculated in slides together with the culture medium. They were stored in a B.O.D type chamber for six hours and then stained. Experiment 2 (Effect of temperature on the development and viability of pollen grains): the design was completely randomized with three treatments, different temperatures (20, 25 and 30°C) and five replications. The desert rose plants were kept in three B.O.D chambers for incubation under different temperatures (20, 25 and 30°C) in a sixteen-hour photoperiod of light. Five flowers were evaluated at anthesis. The pollen grains were collected, placed on slides with a drop of the toluidine blue dye, a drop of lugol, and fixed with a drop of glycerin. There was a significant interaction between the factor's temperature and sucrose concentration. The highest percentage of pollen grains germinated in vitro viable was observed (39.81%) at the estimated temperature of (26.05°C) and (25.70%) at the estimated sucrose concentration of (18%), presented quadratic behavior for all temperatures and concentrations tested. It is concluded that the significant interactions observed between temperature and sucrose concentrations indicate that both factors are

important in the pollen viability of *Adenium obesum*. The accessions of desert rose kept in B.O.D under a temperature of 30°C and a photoperiod of 16 hours of light showed faster flowering and temperatures \geq 25°C indicated percentages of pollen grains viability above 69%.

Keywords: Germination. Desert Rose. Pollen grains. Sacarose. Temperature.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Planta de *Adenium obesum* evidenciando os primórdios florais, caracterizando o estágio de seleção dos acessos para acondicionamento em BOD sob diferentes temperaturas. Montes Claros, MG, 2020 36
- Figura 2 – Acessos de *Adenium obesum* acondicionadas em câmaras do tipo B.O.D sob diferentes temperaturas (A) 20oC, (B) 25oC e (C) 30oC, Montes Claros, MG, 2020 36
- Figura 3 – Corte longitudinal de uma flor de *Adenium obesum* em antese (A) e detalhe dos grãos de pólen aderidos nas anteras (B), Montes Claros, MG, 2020 37
- Figura 4 – Viabilidade dos grãos de pólen de *Adenium obesum* por meio do teste colorimétrico. A – grãos de pólen viáveis; B – grãos de pólen inviáveis 37
- Figura 5 – Superfície de resposta para a germinação in vitro de grãos de pólen de *Adenium obesum*, em função das concentrações de sacarose (0%, 1%, 2% e 3%) e temperaturas (15°, 20°, 25° e 30°C). Médias transformadas (logX+1). Montes Claros, MG, 2020 38
- Figura 6 – Germinação in vitro dos grãos de pólen de *Adenium obesum* em diferentes concentrações de sacarose: A – 0%; B – 1%; C – 2%; D – 3%. Montes Claros, MG, 2020 38

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Resumo da análise de variância para os dados de viabilidade dos grãos de pólen em diferentes temperaturas Montes Claros, MG, 2020 39

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12 2
OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo Geral	13
2.2 Objetivos Específicos	13 3
REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1 Importância econômica e social	14
3.2 Polinização e biologia reprodutiva	15
3.3 Desenvolvimento e viabilidade polínica.....	16
3.4 Referências	17
4 ARTIGO	21
4.1 ARTIGO 1 – Viabilidade Polínica em <i>Adenium obesum</i>	21
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	40

1 INTRODUÇÃO

A rosa-do-deserto, *Adenium obesum* (Forssk.) Roem. & Schult, é originária da África, mais precisamente do Sul do Saara, pertence à família Apocynaceae. No ambiente nativo a planta pode se encontrar em dormência, com evidência de perda de folhas, cenário em que as flores ganham destaque em virtude da beleza e coloração, em especial nas cores rosa, vermelho e branco (MCBRIDE *et al.*, 2012; COLOMBO, 2018). A rosa-do-deserto se destaca pelo valor ornamental, além do uso medicinal no controle de microrganismos (ADAMU *et al.*, 2005).

As plantas desse gênero caracterizam-se pela produção de quantidades variadas de seiva leitosa e são consideradas tolerantes a resistentes a climas áridos e semiáridos (MCLAUGHLIN; GAROFALO, 2002), e essa última característica é responsável pelo nome popular de *Adenium obesum* (HASTUTI; SETYONO, 2009). A rosa-do-deserto tem sido amplamente utilizada como ornamental por ser de fácil manutenção, ampla variabilidade dos arranjos florais se tornando atraente e a presença marcante da estrutura denominada caudex esculpido e base dilatada (ROWLEY, 1987).

O funcionamento de todo o sistema reprodutivo de uma planta pode variar em função das condições climáticas às quais é submetida (ESCOBAR *et al.*, 1986). Conhecer a biologia reprodutiva das espécies é primordial para a permanência e evolução (PRATHAMA, 2009), porém, esse sistema ainda é pouco compreendido em diversas espécies de plantas superiores (CHAN; LIM; SAW, 2011). A biologia floral pode ser entendida, portanto, como o estudo de todas as manifestações de vida da flor, incluindo a fertilização, combinando-se com a biologia reprodutiva e com a ecologia da polinização, resultando no entendimento de como a reprodução das plantas acontece (FAEGRI; PIJL, 1979).

Os grãos de pólen são um dos componentes mais importantes, e a sua viabilidade é essencial na área do melhoramento genético para produção de novos recombinantes. Os estudos sobre o grão de pólen são úteis para direcionar o melhor momento para realização de cruzamentos (SOARES *et al.*, 2011), conservação de recursos genéticos (CHAUDHURY *et al.*, 2010) e indicação de potencial de viabilidade (BREWBAKER, 1967). Em estudos realizados em *Adenium* indicam uma possível autoincompatibilidade e baixas taxas de viabilidade dos grãos de pólen nessa espécie, fatores que dificultam a polinização natural e artificial (ROWLEY, 1980; AVEKIN; Ramos,2020).

Diante dos relatos descritos acima, objetivou avaliar a influência de fatores abióticos na viabilidade do pólen de *A. obesum* avaliados através de métodos colorimétricos e de germinação *in vitro*.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Objetivou-se avaliar a influência de fatores abióticos na viabilidade polínica de *A. obesum*.

2.2 Objetivos Específicos

- Testar concentrações de sacarose e diferentes temperaturas na germinação *in vitro* de grãos de pólen de *Adenium obesum* coletados na antese;

– Identificar a melhor temperatura na viabilidade dos grãos de pólen de *Adenium obesum* na antese.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Importância econômica e social

Ao se tratar de plantas ornamentais, deve-se considerar que existe ampla gama de espécies vegetais que compõem esse grupo. As diferentes espécies são adaptadas às diferentes condições climáticas e de solo, o que favorece a produção nas distintas regiões em todo o mundo. Além da diversidade existente, é conhecida a importância relacionada às flores que ao longo do tempo sempre tiveram ligação à história do homem, que determinou o cultivo dessas em escala comercial para algumas espécies. Flores e plantas ornamentais apresentam boa rentabilidade e podem ser cultivadas em pequenas extensões, sob condições controladas (NEVES *et al.*, 2015).

O Brasil teve indícios de origem com plantas ornamentais através de firmas habituais da fruticultura. Contudo, o desenvolvimento comercial foi registrado somente em 1950 e 1970 alcançou sua estabilidade trabalhista. Inicialmente os estados de Santa Catarina e São Paulo produziram em escala para mercados (JUNQUEIRA; PEETZ, 2008).

Recentemente o Brasil estima em torno de oito mil produtores de flores. São produzidas três mil variedades, entre essas 350 espécies cultivadas. No entanto o mercado de flores vem ganhando relevância pois movimenta e aquece a economia, gerando 199.100 empregos acessíveis, são (39,53%) que equivale 78.700 relacionado com a produtividade, 8.400 (4,22%) à distribuição, 105.500 (53%) no varejo e 6.500 (3,25%) a outros encargos. O rendimento do mercado de ornamentais em 2018 foi de R\$ 8,1 bilhões, com possibilidades de crescimento entre 8 e 10% ano, de acordo com Instituto Brasileiro de Floricultura (IBRAFLOR, 2020).

No estado de Minas Gerais, o cultivo de flores e plantas ornamentais compreende 645 hectares e em torno de 130 municípios. O faturamento calculado é de R\$169,3 milhões, em que 70% é obtidos do comércio de flores e folhagens de corte, 20% de ornamentais e 10% de plantas e flores. Em média são contabilizados 576 agricultores operando na produção em todo o estado. Há consolidação de pequenos produtores, com poucas associações e ausência de articulações específica para organização do setor (IBRAFLOR, 2020).

Adenium obesum, trata-se de uma planta ornamental inclusa na família *Apocynaceae*, habitualmente renomada como rosa-do-deserto considerada uma planta herbácea, suculenta, de aspecto escultural e floração exuberante e intensa. No entanto há informações que a espécie teve origem na África Oriental e comumente é cultivada em áreas húmidas tropicais (TALUKDAR, 2012).

Apesar de ser pouco conhecida mundialmente, a rosa-do-deserto apresenta alto potencial exploratório, bem como ótimas perspectivas quanto ao crescimento de cultivo, constituindo alternativa para pequenos e médios produtores rurais provenientes do semiárido e sem sistema de irrigação. Este fato está associado a anatomia do caule, que apresenta reservatório de água e nutrientes por períodos de estiagem e seca prolongada (MCLAUGHLIN; GAROFALO, 2002).

Nos últimos anos obteve-se maior abrangência da rosa-do-deserto por parte de floricultores e paisagistas brasileiros, em virtude do elevado valor ornamental. Contudo, ainda são escassos conhecimentos técnicos e agrônômicos para demanda comercial (SANTOS *et al.*, 2015).

A rosa-do-deserto vem ganhando importância pois mostra resultados satisfatórios relacionado a produção pois se trata de uma planta ornamental nova no mercado, no entanto é a quinta mais comercializada em todo o país, que vem crescendo a cada ano e aumenta a procura na área paisagista (IBRAFLOR, 2020).

3.2 Polinização e biologia reprodutiva

Adenium obesum pertence ao grupo das arbustivas, e plantas arbóreas. Essas apresentam raízes suculentas e caule engrossado na base, que é considerado adaptação e consiste em reservatório para água e nutrientes em regiões áridas (SANTOS *et al.*, 2015). É composta por folhas simples, dispostas em forma de espiral nas extremidades dos ramos, possui flores de diferentes formatos e cores, no entanto não possuem cheiro próprio. O fruto é proveniente de um único carpelo que se divide com finalidade de liberação de sementes com tufo peludo para melhor dispersão pelo vento (TALUKDAR, 2012).

Em relação aos frutos, estes são formados em pares logo após a fertilização e são divididos em folículos. Após o processo de maturação se abrem de forma longitudinal de modo que facilite a dispersão e que ocorra a liberação das sementes pelo vento. Contudo, algumas plantas não conseguem produzir sementes, em virtude do insucesso da polinização depende de aspectos como a falta de polinizadores, morfologia floral complexa e a própria fecundação.

A propagação sexuada é considerada relevante para o cultivo da rosa-do-deserto, sobretudo para os programas de melhoramento genético dessa categoria, isso se deve em razão da diversidade morfológica que é averiguada na linhagem decorrente de apenas um cruzamento, sendo uma boa escolha para fabricação de porta-enxertos (MCLAUGHLIN; GAROFALO, 2002; DIMMITT; JOSEPH; PALZKILL, 2009; COLOMBO *et al.*, 2018).

As flores são hermafroditas com uma grande diversidade na sua coloração. Mesmo contendo essas características não atraem muitos polinizadores nas flores, sendo mais eficaz a polinização cruzada. Os aparelhos reprodutivos que constitui a parte feminina da flor são compostos por estilete, ovário e estigma, e a parte masculina é constituída por estames que são constituídos pelo filete, grão de pólen e a antera (ROWLEY, 1980; BRAUM, 2008). Os cinco estames possuem forma de cone e anteras têm fendas voltadas para o interior desse cone. O ápice do cone, se assemelham as verdadeiras anteras. Quanto ao estigma, este se encontra escondido dentro do cone (DIMMITT; JOSEPH; PALZKILL, 2009).

As flores da rosa-do-deserto apresentam em geral cinco sépalas e cinco pétalas, possuem várias tonalidades, com inserção no tubo floral, sendo que o tubo de superfície interna pode ter cinco ou 15 linhas vermelhas, denominadas néctar guias. As flores podem apresentar as bordas avermelhadas a sua composição na cor rosa e interior amarelo, e a disposição destas em formato de sino (ROMAHN, 2012).

O florescimento em *Adenium obesum*, ocorre essencialmente na primavera, sendo verificada possibilidades de floração no verão e outono de acordo com a condução da planta. Isso pode ocorrer mais rapidamente em plantas derivadas de sementes com um ano de cultivo e com altura suficiente (MCLAUGHLIN; GAROFALO, 2002).

Em geral a rosa-do-deserto demonstra crescimento lento e vida prolongada, todavia podem permanecer por vários anos, sua propagação pode ser por sementes ou estaquia. Em regiões onde há invernos frios e secos deve ser feita a indução por um período de dormência, no entanto pode ocorrer a

perda de folhas. As sementes geralmente são descritas de cor marrom claro, ásperas e se dispõem em sistema para desmembramento, que é caracterizada como plumagem nas bases (MCLAUGHLIN; GAROFALO, 2002).

A propagação *in vitro* com plantas do gênero *Adenium* são desconhecidas, mas são informações que se tornam fundamentais pois permite produzir explantes com qualidade, já se sabe que sementes reproduzidas *in vitro*, não tem contaminação mas há pouca germinação (MACHADO JUNIOR; FERNANDES, 2018). Um dos indicadores do potencial embriogênico, é a indução de calos, que é a produção de vários tecidos oriundos de uma planta em condições assépticas, em estudos com o gênero se percebe uma suscetibilidade para regeneração e formação de calos com propriedades medicinais anti-inflamatório biologicamente ativo (LEE *et al.*, 2017).

3.3 Desenvolvimento e viabilidade polínica

O plantio e germinação das sementes constituem etapas fundamentais na produção de plantas e flores ornamentais. Compete aos agricultores o uso de mão-de-obra qualificada e tecnologias que tenham a capacidade de obter mudas de qualidade (CAMPANHARO *et al.*, 2006).

A rosa-do-deserto caracteriza-se por ser um gênero diversificado que não apresenta um inseto nativo que seja capaz de polinizar em condições de produção no Brasil, no entanto a formação de sementes ocorre por meio de polinização cruzada (COLOMBO *et al.*, 2018; PORTES, 2018).

A propagação de *A. obesum* é feita, sobretudo por sementes, já que as plantas oriundas de sementes possuem caudex e raízes primárias e principais superiores as que são providas de estacas (COLOMBO *et al.*, 2015). Em relação a polinização manual, esta é efetuada por meio da extração de uma ou duas pétalas da flor coletada, com a exibição das anteras. Posterior a isso, as anteras são retiradas e com auxílio da pinça é realizado o recolhimento dos grãos de pólen que é concedido para o estigma da flor destinada. Ao final de 90 dias de hibridação da flor, verifica-se a deiscência do folículo e em seguida pode ser feita a colheita das sementes para o plantio (COLOMBO *et al.*, 2018).

A microesporogênese é a formação de esporos primários no aparelho reprodutivo masculino de uma planta. Eles se diferenciam por meiose e ficam armazenados na parede interna da antera. O microsporócito que é a diferenciação do esporo primário, após a meiose, formam duas células haploides, que ficam unidas por uma parede do microsporócito, que se denomina grão de pólen (LORA *et al.*, 2009; SCOTT *et al.*, 2006; GBOL, 2020).

Os grãos de pólen de *Adenium*, possuem um volume interno considerável compacto a antera, se localizam na cabeça do estilete, quando se expandem liberam os grãos de pólen próximos da antese (GAYDARZHI, 2016; RAMOS, 2020).

Estudos indicam que algumas espécies do gênero *Adenium* apresentam um bom potencial polínico dias após antese, e uma possível autoincompatibilidade entre os indivíduos (ROWLEY 1980; AVEKIN; GAYDARZHI, 2016). As flores se encontram receptivas antes da antese, mas os melhores resultados de germinação foram obtidos no período de pós antese (RAMOS, 2020).

Dentre os fatores que podem afetar a performance dos grãos de pólen das espécies, a temperatura é apontada como um dos mais importantes interferindo na fertilidade (HEDHLY, 2011; PRASAD; BOOTE; ALLEN, 2011). Incrementos suaves da temperatura durante o crescimento e desenvolvimento dos tecidos

reprodutivos, podem acelerar ou atrasar o florescimento (BALASUBRAMANIAN *et al.*, 2006; TONSOR *et al.*, 2008), afetar a sincronia no desenvolvimento dos sistemas reprodutivos masculino e feminino (BARNABA'S; JAGER; FEHER, 2008; HEDHLY; HORMAZA; HERRERO, 2008) e originar defeitos nos gametas (MORRISON; STEWART, 2002). As temperaturas elevadas também podem afetar a quantidade de grão de pólen, sua morfologia, composição química e metabolismo (PRASAD *et al.*, 2002; KOTI *et al.*, 2005; ALONI *et al.*, 2001).

A estimativa da viabilidade do grão de pólen permite inferir sobre a capacidade de germinação e fecundação, sendo importante destacar que a variação da umidade e temperatura do ambiente, estágio de desenvolvimento da flor, coleta e condições de armazenamento do grão de pólen influenciam direta e indiretamente a sua viabilidade (STANLEY; LINSKENS, 1974). De acordo com Galetta (1983) a viabilidade polínica pode ser estimada por quatro principais métodos: germinação *in vitro*; métodos colorimétricos; germinação *in vivo* e porcentagem de frutificação efetiva, obtida com a utilização do pólen em teste.

A utilização de corantes para estimar a viabilidade polínica é o método mais rápido utilizado pelos pesquisadores (RODRIGUEZ-RIANO; DAFNI, 2000). Entretanto, o método de germinação *in vitro* é um dos métodos mais utilizados e difundidos na comunidade científica, devido a sua rapidez, eficiência, e pode apresentar alta correlação com o pegamento de frutos e sementes (DAFNI; FIRMAGE, 2000). O sucesso da germinação do grão de pólen *in vitro* é influenciado por alguns fatores como os constituintes do meio de cultura, o tempo de incubação e a temperatura (TAYLOR; HEPLER, 1997). Diferentes meios para a germinação de pólen *in vitro* têm sido relatados para várias espécies (TAYLOR; HEPLER, 1997), sendo utilizado principalmente o meio básico desenvolvido por Brewbaker e Kwack (1963).

3.4 Referências

- ADAMU, H. M.; ABAYEH, J. O.; AGHO, M. O.; ABDULLAHI, A. L. Um estudo etnobotânico de plantas herbáceas do estado de Bauchi e sua atividade antimicrobiana. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 99, p.1-4, 2005.
- ALONI, B.; PEET, M.; PHARR, M.; KARNI, L. The effect of high temperature and high atmospheric CO₂ on carbohydrate changes in bell pepper (*Capsicum annuum*) pollen in relation to its germination. **Physiologia Plantarum**, v. 112, p. 505-512, 2001.
- AVEKIN, J. V.; GAYDARZHI, M. M. ГЕНЕРАТИВНЕ РОЗМНОЖЕННЯ ADENIUM OBESUM (FORSSK.) ROEM. & SCHULT. В УМОВАХ ІНТРОДУКЦІЇ. **Інтродукція рослин**, n. 3, p. 57-63, 2016.
- BALASUBRAMANIAN S.; SURESHKUMAR S.; LEMPE J.; WEIGEL D. Potent induction of Arabidopsis thaliana flowering by elevated growth temperature. **Plos Genetics**, v. 2, p. 980-989, 2006.
- BARNABA'S, B.; JAGER, K.; FEHER, A. The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals. **Plant, Cell and Environment**, v. 31, p. 11-38, 2008.
- BRAUM, A. F. **Morfologia, Anatomia e Imunocitoquímica da interação pólene estigma em duas espécies de Passiflora (Passifloraceae)**. 2008. 117f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008.
- BREWBAKER, J. L.; KWACK, B. H. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. **American Journal of Botany**, v. 50, n. 9, p. 859-865, 1963.
- BREWBAKER, J. L. The distribution and phylogenetic significance of binucleate and trinucleate pollen grains in the angiosperms. **American Journal of Botany**, v. 54, n. 9, p. 1069-1083, 1967.

- CAMPANHARO, M.; RODRIGUES, J. J. V.; LIRA JÚNIOR. E.; COSTA, M. C. Características físicas de diferentes substratos para produção de mudas de tomateiro. **Revista Caatinga**, v. 19, n. 2, p.140-145, 2006.
- CHAN, Y. M.; LIM, A. L.; SAW, L. G. Reproductive biology of the endangered and endemic palm *Johannesteijsmannia lanceolata* (Arecaceae). **Journal of Tropical Forest Science**, p. 213-221, 2011.
- CHAUDHURY, R.; MALIK, S. K.; RAJAN, S. An improved pollen collection and cryopreservation method for highly recalcitrant tropical fruit species of mango (*Mangifera indica* L.) and litchi (*Litchi chinensis* Sonn.). **CryoLetters**, v. 31, p. 268-278, 2010.
- COLOMBO, R. C.; CRUZ, M. A.; CARVALHO, D. U.; HOSHINO, R. T.; ALVES, G. A. C.; FARIA, R. T. *Adenium obesum* as a new potter flower: growth management. **Ornamental Horticulture**, v. 24, n. 3, p. 197-205, 2018.
- COLOMBO, R.C.; FAVETTA, V.; YAMAMOTO, L.Y.; ALVES, G.A.C.; ABATI, J.; TAKAHASHI, L.S.A.; FARIA, R.T. Biometric description of fruits and seeds, germination and imbibition pattern of desert rose [*Adenium obesum* (Forssk.), Roem. & Schult.]. **Journal of Seed Science**, v. 37, n. 4, p. 206-213, 2015.
- DAFNI, A.; FIRMAGE, D. Pollen viability and longevity: practical, ecological and evolutionary implications. **Plant Systematics and Evolution**, v. 222, n. 1-4, p. 113-132, 2000.
- DIMMITT, M.; JOSEPH, G.; PALZKILL, D. *Adenium*: Sculptural Elegance, Floral Extravagance. **Tucson: Scathingly Brilliant Idea**, 2009. 152p.
- ESCOBAR, W.; ZÁRATE, R. D.; BASTIDAS, A. Biología floral y polinización artificial del guanábano *Annona muricata* L. en condiciones del valle del Cauca, Colombia. **Acta agrônômica**, v. 36, n. 1, p. 7-20, 1986.
- ESTRADA-LUNA, A. A.; HUANCA-MAMAMI, W.; ACOSTA-GARCÍA, G.; LEÓN-MARTÍNEZ, G.; BECERRA-FLORA, A.; PÉREZ-RUIZ, R.; VIELLE-CALZADA, Ph. Beyond promiscuity: from sexuality to apomixis in flowering plants. **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, v. 38, p. 146-151, 2002.
- FAEGRI, K.; VAN DER PIJL, L. **The Principles of Pollination Ecology**. Oxford: Pergamon Press, 1979. 244p
- FREITAS, L. L. **Efeito da temperatura sobre a germinação *in vitro* de grãos de pólen em dois genótipos de mamoeiro (*Carica papaya* L.)**. 2013. 69f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2013.
- GALLETA, G. J. Pollen and seed management. *In*: MOORE, J. N.; JANICK, J. **Methods in fruits breeding**. Indiana: Purdue University Press. 1983, p. 23-47.
- GBOL. **Programa GBOL** [Genética Básica on Line]. 2020. Disponível em: <http://arquivo.ufv.br/dbg/gbol/gbol.htm>. Acesso em: 1 set. 2020.
- HASTUTI, D.; SURANTO; SETYONO, P. Variation of morphology, karyotype and protein band pattern of *Adenium (Adenium obesum)* varieties. **NusantaraBioscience**, 2009, vol. 1, n. 2, p. 78-83.
- HEDHLY, A. Sensitivity of flowering plant gametophytes to temperature fluctuations. **Environmental and Experimental Botany**, v. 74, n. 1, p. 9-16, 2011.
- HEDHLY, A.; HORMAZA, J. I.; HERRERO, M. Global warming and plant sexual reproduction. **Trends in Plant Science**, v. 14, p. 30-36, 2008.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORICULTURA – IBRAFLO. **O mercado de flores no Brasil**. 2020.

Disponível em: https://354d6537-ca5e-4df4-8c1b-3fa4f2dbe678.filesusr.com/ugd/875639_f02d8909d93a4f249b8465f7fc0929b4.pdf. Acesso em: 15 ago. 2020.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. Mercado interno para os produtos da floricultura brasileira: características, tendências e importância socioeconômica recente. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 14, n. 1, p. 37-52, 2008.

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, n. 1, p. 59-67, 2005.

KOTI, S.; REDDY, K. R.; REDDY, V. R.; KAKANI, V. G.; ZHAO, D. Interactive effects of carbon dioxide, temperature, and ultraviolet-B radiation on soybean (*Glycine max* L.) flower and pollen morphology, pollen production, germination, and tube lengths. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, p. 725-736, 2005.

LEE, Y.D; MIN, W.J; JOO, S.G; KANG, C.H. Callus Induction and Increase in Anti-Inflammatory Activity by Treatment of Methyl Jasmonate in *Adenium obesum*. **Life Science Research Institute, GFC Co., Ltd., 17095 Yongin, Korea, 2017.**

LORA, J.; TESTILLANO, P. S.; RISUEÑO, M. C., HORMAZA, J. I., HERRERO, M. Pollen development in *Annona cherimola* Mill. (Annonaceae). Implications for the evolution of aggregated pollen. **BMC Plant Biology**, v. 9, p. 129-139, 2009.

MACHADO JUNIOR, G.R; FERNANDES, A.D. Assepsia e germinação in vitro de *adenium obesum*. **Revista Eletrônica Univag**, n.18, 2018.

MCBRIDE, K.; HENNY, R. J.; CHEN, J.; MELLICH, T. A. Effect of light intensity and nutrition level on growth and flowering of *Adenium obesum* 'Red' and 'Ice Pink'. **HortScience**, Alexandria, v. 49, n. 4, p. 430-433, 2014.

MCLAUGHLIN, J.; GAROFALO, J. O. E. The Desert Rose, *Adenium obesum*: nursery production. **University of Florida**, 2002.

MORRISON, M. J.; STEWART, D. W. Heat stress during flowering in summer Brassica. **Crop Science**, v. 42, p. 797-803, 2002.

NEVES, M. F.; PINTO, M. J. A.; LIMA JÚNIOR, J. C.; NAKATANI, J. K.; MONACO NETO, L. C.; LIMA, L. A. C. V.; KALAKI, R. B.; CAMARGO, R. B. Mapeamento e quantificação da cadeia de flores e plantas ornamentais do Brasil. **Journal of agronomic sciences**, v. 7, São Paulo: OCESP, 2015.

PEÇANHA, S.; CARDOSO, S. A.; OLIVEIRA E SILVA, G. F. Efeito de diferentes substratos na germinação e crescimento de *Adenium obesum* – Apocynaceae (rosa-do-deserto). **Vita et Sanitas**, v. 14, n. 1, p. 54-65, 2020.

PONTES, F. S. S. Principais pragas e nível tecnológico do seu manejo na floricultura cearense: um estudo de caso para a cultura da roseira. 2007. 82f. **Dissertação** (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

PORTES, R. G. R. Curva de embebição e interferência da luz na germinação de sementes de rosa-do-deserto (*Adenium obesum* (Forssk), Roem. & Schult.). **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 5, n. 1, p. 9-19, 2018.

PRASAD, P. V. V.; BOOTE, K. J.; ALLEN JR, L. H.; THOMAS, J. M. G. Effects of elevated temperature and carbon dioxide on seed-set and yield of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Glob. Change Biol**, v.8, p.710-721, 2002.

- PRASAD, P. V. V.; BOOTE, K. J.; ALLEN, J. R., 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, n. 1, p. 51-57, 2011.
- PRATHAMA, M. **Fenologi dan biologi pembungaan *Adenium Obesum***. 2009. 60 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor, 2009.
- RAMOS, B. M. S. **Biologia floral de *Adenium obesum***. 2020. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2020.
- RODRIGUEZ-RIANO, T; DAFNI, A. A new procedure to asses pollen viability. **Sexual Plant Reproduction**, v. 12, n. 4, p. 241-244, 2000.
- ROMAHN, V. **Enciclopédia ilustrada das plantas & flores: suculentas, samambaias e aquáticas**. São Paulo: Europa, 2012.
- ROWLEY, G. D. The pollination mechanism of *Adenium (Apocynaceae)*. **The National Cactus and Succulent Journal**, v. 35, n. 1, p. 2-5, 1980.
- SAKHANOKHO, H. F.; RAJASEKARAN, K. Pollen biology of ornamental ginger (*Hedychium* spp. J. Koenig). **Scientia Horticulturae**, v. 125, n. 2, p. 129-135, 2010.
- SALEM, M. A.; KAKANI, V. G.; REDDY, K. R. Temperature effects on *in vitro* pollen germination and pollen tube growth of soybean genotypes. **Annual Meetings of the Southern Branch of the American Society of Agronomy**, p. 27-29, 2004.
- SANTOS, M. M.; COSTA, R. B.; CUNHA, P. P.; SELEGUINI, A. Tecnologias para produção de mudas de rosa do deserto (*Adenium obesum*). **Multi-Science Journal**, v. 1, n. 3, p. 79-82, 2015.
- SCOTT, R. J.; SPIELMAN, M., DICKINSON, H. G. Stamen development: primordium to pollen. **In The molecular biology and biotechnology of flowering**, 2nd ed. [s. l.]: [s.n.], 2006. p. 298-331. [CAB International].
- SOARES, T. L.; JESUS, O. N.; SOUZA, E. H.; OLIVEIRA, E. J. Reproductive biology and pollen–pistil interactions in *Passiflora* species with ornamental potential. **Scientia Horticulturae**, v. 197, p. 339-349, 2015.
- SOARES, T. L.; SOUZA, E. H. D.; ROSSI, M. L.; SOUZA, F. V. D. Morfologia e viabilidade de grãos de pólen de acessos silvestres de abacaxi. **Ciência Rural**, v. 41, n. 10, p. 1744-1749, 2011.
- STANLEY, R. G.; LINSKENS, H. F. **Pollen: biology, Biochemistry management**. New York: [Springer], 1974. 172p.
- TALUKDAR, T. Development of NaCl-tolerant line in an endangered ornamental, *Adenium multiflorum* Kklotzsch through in vitro selection. **International Journal of Recent Scientific Research**, v. 3, n. 10, p. 812-821, 2012.
- TAYLOR, L. P.; HEPLER, P. K. Pollen germination and tube growth. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 48, p. 461-91, 1997.
- TONSOR, S. J.; SCOTT, C.; BOUMAZA I.; LISS, T. R.; BRODSKY, J. L.; VIERLING, E. Heat shock protein 101 effects in *A. thaliana*: genetic variation, fitness and pleiotropy in controlled temperature conditions. **Molecular Ecology**, v. 17, p. 1614-1626, 2008.

4 ARTIGO

4.1 ARTIGO 1 – Viabilidade Polínica em *Adenium obesum*

Este artigo foi elaborado conforme as normas da revista Ornamental Horticulture: Revista Brasileira de Horticultura Ornamental.

Viabilidade Polínica em *Adenium obesum*

Cristiane Gonçalves Souza¹, Silvia Nietsche¹, Clivia Carolina Fiorilo Possobom¹

¹Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, MG, Brasil

Resumo

Objetivou-se com o presente estudo: (1) Testar concentrações de sacarose e temperaturas na germinação *in vitro* de grãos de pólen de *Adenium obesum* e; (2) identificar o efeito da temperatura na viabilidade de grãos de pólen de *Adenium obesum*. Foram realizados dois experimentos e utilizados acessos de *A. obesum* com 18 meses de idade cultivados em vasos em viveiro. Em ambos experimentos as flores dos acessos foram coletadas manualmente no dia da antese. No primeiro experimento, para o teste de germinação *in vitro* os grãos de pólen foram extraídos e inoculados em lâminas de vidro com 150µL do meio de cultura padrão com variações nas concentrações de sacarose (0%, 1%, 2% e 3%) e incubados sob diferentes temperaturas (15°, 20°, 25° e 30°C). Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. No segundo experimento, acessos de *A. obesum* no início do desenvolvimento do primórdio floral foram selecionadas em viveiro e acondicionadas em câmara B.O.D. sob diferentes temperaturas (20°, 25° e 30°C) e fotoperíodo de 16 horas de luz, com delineamento inteiramente casualizado e três repetições. A viabilidade dos grãos foi realizada por meio do teste colorimétrico. Interação significativa entre temperaturas e concentrações de sacarose foi observada no teste de germinação *in vitro*. A maior porcentagem de germinação *in vitro* dos grãos de pólen foi observada (39,81%) na temperatura estimada de 26,05°C. Os acessos de rosa-do-deserto mantidos em B.O.D. sob temperatura de 30°C e fotoperíodo de 16 horas de luz apresentaram florescimento mais rápido e as temperaturas $\geq 25^\circ\text{C}$ indicaram porcentagens de viabilidade dos grãos de pólen acima de 69%.

Palavras-chave: antese, rosa-do-deserto, grãos de pólen, sacarose, temperatura.

Abstract

Pollen Viability in *Adenium obesum*

The aim of this study was: (1) to test sucrose concentrations and temperatures in the *in vitro* germination of *Adenium obesum* pollen grains and; (2) to identify the effect of air temperature on the viability of *Adenium obesum* pollen grains collected in anthesis. In the experiments conducted in the present work, accessions of *A. obesum* (18 months old) grown in pots in a nursery were

selected. In the *in vitro* germination and viability tests, the accession flowers were collected manually on the anthesis day. For the *in vitro* germination test, pollen grains were extracted and inoculated in glass slides with 150µL of the standard culture medium with variations in sucrose concentrations (0%, 10%, 20% and 30%) and incubated under different temperatures controlled (15°, 20°, 25° and 30°C). The data were submitted to variance analysis. In the second experiment, accessions of *A. obesum* at the beginning of the development of the floral primordium were selected in a nursery and stored in a B.O.D. under different temperatures (20°, 25° and 30°C) and a photoperiod of 16 hours of light. The pollen grains viability was accomplished through the colorimetric test. Significant interaction between temperatures and sucrose concentrations was observed in the *in vitro* germination test. The highest percentage of *in vitro* pollen grains germination was observed (39.81%) at the estimated temperature of 26.05°C. Desert rose accessions maintained in B.O.D. under a temperature of 30 ° C and a photoperiod of 16 hours of light, they flowered faster and temperatures $\geq 25^{\circ}\text{C}$ indicated percentages of pollen grains viability above 69%.

Keywords: anthesis, desert rose, pollen grains, sacarose, temperature.

INTRODUÇÃO

A espécie *Adenium obesum* (Forssk.) Roem. & Schult, conhecida comumente como rosado-deserto caracteriza-se por ser ramificada, com caule curto que atua como reserva, vem ganhando relevância como ornamental devido à alguns aspectos botânicos e fisiológicos, diversidade de cores nas pétalas e disposições florais, resistência ao estresse hídrico, excelente adaptação em ambientes de pleno sol e por fim, o fato de ser uma planta perene. Pertence à família Apocynaceae, e relatos indicam que a sua origem foi na África, mais precisamente do Sul do Saara (Brown, 2012; Oyen, 2008; Lorenzi, 2015 ; Wannakrairoj, 2008; McBride *et al.*, 2014).

É de fundamental importância a multiplicação da rosa do deserto por semente devido suas características morfológicas e genéticas, tais como caudex e coloração das flores, apreciadas por colecionadores (Colombo *et al.*, 2018).

As flores do gênero têm uma complexa morfologia floral, pode ser de formato redondo ou estrela, a corola tem aspecto de funil, ovário superior, estiletos reunidos, estames com filetes fortes e pequenos, longas anteras que se encontra dentro de um cone em cima do estigma (Rowley, 1980).

O pólen fica armazenado na base das anteras e o estigma fica encoberto por este, as flores são hermafroditas com diferentes cores. Elas podem ficar abertas de três a trinta e dois dias e não exalam perfume. São bissexuais actinomórficas, com parte feminina composta por estilete, estigma e ovário, e a masculina por filete, antera e pólen. Reproduzem-se através de alogamia, ou seja, reprodução cruzada, pois há uma possível autoincompatibilidade entre o gênero, dificultando a autopolinização das flores. A polinização natural é feita por polinizadores com apêndice alongado que se localiza na cabeça de algumas espécies, o que dificulta pois não se encontra no nosso território, todavia se faz necessário a polinização artificial para produção de sementes (Brown, 2012; Rowley 1980; Ramos, 2020).

O grão de pólen é de grande importância na reprodução sexuada, pois permite que o tubo polínico leve o gameta masculino até o gameta feminino. O formato pode ser elíptico ou esférico e o diâmetro, variam de 0,01 a 0,1mm. É produzido no microsporângio, formado por duas células haploides e uma película protetora. Uma célula se dividiu e formará dois gametas masculinos e a outra célula vegetativa vai dar origem ao tubo polínico (Bennett e Willis, 2002; Santos, 2020).

Foi constatado em estudos que a fertilidade do pólen da espécie *Adenium obesum* é de 70% a 90% do primeiro ao terceiro dia após antese (Avekin e Gaydarzhi, 2016). Entretanto, dados sobre a viabilidade dos grãos de pólen na antese são desconhecidos, apesar de relatos de produtores acerca da eficiência da fertilização por meio do uso dos grãos de pólen coletados no dia da abertura das flores.

As mudanças no clima, tais como aquecimento global, chuvas, geadas e a própria sazonalidade climática influenciam na produção agrícola, principalmente na produção de ornamentais pois são sensíveis a alterações no clima. A temperatura é o fator abiótico que mais altera o aspecto reprodutivo das flores. Em temperaturas mínimas inferiores a 15°C compromete a

viabilidade do pólen, e o máximo ou superior a 30°C de temperatura pode influenciar o processo de desenvolvimento dos grãos de pólen, ou seja interfere em todo o dinamismo de formação (Stainforth *et al.*, 2005; Young *et al.*, 2004).

Em temperaturas de 30° a 40°C tendem a encurtar algumas fases de desenvolvimento das plantas, tais como a fase reprodutiva. Assim, a quantidade e a morfologia do pólen, deiscência das anteras e arquitetura da parede do pólen, bem como a composição química e metabolismo de pólen demonstraram ser influenciados por essas temperaturas elevadas (Prasad *et al.*, 2002; Koti *et al.*, 2005; Aloni *et al.*, 2001). Embora a rosa-do-deserto seja de origem de regiões desérticas, não existem relatos científicos sobre a influência da temperatura na viabilidade polínica.

O presente estudo objetivou avaliar a influência de fatores abióticos na viabilidade dos grãos de pólen de *A. obesum* através de métodos colorimétricos e de germinação *in vitro*.

MATERIAL E MÉTODOS

Área experimental e Material genético

A partir do banco de germoplasma de rosa do deserto localizado na UFMG/Montes ClarosMG, foram selecionadas plantas pertencentes a dois acessos conforme descrição, denominados:

(a) ICA-bd, acesso com flores de cor branca e disposição das pétalas em arranjo duplo; e (b) ICA-vt, acesso com flores de cor vermelha e arranjo de pétalas triplo. Seis plantas de cada acesso com 18 meses de idade e duas florações finalizadas foram selecionadas (Ramos, 2020).

Os experimentos foram conduzidos em laboratório e as plantas em casa-de-vegetação com tela antiafídio e 20% de sombreamento, localizada na Universidade Federal de Minas Gerais UFMG, Campus Montes Claros-MG, no período de março a agosto de 2020. O município de Montes Claros se encontra em região semiárida no norte de Minas Gerais, localizada com as seguintes coordenadas geográficas (Latitude = 16°43'13"S, Longitude = 43°52'52"O, altitude

média de 638mm). O clima é considerado tropical de savana (Aw), segundo Koppen, com precipitação média anual superior a 1060 mm, com inverno seco e verão chuvoso (INMET, 2017).

Os acessos utilizados estavam acondicionados em vasos de plásticos (4 L) e 17 cm de diâmetro, contendo substrato comercial da marca Bioplant[®] sob cultivo em casa-de-vegetação. Os seguintes tratamentos culturais foram conduzidos ao longo do experimento conforme orientação de Ramos (2020); (1) irrigação semanal de 500mL de água por vaso e (2) adubação semanal realizada por vaso pela aplicação manual de 200mL do produto Fort flores[®], na dosagem de 10 g do produto comercial diluída em 2 litros de água.

Contudo essas plantas foram utilizadas para a condução dos dois experimentos descritos a seguir.

Experimento 1: Viabilidade polínica em flores submetidas a diferentes temperaturas durante o desenvolvimento

As plantas de *Adenium obesum* que apresentavam o início do desenvolvimento do primórdio floral (Figura 1) foram selecionadas e acondicionadas duas plantas para cada câmara, foram utilizadas três câmaras do tipo B.O.D (Limatec[®]) com temperaturas controladas de 20°C, 25°C e 30°C e 16h de fotoperíodo (Figura 2).

A partir da floração plena foram coletadas as flores no primeiro dia da antese e a extração dos grãos de pólen foi realizada conforme metodologia proposta (Acar e Kakani, 2010; Dafni e Firmage, 2000), porém com a adição de uma gota do corante azul de anilina. As lâminas foram fixadas com uma gota de glicerina, e logo após foram visualizadas em microscópio (Binocular, LED digilab[®]) de campo claro com objetiva de baixa magnitude (16x) (Zambon *et al.*, 2014).

Cada lâmina foi dividida em quatro quadrantes e foram contados 100 grãos de pólen por quadrante. Foram considerados viáveis os grãos de pólen que se apresentaram coloridos de azul

(Figura 4). O percentual de viabilidade foi obtido pela razão entre os grãos viáveis e o total de grãos avaliados na lâmina.

Foi utilizado delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) com três tratamentos (20, 25 e 30°C) e três repetições. Cada parcela experimental foi composta por uma lâmina contendo pelo menos 400 grãos de pólen.

Os dados avaliados foram submetidos à análise de variância, e quando significativo pelo teste F, as médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

Experimento 2: Germinação *in vitro* dos grãos de pólen em concentrações de sacarose e diferentes temperaturas

Para realização dos testes de germinação *in vitro*, as flores dos acessos selecionados foram coletadas manualmente no dia da antese às 08:00 horas da manhã.

Em câmara de fluxo laminar foi realizada a extração dos grãos de pólen das anteras com auxílio de uma agulha (0,45 x 13 mm da marca TKL), e logo em seguida foram inoculados no centro de uma lâmina de vidro, contendo 150µL do meio de cultura padrão: 1,27mM de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,87mM de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,99mM de KNO_3 , 1,62mM H_3BO e diferentes concentrações de sacarose (0, 10, 20 e 30 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), em pH 7,0 (Brewbaker e Kwack, 1963).

Após a inoculação, as lâminas foram acondicionadas em placas de Petri com papel filtro humedecido, formando uma câmara húmida, e em seguida mantidas em incubador do tipo BOD com temperaturas controladas de 15°, 20°, 25° e 30°C. Seis horas após a incubação foi adicionado uma gota do corante azul de toluidina e a contagem dos grãos de pólen germinados foi realizada sob microscópio Binocular, LED digilab® de campo claro com objetiva de baixa magnitude (16x). Cada lâmina foi dividida em quatro quadrantes e foram contados 100 grãos de pólen por quadrante. O percentual de germinação *in vitro* dos grãos de pólen foi estimado pela relação entre o número de grãos de pólen germinados em relação ao número total de grãos de pólen contados em cada

lâmina. Foram considerados viáveis os grãos de pólen que apresentaram tubo polínico com o comprimento igual ou superior ao diâmetro do grão de pólen (Acar e Kakani, 2010; Dafni e Firmage, 2000).

O delineamento experimental inteiramente casualizado foi em esquema fatorial 4 x 4, sendo testadas quatro temperaturas de incubação (15, 20, 30 e 35°C), quatro concentrações de sacarose (0%, 1%, 2% e 3%), e quatro repetições. Cada parcela experimental foi composta por uma lâmina contendo pelo menos 400 grãos de pólen.

Os dados foram submetidos a análise de variância, e assim foi possível calcular estatisticamente alguns preceitos importantes. Os valores quando o teste “F” foi significativo, ou seja, maior que F tabelado, foram analisados e gerado um gráfico de superfície resposta em função das variáveis independentes (doses de sacarose e temperaturas), determinando quais seriam as condições favoráveis para cada uma das variáveis, por meio do programa R *studio*.

Os dados de porcentagem de germinação dos grãos de pólen foram transformados, por meio da transformação logarítmica ($\text{Log } X+1$) para obter a normalidade do conjunto de dados.

RESULTADOS

Experimento 1: Viabilidade polínica em flores submetidas a diferentes temperaturas durante o desenvolvimento

De maneira geral, os acessos de rosa-do-deserto mantidas em BOD na temperatura de 30°C e fotoperíodo de 16 horas de luz se desenvolveram mais rápido. Da emissão do botão floral até antese levaram em média 15 dias para atingir a antese. Na temperatura de 25°C levaram em média 22 dias para o seu desenvolvimento, e na temperatura de 20°C atingiram a antese com 28 dias. Também foi possível observar que nas temperaturas de 20 e 25°C, as plantas apresentaram abortamento floral e amarelecimento de folhas.

A análise de variância indicou diferença significativa a nível de probabilidade de 5% da viabilidade polínica da rosa-do-deserto entre as temperaturas (Tabela 1). Observou-se que a viabilidade dos grãos de pólen apresentou médias superiores a 69% nas temperaturas de 25 e 30°C e foram significativamente superiores quando comparado à temperatura de 20°C (Tabela 1).

Experimento 2: Germinação *in vitro* dos grãos de pólen em concentrações de sacarose e diferentes temperaturas

De acordo com a análise de variância houve interação significativa ($p < 0,05$) entre as temperaturas e as concentrações de sacarose para a característica de germinação *in vitro* dos grãos de pólen de *Adenium obesum*.

Obteve-se um aumento da germinação *in vitro* em condições de temperatura e concentração de sacarose favoráveis, demonstrando crescimento linear, nos demais o crescimento ocorreu de forma quadrática (Figura 5). Houve um incremento da germinação *in vitro*, com incremento da temperatura e concentração ideais atingindo seu valor máximo de 39,81% germinação, depois houve uma queda atingindo seu valor mínimo de 16,60% germinação (Figuras 5 e 6).

DISCUSSÃO

A germinação *in vitro* é um método seguro e adequado para testar a viabilidade de grãos de pólen, sendo, portanto, o mais utilizado (Almeida *et al.*, 2002). E o conhecimento deste importante caractere se torna crucial para conhecer aspectos de fertilidade e melhorar as práticas de hibridação artificial para produção das populações segregantes em programas de melhoramento (Soares *et al.*, 2018). No entanto, fatores abióticos como a temperatura (alta ou baixa) e alguns fatores

nutricionais, podem ocasionar a diminuição ou aceleração da reação das enzimas pertencentes aos grãos de pólen (Taiz e Zeiger, 2013).

No presente estudo foi observada interação entre dois fatores abióticos: temperatura e concentração de sacarose na germinação *in vitro* dos grãos de pólen da rosa-do-deserto coletados na antese. Os resultados indicaram que a germinação *in vitro* dos grãos de pólen coletados no momento da antese de *Adenium obesum* respondeu positivamente aos efeitos de temperatura em uma faixa entre 20° e 30°C com variações amplas em função da concentração de sacarose. Taylor e Hepler (1997), Zhang *et al.* (2003) destacaram em seu estudo que fatores como temperatura, o tempo de incubação e componentes do meio de cultura, influenciam diretamente a germinação de pólen *in vitro*, pois dependendo da quantidade de sacarose ou de micronutrientes podem impedir o tubo polínico de se desenvolver ou romper a película ou desnaturar o grão de pólen tornando o inviável, o que dificulta a disseminação de espécies como frutíferas e ornamentais.

García *et al.* (2012), nos relata que a sacarose é uma fonte fundamental de energia para a germinação do pólen, induzindo o crescimento do tubo polínico e sintetiza células novas. Nossos resultados indicaram que mesmo na ausência de sacarose foi observada germinação *in vitro* dos grãos de pólen superior a 30%. Esse resultado pode ser explicado em função do genótipo dos acessos, e em função de outros componentes do meio de cultura. O meio de cultura padrão desenvolvido por Brewbaker e Kwack (1963), Galletta (1983) além da fonte de carbono, possui em sua composição um micronutriente essencial associado a germinação dos grãos de pólen, o boro. No entanto uma fonte de carbono ou de boro se torna suficiente para a germinação do pólen, não sendo essencial outros nutrientes, o boro induz o crescimento do tubo polínico.

Recentemente, um estudo realizado em *Adenium obesum* indicou que grãos de pólen coletados em pré-antese apresentaram a maior porcentagem de germinação *in vitro*, em condições de meio de cultivo contendo 1 % de sacarose e uma temperatura entre 25° a 30°C (Ramos, 2020).

Adenium obesum é típico de regiões áridas e semiáridas, se desenvolve bem em condições de exposição à luz e as flores do gênero geralmente têm antese pela manhã, horário onde são observadas temperaturas mais amenas (Braun, 2008; Ramos, 2020). Eventualmente as rosas-do-deserto não se adaptam ao frio, mostrando sensibilidade em baixas temperaturas. Seu metabolismo fica muito lento e dormente, podendo ocasionar folhas amarelas e perdas dessa, além de abortamento floral (Braga, 2017).

Todavia, a temperatura alta influencia diretamente a vitalidade do pólen antes da antese, podendo causar efeitos negativos tais como acúmulo de amido, desnaturação, rompimento da parede celular, alterações na composição química. Assim como uma temperatura baixa, altera o metabolismo, e ocasiona a esterilidade, no entanto é fundamental se saber a temperatura ideal, visto que as oscilações da sazonalidade climática podem dificultar a produção de sementes (Rodrigues, 2017).

No entanto, alguns autores descrevem essa relação de importância entre a temperatura e a viabilidade do pólen em algumas espécies, rosa-do-deserto (Akevin, 2016), babaçu (Araújo *et al.*, 2017), mamoeiro (Moura *et al.*, 2010), milho (Davide *et al.*, 2009).

No presente estudo ficou evidente que temperaturas de 20°C em um fotoperíodo de 16 horas de luz afetaram consideravelmente a viabilidade polínica, atrasou o desenvolvimento das flores, levando em média 28 dias do estágio de primórdio floral até a antese e causou um amarelecimento das folhas e maior abortamento floral. Segundo Kakani *et al.* (2005), a temperatura é um dos fatores mais importantes pois é o que mais influencia o desenvolvimento das plantas. Altas ou baixas temperaturas têm vários efeitos importantes sobre tecidos reprodutivos e os principais fenômenos observados são florescimento rápido ou tardio (Tonsor *et al.*, 2008), assincronia no desenvolvimento do sistema reprodutivo masculino e feminino (Hedhly; Hormaza; Herrero, 2008) e defeitos nos gametas masculinos e femininos (Takeoka *et al.*, 1991, Morrison e Stewart, 2002).

Em contrapartida, a temperatura ambiente de 30°C em fotoperíodo de 16 horas de luz proporcionou uma grande viabilidade dos grãos de pólen, acelerou o desenvolvimento floral e menor número de abortamentos florais foram observados. McLaughlin e Garofalo (2002), Avekin (2016), também relatou em seu estudo que *Adenium* se adapta bem em temperatura acima de +25°C e iluminação suficiente (máximo - 13.000 lux), e que a melhor fertilidade do pólen foi observada entre o primeiro dia da antese.

As estimativas de viabilidade dos grãos de pólen e das condições ideais de cultivo de uma espécie são fundamentais e permitem aos pesquisadores inferir sobre a capacidade de germinação, efeitos da temperatura no manejo das espécies, estágio de desenvolvimento da flor para a coleta e condições de armazenamento do grão de pólen (Nietsche *et al.*, 2009; Pereira *et al.*, 2014; Stanley e Linskens, 1974).

CONCLUSÕES

A maior porcentagem estimada de germinação de grãos de pólen *in vitro* de *Adenium obesum* é de 39,81%, obtida na temperatura de 26,05°C.

A viabilidade dos grãos de pólen de *Adenium obesum* é maior em temperaturas de 25 e 30°C.

REFERÊNCIAS

ALONI, B.; PEET, M.; PHARR, M.; KARNI, L. The effect of high temperature and high atmospheric CO₂ on carbohydrate changes in bell pepper (*Capsicum annum*) pollen in relation to its germination. **Physiologia Plantarum**, v. 112, p. 505-512, 2001.

ARAÚJO, E. C. E; LIMA P. S. C; VIEIRA, P. F. M. J; SITTOLIN, I.M; VELOSO, M. E. C. Efeito do tempo de armazenamento em baixa temperatura na viabilidade do pólen de espécies do complexo babaçu. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 25., 2017, Porto Seguro, Bahia. **Anais** [...]. Porto Seguro, Bahia, 2017.

AVEKIN, J. V.; GAYDARZHI, M. M. ГЕНЕРАТИВНЕ РОЗМНОЖЕННЯ ADENIUM OBESUM (FORSSK.) ROEM. & SCHULT. В УМОВАХ ІНТРОДУКЦІЇ. **Інтродукція рослин**, n. 3, p. 57-63, 2016.

BRAGA, I. *et al.* [**Rosa do deserto**: categorias]. *In*: ÍTALO Braga: loja virtual de rosas do deserto. 2017. Disponível em: <https://italobraga.com.br/>. Acesso em: 6 ago. 2020.

BRAUM, A. F. **Morfologia, Anatomia e Imunocitoquímica da interação pólene estigma em duas espécies de *Passiflora* (Passifloraceae)**. 2008. 117 f. Dissertação (Mestrado) – (Pósgraduação em Botânica) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008.

BREWBAKER, J. L. The distribution and phylogenetic significance of binucleate and trinucleate pollen grains in the angiosperms. **American journal of botany**, v. 54, n. 9, p. 1069-1083, 1967.

BREWBAKER, J. L.; KWACK, B. H. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. **American Journal of Botany**, v. 50, n. 9, p. 859-865, 1963.

CHATTERJEE, R.; SARKAR, S.; RAO, G. M. N. Birbal Sahni Institute of Palaeobotany; Improved media for *in vitro* pollen germination of some Species of apocynaceae. **International Journal of Environment**, v. 3, p. 146-153, 2014.

COLOMBO, R. C.; CRUZ, M. A.; CARVALHO, D. U.; HOSHINO, R. T.; ALVES, G. A. C.; FARIA, R. T. *Adenium obesum* as a new potter flower: growth management. **Ornamental Horticulture**, v. 24, n. 3, p. 197-205, 2018.

DAFNI, A.; FIRMAGE, D. Pollen viability and longevity: practical, ecological and evolutionary implications. **Plant Systematics and Evolution**, v. 222, n. 1-4, p. 113-132, 2000.

DAVIDE, C. M. L.; PEREIRA, C. R.; ABREU, B. G.; SOUZA, C. J.; PINHO, V. V. É. Viabilidade de pólen de milho em diferentes períodos de armazenamento em baixa temperatura. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 8, n. 2, p. 199-206, 2009.

GALLETA, G. J. Pollen and seed management. *In*: MOORE, J. N.; JANICK, J. **Methods in fruits breeding**. Indiana: Purdue University Press, 1983. p. 23-47.

GARCÍA, C. C.; GUARNIERI, M.; PACINI, E. Tomato pollen tube development and carbohydrate fluctuations in the autotrophic phase of growth. **Acta Physiologiae Plantarum**, Kraków, v. 34, n. 6, p. 2341-2347, 2012.

HEDHLY, A.; HORMAZA, J. I.; HERRERO, M. Global warming and plant sexual reproduction. **Trends in Plant Science**, v. 14, p. 30-36, 2008.

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, n. 1, p. 59-67, 2005.

KOTI, S.; REDDY, K. R.; REDDY, V. R.; KAKANI, V. G.; ZHAO, D. Interactive effects of carbon dioxide, temperature, and ultraviolet-B radiation on soybean (*Glycine max* L.) flower and

pollen morphology, pollen production, germination, and tube lengths. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, p. 725-736, 2005.

MCBRIDE, K.; HENNY, R. J.; CHEN, J.; MELLICH, T. A. Effect of light intensity and nutrition level on growth and flowering of *Adenium obesum* 'Red' and 'Ice Pink'. **HortScience**, Alexandria, v. 49, n. 4, p. 430-433, 2014.

MORRISON, M. J.; STEWART, D. W. Heat stress during flowering in summer Brassica. **Crop Science**, v. 42, p. 797-803, 2002.

MOURA, P. H. C.; PEREIRA, S. N. T.; CORTES, M. F. D.; PEREIRA, G. M. **Efeito da temperatura na germinação "in vitro" de grãos de pólen e crescimento do tubo polínico em genótipos de mamoeiro**. 2010. Tese (Doutorado em genética e melhoramento de plantas) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Rio de Janeiro, 2010.

NIETSCH, S.; PEREIRA, M. C. T.; OLIVEIRA, C.; DIAS, M. M.; REIS, S. T. Viabilidade dos grãos de pólen de flores de pinheira (*Annona squamosa*) em diferentes horários. **Ciência e Agrotecnologia**, v.33, n.2, p.527-531, 2009.

PEREIRA, M. C. T.; CRANE, J. H.; MONTAS, W.; NIETSCH, S.; VENDRAME, W. A. Effects of storage length and flowering stage of pollen influence its viability, fruit set and fruit quality in 'Red' and 'Lessard Thai' sugar apple (*Annona squamosa*) and 'Gefner' atemóia (*A. cherimola* × *A. squamosa*). **Scientia Horticulturae**, v. 178, p. 55-60, 2014.

PRASAD, P. V. V.; BOOTE, K. J.; ALLEN JR, L. H.; THOMAS, J. M. G. Effects of elevated temperature and carbon dioxide on seed-set and yield of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Glob. Change Biol**, v. 8, p.710-721, 2002.

PRASAD, P. V. V.; BOOTE, K. J.; ALLEN, J. R., 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, n. 1, p. 51-57, 2011.

RAMOS, B. M. S. **Biologia floral de *Adenium obesum***. 2020. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2020.

RODRIGUES, A. R. B. **A sazonalidade climática influencia o desenvolvimento dos grãos de pólen e a frutificação em *Annona squamosa* L.** 2017. Dissertação (Mestrado em Produção vegetal) – Universidade Estadual de Montes Claros, Montes Claros, 2017.

ROWLEY, G. D. The pollination mechanism of *Adenium* (*Apocynaceae*). **The National Cactus and Succulent Journal**, v. 35, n. 1, p. 2-5, 1980.

SANTOS, M. M.; COSTA, R. B.; CUNHA, P. P.; SELEGUINI, A. Tecnologias para produção de mudas de rosa do deserto (*Adenium obesum*). **Multi-Science Journal**, v. 1, n. 3, p. 79-82, 2015.

SOARES, T. L.; JESUS, O. N.; SOUZA, E. H.; OLIVEIRA, E. J. Reproductive biology and pollen–pistil interactions in *Passiflora* species with ornamental potential. **Scientia Horticulturae**, v. 197, p. 339-349, 2015.

SOARES, T. L.; SOUZA, E. H. D.; ROSSI, M. L.; SOUZA, F. V. D. Morfologia e viabilidade de grãos de pólen de acessos silvestres de abacaxi. **Ciência Rural**, v. 41, n. 10, p. 1744-1749, 2011.

STAINFORTH, D. A.; AINA, T.; CHRISTENSEN, C.; COLLINS, M.; FAULL, N.; FRAME, D. J.; KETTLEBOROUGH, J. A.; KNIGHT, S.; MARTIN, A.; MURPHY, J. M.; PIANI, C.; SEXTON, D.; SMITH, L. A.; SPICER, R. A.; THORPE, A. J.; ALLEN, M. R. Uncertainty in predictions of the climate response to rising levels of greenhouse gases. **Nature**, 433:403–406, 2005.

STANLEY, R. G.; LINSKENS, H. F. **Pollen: biology, Biochemistry management**. New York: 1974. 172p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**, 5th Edn. Sunderland, MA: Sinauer Associates. 2010.

TAKEOKA, Y.; HIROI, K.; KITANO, H.; WADA T. Pistil hyperplasia in rice spikelets as affected by heat-stress. **Sexual Plant Reproduction**, v.4, p. 39-43, 1991.

TAYLOR, L. P.; HEPLER, P. K. Pollen germination and tube growth. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 48, p. 461-91, 1997.

TONSOR, S. J.; SCOTT, C.; BOUMAZA I.; LISS, T. R.; BRODSKY, J. L.; VIERLING, E. Heat shock protein 101 effects in *A. thaliana*: genetic variation, fitness and pleiotropy in controlled temperature conditions. **Molecular Ecology**, v. 17, p. 1614-1626, 2008.

YOUNG, L.; R. WILEN; BONHAM-SMITH, P. High temperature stress of *Brassica napus* during flowering reduces micro- and megagametophyte fertility, induces fruit abortion, and disrupts seed production. **J. Expt. Bot.**, v. 55, p. 485–495, 2004.

ZAMBON, R. C.; SILVA, O. F. L.; PIO, R.; FIGUEIREDO, A. M.; SILVA, N. K. Estabelecimento de meio de cultura e quantificação da germinação de grãos de pólen de cultivares de marmeleiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 2, p. 400-407, 2014.



Figura 1 – Planta de *Adenium obesum* evidenciando os primórdios florais, caracterizando o estágio de seleção dos acessos para acondicionamento em BOD sob diferentes temperaturas. Montes Claros, MG, 2020

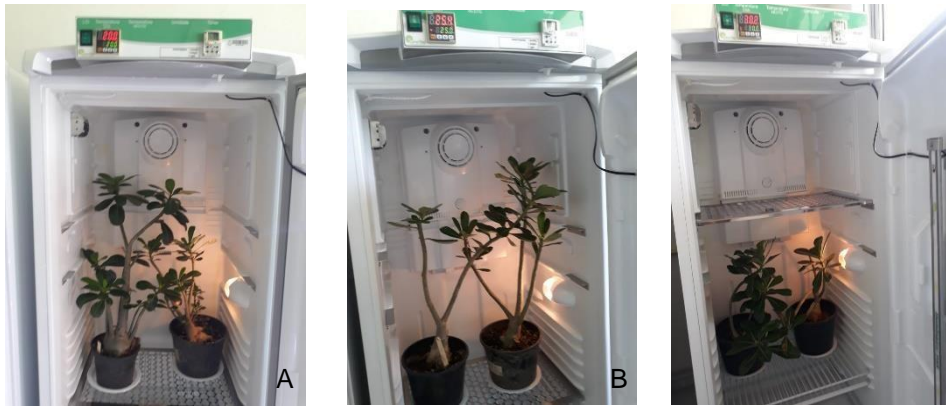


Figura 2 – Acessos de *Adenium obesum* acondicionadas em câmaras do tipo B.O.D sob diferentes temperaturas (A) 20°C, (B) 25°C e (C) 30°C, Montes Claros, MG, 2020



Figura 3 – Corte longitudinal de uma flor de *Adenium obesum* em antese (A) e detalhe dos grãos de pólen aderidos nas anteras (B), Montes Claros, MG, 2020

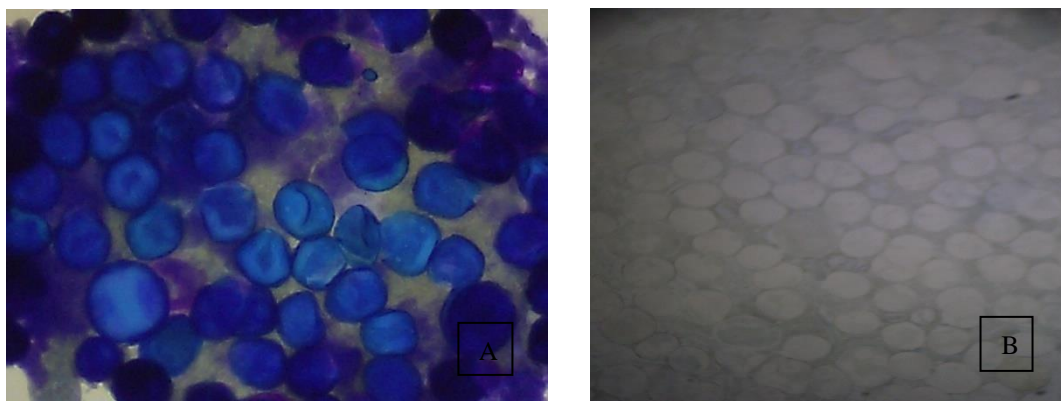


Figura 4 – Viabilidade dos grãos de pólen de *Adenium obesum* por meio do teste colorimétrico. A – grãos de pólen viáveis; B – grãos de pólen inviáveis

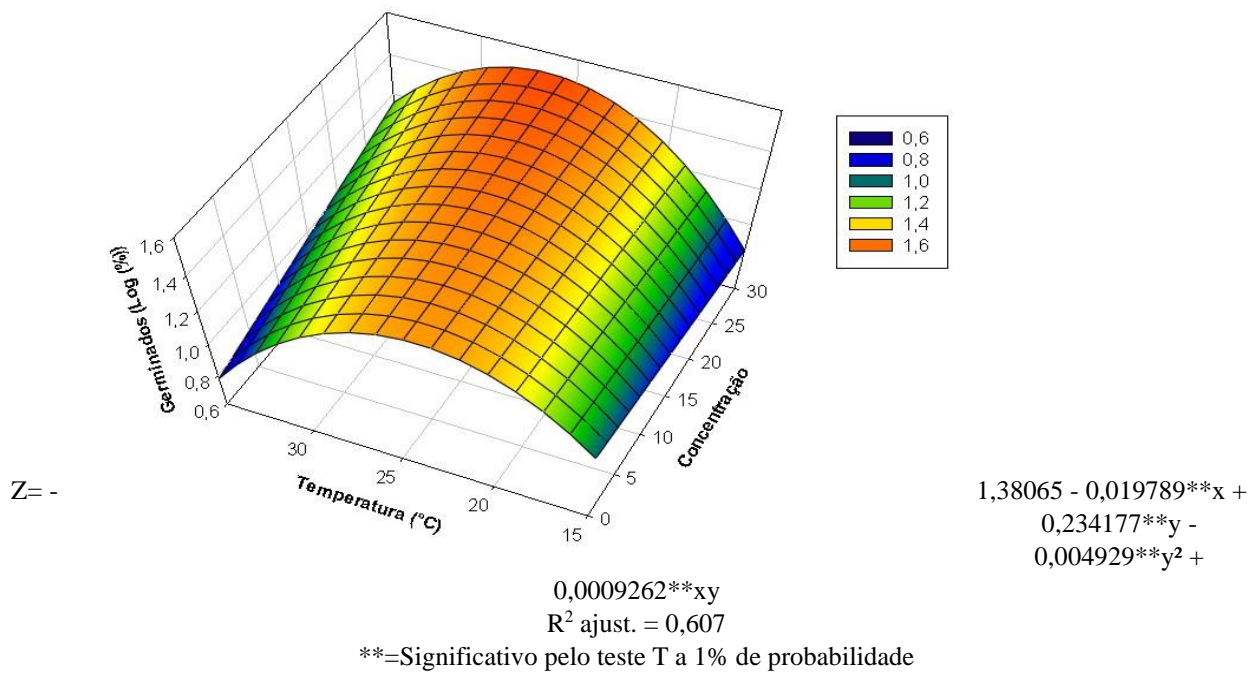


Figura 5 – Superfície de resposta para a germinação *in vitro* de grãos de pólen de *Adenium obesum*, em função das concentrações de sacarose (0%, 1%, 2% e 3%) e temperaturas (15°, 20°, 25° e 30°C). Médias transformadas (log^{X+1}). Montes Claros, MG, 2020

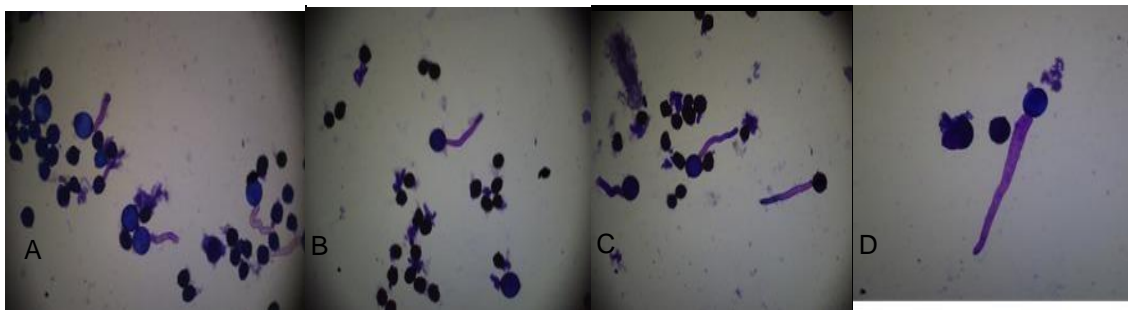


Figura 6 – Germinação *in vitro* dos grãos de pólen de *Adenium obesum* em diferentes concentrações de sacarose: A – 0%; B – 1%; C – 2%; D – 3%. Montes Claros, MG, 2020

Tabela 1 – Resumo da análise de variância para os dados de viabilidade dos grãos de pólen em diferentes temperaturas Montes Claros, MG, 2020

FV	GL	QM	F
Temperaturas	2	1131,56	41,54 *
Resíduo	12	27,23	
Total	14		
CV (%)	8,68		

Temperaturas (°C)	30	25	20
Germinação <i>in vitro</i> (%)	72,61a	69,93a	38,00b

(*) significativo a 5 % pelo teste F. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos principais resultados apresentados pelo trabalho, podemos afirmar que os grãos de pólen de *Adenium obesum* são influenciados diretamente por fatores abióticos como por exemplo a temperatura e concentrações de sacarose. Temperaturas inferiores a 25°C reduzem significativamente a viabilidade polínica e atrasam o florescimento de *Adenium obesum*. Em relação a germinação in vitro dos grãos de pólen as melhores condições foram observadas em concentração de 3% de sacarose associada a temperatura de 26,05°C.

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

Cristiane Gonçalves Souza

Influência de fatores abióticos na viabilidade polínica em *Adenium obesum*

Montes Claros

2020

Cristiane Gonçalves Souza

Influência de fatores abióticos na viabilidade polínica em *Adenium obesum*

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

Orientadora: Profa. Dra. Silvia Nietsche

Coorientadora: Profa. Dra. Clivia Carolina F. Possobom

Montes Claros
Outubro de 2020

Souza, Cristiane Gonçalves.

S729i Influência de fatores abióticos na viabilidade polínica em *Adenium obesum*/ Cristiane Gonçalves Souza.
2021 Montes Claros, 2020.

40 f.

Dissertação (mestrado) - Área de concentração em Produção Vegetal. Universidade Federal de Minas Gerais / Instituto de Ciências Agrárias.

Orientadora: Sílvia Nietzsche.

Banca examinadora: Clivia Carolina Fiorilo Possobom, Claudinéia Ferreira Nunes, Marlon Cristian Toledo Pereira.

Inclui referências: f.17-20; f.32-34.

1. Germinação. 2. Grãos de pólen. 3. Sacarose. 4. Temperatura. I. Nietzsche, Sílvia. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Agrárias. III. Título.

CDU: 631.53

ELABORADA PELA BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA DO ICA/UFMG
Edêlzia Cristina Sousa Versiani - Bibliotecária CRB-6 1349

Cristiane Gonçalves Souza

Influência de fatores abióticos na viabilidade polínica em *Adenium obesum*

Aprovada pela banca examinadora constituída pelos professores:

Profa. Dra. Clívia Carolina Fiorilo Possobom
(Universidade Federal de Minas Gerais)

Profa. Dra. Claudinéia Ferreira Nunes
(Universidade Federal de Minas Gerais)

Prof. Dr. Marlon Cristian Toledo Pereira
(Universidade Estadual de Montes Claros)

Profa. Dra. Silvia Nietsche
(Universidade Federal de Minas Gerais)

Montes Claros, 30 de outubro de 2020.

Dedico a Deus que me permitiu a realização dessa dissertação e a dadiva da vida. Ao meu pai Geraldo, a minha mãe Valdivia e minha irmã Eliane.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente ao meu Deus por me permitir realizar esse sonho e ter me dado sabedoria e discernimento.

Aos meus queridos, meu pai minha mãe e minha irmã, que sempre acreditaram no meu potencial, e me incentivaram com muito carinho.

Agradeço a minha orientadora Professora Dra. Silvia Nietzsche pela oportunidade ter sido orientada por ela, que é uma excelente profissional, por todo seu incentivo, exemplo e apoio, o meu muito obrigado.

À minha coorientadora Professora Dra. Clívia por todos os ensinamentos.

À professora Claudineia por toda paciência e oportunidade de aprendizagem em cultura de tecidos, e por todo carinho.

À professora Elka por ser tão prestativa e ao conhecimento na área do paisagismo.

Ao professor Marlon Cristian Toledo Pereira, por todas as suas contribuições positivas neste trabalho, disposição e orientação o meu muito obrigado.

Ao meu grupo de oração Shalom, por todo apoio espiritual, em especial aos integrantes do grupo Santa Teresinha gratidão.

As minhas colegas de equipe por toda ajuda durante esse período Rosane, Maria, Bruna, Deborah, Sabrina, Ludimila, Mirella.

Aos meus amigos por todo carinho, Felipe Leal, Ludmilla Leal, Afrânio, Brayonn, Eduardo, Guilherme, Fábio, Alex, Fernanda, Rayane, Nicole, Ana e Dani.

A CAPES, pelo incentivo e concessão da bolsa;

Ao laboratório de biotecnologia, e a EPAMIG Janaúba pelo estágio e contribuições para meu engrandecimento pessoal.

À Universidade Federal de Minas Gerais/ Instituto de Ciências Agrárias e a todos os professores que contribuíram para minha formação acadêmica e pessoal.

Muito Obrigada!

“As flores do futuro dependem da semente que você planta hoje.”

(Provérbio Chinês)

Influência de fatores abióticos na viabilidade polínica em *Adenium obesum*

RESUMO

A rosa-do-deserto, *Adenium obesum* (Forssk.) Roem. & Schult, é originária da África mais precisamente da região Sul do Saara. Pertence à família Apocynaceae. O conhecimento sobre a biologia reprodutiva das espécies é fundamental nos estudos de botânica e na propagação sexuada. Os grãos de pólen são um dos componentes mais importantes, e a sua viabilidade é essencial na área o melhoramento genético para produção de novos recombinantes. Os estudos indicam uma possível autoincompatibilidade e baixas taxas de viabilidade dos grãos de pólen nessa espécie, fatores que dificultam a polinização natural e artificial. Objetivou-se avaliar a influência de fatores abióticos na viabilidade polínica de *A. obesum*. Foram implantados dois experimentos que foram conduzidos no laboratório de Biotecnologia do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais. Experimento 1 (Viabilidade polínica *in vitro* sob diferentes temperaturas e concentrações de sacarose): o delineamento experimental foi inteiramente casualizado em esquema fatorial 4 x 4, com quatro temperaturas de germinação (15, 20, 30, 35°C), quatro diferentes concentrações de sacarose no meio de cultivo (0%, 1%, 2%, 3%) e quatro repetições. As flores da rosa- do-deserto foram coletadas na antese e os grãos de pólen foram inoculados em lâminas juntamente com o meio de cultura. Foram acondicionadas em câmara do tipo B.O.D por seis horas, e em

seguida realizada a coloração com corante azul de toluidina. Experimento 2 (Efeito da temperatura no desenvolvimento e viabilidade dos grãos de pólen): o delineamento foi inteiramente casualizado com três temperaturas (20, 25 e 30°C) e três repetições. As plantas da rosa-do-deserto foram mantidas em três câmaras do tipo B.O.D para incubação sob as diferentes temperaturas, em fotoperíodo de dezesseis horas de luz. Foram avaliadas cinco flores na antese. Os grãos de pólen foram coletados, colocados em lâminas com uma gota do corante azul de anilina, uma gota de lugol, e fixados com uma gota de glicerina. Houve interação significativa entre os fatores temperatura e concentração de sacarose. A partir dos desdobramentos foi constatado que a maior porcentagem de grãos de pólen germinados *in vitro* viáveis foi de 39,81% na temperatura estimada de 26,05°C. Os acessos de rosa-do-deserto mantidos em B.O.D. sob temperatura de 30°C e fotoperíodo de 16 horas de luz apresentaram florescimento mais rápido e as temperaturas $\geq 25^\circ\text{C}$ indicaram porcentagens de viabilidade dos grãos de pólen acima de 69%.

Palavras-chave: Germinação. Rosa-do-deserto. Grãos de pólen. Sacarose. Temperatura.

Abiotic factors influence on polynic viability in *Adenium obesum*

ABSTRACT

The desert rose *Adenium obesum* (Forssk.) Roem. & Schult, that it is originated in Africa, more precisely in the Southern Sahara region belongs to the *Apocynaceae* family. The knowledge about the species reproductive biology is essential in studies of botany and in sexual propagation. Pollen grains are one of the most important components and their viability is essential in the genetic improvement area for the production of new recombinants. Studies indicate a possible self-incompatibility and low viability rates of pollen grains in this species and these are factors that hinder natural and artificial pollination. The objective of this study was to evaluate the influence of abiotic factors on the pollen viability of *A. obesum*. Two experiments were implemented and conducted in Biotechnology laboratory (CPCA / UFMG). Experiment 1 (Pollen viability *in vitro* under different temperatures and sucrose concentrations): the experimental design was in a 4 x 4 factorial scheme with four germination temperatures (15, 20, 30, 35°C), four different sucrose concentrations in the culture medium (0%, 10%, 20%, 30%) and four replications. The flowers of the desert rose were collected in the anthesis and the pollen grains were inoculated in slides together with the culture medium. They were stored in a B.O.D type chamber for six hours and then stained. Experiment 2 (Effect of temperature on the development and viability of pollen grains): the design was completely randomized with three treatments, different temperatures (20, 25 and 30°C) and five replications. The desert rose plants were kept in three B.O.D chambers for incubation under different temperatures (20, 25 and 30°C) in a sixteen-hour photoperiod of light. Five flowers were evaluated at anthesis. The pollen grains were collected, placed on slides with a drop of the toluidine blue dye, a drop of lugol, and fixed with a drop of glycerin. There was a significant interaction between the factor's temperature and sucrose concentration. The highest percentage of pollen grains germinated *in vitro* viable was observed (39.81%) at the estimated temperature of (26.05°C) and (25.70%) at the estimated sucrose concentration of (18%), presented quadratic behavior for all temperatures and concentrations tested. It is concluded that the significant interactions observed between temperature and sucrose concentrations indicate that both factors are

important in the pollen viability of *Adenium obesum*. The accessions of desert rose kept in B.O.D under a temperature of 30°C and a photoperiod of 16 hours of light showed faster flowering and temperatures \geq 25°C indicated percentages of pollen grains viability above 69%.

Keywords: Germination. Desert Rose. Pollen grains. Sacarose. Temperature.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

- Figura 1 – Planta de *Adenium obesum* evidenciando os primórdios florais, caracterizando o estágio de seleção dos acessos para acondicionamento em BOD sob diferentes temperaturas. Montes Claros, MG, 2020 36
- Figura 2 – Acessos de *Adenium obesum* acondicionadas em câmaras do tipo B.O.D sob diferentes temperaturas (A) 20oC, (B) 25oC e (C) 30oC, Montes Claros, MG, 2020 36
- Figura 3 – Corte longitudinal de uma flor de *Adenium obesum* em antese (A) e detalhe dos grãos de pólen aderidos nas anteras (B), Montes Claros, MG, 2020 37
- Figura 4 – Viabilidade dos grãos de pólen de *Adenium obesum* por meio do teste colorimétrico. A – grãos de pólen viáveis; B – grãos de pólen inviáveis 37
- Figura 5 – Superfície de resposta para a germinação in vitro de grãos de pólen de *Adenium obesum*, em função das concentrações de sacarose (0%, 1%, 2% e 3%) e temperaturas (15°, 20°, 25° e 30°C). Médias transformadas (logX+1). Montes Claros, MG, 2020 38
- Figura 6 – Germinação in vitro dos grãos de pólen de *Adenium obesum* em diferentes concentrações de sacarose: A – 0%; B – 1%; C – 2%; D – 3%. Montes Claros, MG, 2020 38

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 – Resumo da análise de variância para os dados de viabilidade dos grãos de pólen em diferentes temperaturas Montes Claros, MG, 2020 39

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12 2
OBJETIVOS	13
2.1 Objetivo Geral	13
2.2 Objetivos Específicos	13 3
REVISÃO DE LITERATURA	14
3.1 Importância econômica e social	14
3.2 Polinização e biologia reprodutiva	15
3.3 Desenvolvimento e viabilidade polínica.....	16
3.4 Referências	17
4 ARTIGO	21
4.1 ARTIGO 1 – Viabilidade Polínica em <i>Adenium obesum</i>	21
5 CONSIDERAÇÕES FINAIS	40

1 INTRODUÇÃO

A rosa-do-deserto, *Adenium obesum* (Forssk.) Roem. & Schult, é originária da África, mais precisamente do Sul do Saara, pertence à família Apocynaceae. No ambiente nativo a planta pode se encontrar em dormência, com evidência de perda de folhas, cenário em que as flores ganham destaque em virtude da beleza e coloração, em especial nas cores rosa, vermelho e branco (MCBRIDE *et al.*, 2012; COLOMBO, 2018). A rosa-do-deserto se destaca pelo valor ornamental, além do uso medicinal no controle de microrganismos (ADAMU *et al.*, 2005).

As plantas desse gênero caracterizam-se pela produção de quantidades variadas de seiva leitosa e são consideradas tolerantes a resistentes a climas áridos e semiáridos (MCLAUGHLIN; GAROFALO, 2002), e essa última característica é responsável pelo nome popular de *Adenium obesum* (HASTUTI; SETYONO, 2009). A rosa-do-deserto tem sido amplamente utilizada como ornamental por ser de fácil manutenção, ampla variabilidade dos arranjos florais se tornando atraente e a presença marcante da estrutura denominada caudex esculpido e base dilatada (ROWLEY, 1987).

O funcionamento de todo o sistema reprodutivo de uma planta pode variar em função das condições climáticas às quais é submetida (ESCOBAR *et al.*, 1986). Conhecer a biologia reprodutiva das espécies é primordial para a permanência e evolução (PRATHAMA, 2009), porém, esse sistema ainda é pouco compreendido em diversas espécies de plantas superiores (CHAN; LIM; SAW, 2011). A biologia floral pode ser entendida, portanto, como o estudo de todas as manifestações de vida da flor, incluindo a fertilização, combinando-se com a biologia reprodutiva e com a ecologia da polinização, resultando no entendimento de como a reprodução das plantas acontece (FAEGRI; PIJL, 1979).

Os grãos de pólen são um dos componentes mais importantes, e a sua viabilidade é essencial na área do melhoramento genético para produção de novos recombinantes. Os estudos sobre o grão de pólen são úteis para direcionar o melhor momento para realização de cruzamentos (SOARES *et al.*, 2011), conservação de recursos genéticos (CHAUDHURY *et al.*, 2010) e indicação de potencial de viabilidade (BREWBAKER, 1967). Em estudos realizados em *Adenium* indicam uma possível autoincompatibilidade e baixas taxas de viabilidade dos grãos de pólen nessa espécie, fatores que dificultam a polinização natural e artificial (ROWLEY, 1980; AVEKIN; Ramos,2020).

Diante dos relatos descritos acima, objetivou avaliar a influência de fatores abióticos na viabilidade do pólen de *A. obesum* avaliados através de métodos colorimétricos e de germinação *in vitro*.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Objetivou-se avaliar a influência de fatores abióticos na viabilidade polínica de *A. obesum*.

2.2 Objetivos Específicos

- Testar concentrações de sacarose e diferentes temperaturas na germinação *in vitro* de grãos de pólen de *Adenium obesum* coletados na antese;

– Identificar a melhor temperatura na viabilidade dos grãos de pólen de *Adenium obesum* na antese.

3 REVISÃO DE LITERATURA

3.1 Importância econômica e social

Ao se tratar de plantas ornamentais, deve-se considerar que existe ampla gama de espécies vegetais que compõem esse grupo. As diferentes espécies são adaptadas às diferentes condições climáticas e de solo, o que favorece a produção nas distintas regiões em todo o mundo. Além da diversidade existente, é conhecida a importância relacionada às flores que ao longo do tempo sempre tiveram ligação à história do homem, que determinou o cultivo dessas em escala comercial para algumas espécies. Flores e plantas ornamentais apresentam boa rentabilidade e podem ser cultivadas em pequenas extensões, sob condições controladas (NEVES *et al.*, 2015).

O Brasil teve indícios de origem com plantas ornamentais através de firmas habituais da fruticultura. Contudo, o desenvolvimento comercial foi registrado somente em 1950 e 1970 alcançou sua estabilidade trabalhista. Inicialmente os estados de Santa Catarina e São Paulo produziram em escala para mercados (JUNQUEIRA; PEETZ, 2008).

Recentemente o Brasil estima em torno de oito mil produtores de flores. São produzidas três mil variedades, entre essas 350 espécies cultivadas. No entanto o mercado de flores vem ganhando relevância pois movimenta e aquece a economia, gerando 199.100 empregos acessíveis, são (39,53%) que equivale 78.700 relacionado com a produtividade, 8.400 (4,22%) à distribuição, 105.500 (53%) no varejo e 6.500 (3,25%) a outros encargos. O rendimento do mercado de ornamentais em 2018 foi de R\$ 8,1 bilhões, com possibilidades de crescimento entre 8 e 10% ano, de acordo com Instituto Brasileiro de Floricultura (IBRAFLOR, 2020).

No estado de Minas Gerais, o cultivo de flores e plantas ornamentais compreende 645 hectares e em torno de 130 municípios. O faturamento calculado é de R\$169,3 milhões, em que 70% é obtidos do comércio de flores e folhagens de corte, 20% de ornamentais e 10% de plantas e flores. Em média são contabilizados 576 agricultores operando na produção em todo o estado. Há consolidação de pequenos produtores, com poucas associações e ausência de articulações específica para organização do setor (IBRAFLOR, 2020).

Adenium obesum, trata-se de uma planta ornamental inclusa na família *Apocynaceae*, habitualmente renomada como rosa-do-deserto considerada uma planta herbácea, suculenta, de aspecto escultural e floração exuberante e intensa. No entanto há informações que a espécie teve origem na África Oriental e comumente é cultivada em áreas húmidas tropicais (TALUKDAR, 2012).

Apesar de ser pouco conhecida mundialmente, a rosa-do-deserto apresenta alto potencial exploratório, bem como ótimas perspectivas quanto ao crescimento de cultivo, constituindo alternativa para pequenos e médios produtores rurais provenientes do semiárido e sem sistema de irrigação. Este fato está associado a anatomia do caule, que apresenta reservatório de água e nutrientes por períodos de estiagem e seca prolongada (MCLAUGHLIN; GAROFALO, 2002).

Nos últimos anos obteve-se maior abrangência da rosa-do-deserto por parte de floricultores e paisagistas brasileiros, em virtude do elevado valor ornamental. Contudo, ainda são escassos conhecimentos técnicos e agrônômicos para demanda comercial (SANTOS *et al.*, 2015).

A rosa-do-deserto vem ganhando importância pois mostra resultados satisfatórios relacionado a produção pois se trata de uma planta ornamental nova no mercado, no entanto é a quinta mais comercializada em todo o país, que vem crescendo a cada ano e aumenta a procura na área paisagista (IBRAFLOR, 2020).

3.2 Polinização e biologia reprodutiva

Adenium obesum pertence ao grupo das arbustivas, e plantas arbóreas. Essas apresentam raízes suculentas e caule engrossado na base, que é considerado adaptação e consiste em reservatório para água e nutrientes em regiões áridas (SANTOS *et al.*, 2015). É composta por folhas simples, dispostas em forma de espiral nas extremidades dos ramos, possui flores de diferentes formatos e cores, no entanto não possuem cheiro próprio. O fruto é proveniente de um único carpelo que se divide com finalidade de liberação de sementes com tufo peludo para melhor dispersão pelo vento (TALUKDAR, 2012).

Em relação aos frutos, estes são formados em pares logo após a fertilização e são divididos em folículos. Após o processo de maturação se abrem de forma longitudinal de modo que facilite a dispersão e que ocorra a liberação das sementes pelo vento. Contudo, algumas plantas não conseguem produzir sementes, em virtude do insucesso da polinização depende de aspectos como a falta de polinizadores, morfologia floral complexa e a própria fecundação.

A propagação sexuada é considerada relevante para o cultivo da rosa-do-deserto, sobretudo para os programas de melhoramento genético dessa categoria, isso se deve em razão da diversidade morfológica que é averiguada na linhagem decorrente de apenas um cruzamento, sendo uma boa escolha para fabricação de porta-enxertos (MCLAUGHLIN; GAROFALO, 2002; DIMMITT; JOSEPH; PALZKILL, 2009; COLOMBO *et al.*, 2018).

As flores são hermafroditas com uma grande diversidade na sua coloração. Mesmo contendo essas características não atraem muitos polinizadores nas flores, sendo mais eficaz a polinização cruzada. Os aparelhos reprodutivos que constitui a parte feminina da flor são compostos por estilete, ovário e estigma, e a parte masculina é constituída por estames que são constituídos pelo filete, grão de pólen e a antera (ROWLEY, 1980; BRAUM, 2008). Os cinco estames possuem forma de cone e anteras têm fendas voltadas para o interior desse cone. O ápice do cone, se assemelham as verdadeiras anteras. Quanto ao estigma, este se encontra escondido dentro do cone (DIMMITT; JOSEPH; PALZKILL, 2009).

As flores da rosa-do-deserto apresentam em geral cinco sépalas e cinco pétalas, possuem várias tonalidades, com inserção no tubo floral, sendo que o tubo de superfície interna pode ter cinco ou 15 linhas vermelhas, denominadas néctar guias. As flores podem apresentar as bordas avermelhadas a sua composição na cor rosa e interior amarelo, e a disposição destas em formato de sino (ROMAHN, 2012).

O florescimento em *Adenium obesum*, ocorre essencialmente na primavera, sendo verificada possibilidades de floração no verão e outono de acordo com a condução da planta. Isso pode ocorrer mais rapidamente em plantas derivadas de sementes com um ano de cultivo e com altura suficiente (MCLAUGHLIN; GAROFALO, 2002).

Em geral a rosa-do-deserto demonstra crescimento lento e vida prolongada, todavia podem permanecer por vários anos, sua propagação pode ser por sementes ou estaquia. Em regiões onde há invernos frios e secos deve ser feita a indução por um período de dormência, no entanto pode ocorrer a

perda de folhas. As sementes geralmente são descritas de cor marrom claro, ásperas e se dispõem em sistema para desmembramento, que é caracterizada como plumagem nas bases (MCLAUGHLIN; GAROFALO, 2002).

A propagação *in vitro* com plantas do gênero *Adenium* são desconhecidas, mas são informações que se tornam fundamentais pois permite produzir explantes com qualidade, já se sabe que sementes reproduzidas *in vitro*, não tem contaminação mas há pouca germinação (MACHADO JUNIOR; FERNANDES, 2018). Um dos indicadores do potencial embriogênico, é a indução de calos, que é a produção de vários tecidos oriundos de uma planta em condições assépticas, em estudos com o gênero se percebe uma suscetibilidade para regeneração e formação de calos com propriedades medicinais anti-inflamatório biologicamente ativo (LEE *et al.*, 2017).

3.3 Desenvolvimento e viabilidade polínica

O plantio e germinação das sementes constituem etapas fundamentais na produção de plantas e flores ornamentais. Compete aos agricultores o uso de mão-de-obra qualificada e tecnologias que tenham a capacidade de obter mudas de qualidade (CAMPANHARO *et al.*, 2006).

A rosa-do-deserto caracteriza-se por ser um gênero diversificado que não apresenta um inseto nativo que seja capaz de polinizar em condições de produção no Brasil, no entanto a formação de sementes ocorre por meio de polinização cruzada (COLOMBO *et al.*, 2018; PORTES, 2018).

A propagação de *A. obesum* é feita, sobretudo por sementes, já que as plantas oriundas de sementes possuem caudex e raízes primárias e principais superiores as que são providas de estacas (COLOMBO *et al.*, 2015). Em relação a polinização manual, esta é efetuada por meio da extração de uma ou duas pétalas da flor coletada, com a exibição das anteras. Posterior a isso, as anteras são retiradas e com auxílio da pinça é realizado o recolhimento dos grãos de pólen que é concedido para o estigma da flor destinada. Ao final de 90 dias de hibridação da flor, verifica-se a deiscência do folículo e em seguida pode ser feita a colheita das sementes para o plantio (COLOMBO *et al.*, 2018).

A microesporogênese é a formação de esporos primários no aparelho reprodutivo masculino de uma planta. Eles se diferenciam por meiose e ficam armazenados na parede interna da antera. O microsporócito que é a diferenciação do esporo primário, após a meiose, formam duas células haploides, que ficam unidas por uma parede do microsporócito, que se denomina grão de pólen (LORA *et al.*, 2009; SCOTT *et al.*, 2006; GBOL, 2020).

Os grãos de pólen de *Adenium*, possuem um volume interno considerável compacto a antera, se localizam na cabeça do estilete, quando se expandem liberam os grãos de pólen próximos da antese (GAYDARZHI, 2016; RAMOS, 2020).

Estudos indicam que algumas espécies do gênero *Adenium* apresentam um bom potencial polínico dias após antese, e uma possível autoincompatibilidade entre os indivíduos (ROWLEY 1980; AVEKIN; GAYDARZHI, 2016). As flores se encontram receptivas antes da antese, mas os melhores resultados de germinação foram obtidos no período de pós antese (RAMOS, 2020).

Dentre os fatores que podem afetar a performance dos grãos de pólen das espécies, a temperatura é apontada como um dos mais importantes interferindo na fertilidade (HEDHLY, 2011; PRASAD; BOOTE; ALLEN, 2011). Incrementos suaves da temperatura durante o crescimento e desenvolvimento dos tecidos

reprodutivos, podem acelerar ou atrasar o florescimento (BALASUBRAMANIAN *et al.*, 2006; TONSOR *et al.*, 2008), afetar a sincronia no desenvolvimento dos sistemas reprodutivos masculino e feminino (BARNABA'S; JAGER; FEHER, 2008; HEDHLY; HORMAZA; HERRERO, 2008) e originar defeitos nos gametas (MORRISON; STEWART, 2002). As temperaturas elevadas também podem afetar a quantidade de grão de pólen, sua morfologia, composição química e metabolismo (PRASAD *et al.*, 2002; KOTI *et al.*, 2005; ALONI *et al.*, 2001).

A estimativa da viabilidade do grão de pólen permite inferir sobre a capacidade de germinação e fecundação, sendo importante destacar que a variação da umidade e temperatura do ambiente, estágio de desenvolvimento da flor, coleta e condições de armazenamento do grão de pólen influenciam direta e indiretamente a sua viabilidade (STANLEY; LINSKENS, 1974). De acordo com Galetta (1983) a viabilidade polínica pode ser estimada por quatro principais métodos: germinação *in vitro*; métodos colorimétricos; germinação *in vivo* e porcentagem de frutificação efetiva, obtida com a utilização do pólen em teste.

A utilização de corantes para estimar a viabilidade polínica é o método mais rápido utilizado pelos pesquisadores (RODRIGUEZ-RIANO; DAFNI, 2000). Entretanto, o método de germinação *in vitro* é um dos métodos mais utilizados e difundidos na comunidade científica, devido a sua rapidez, eficiência, e pode apresentar alta correlação com o pegamento de frutos e sementes (DAFNI; FIRMAGE, 2000). O sucesso da germinação do grão de pólen *in vitro* é influenciado por alguns fatores como os constituintes do meio de cultura, o tempo de incubação e a temperatura (TAYLOR; HEPLER, 1997). Diferentes meios para a germinação de pólen *in vitro* têm sido relatados para várias espécies (TAYLOR; HEPLER, 1997), sendo utilizado principalmente o meio básico desenvolvido por Brewbaker e Kwack (1963).

3.4 Referências

- ADAMU, H. M.; ABAYEH, J. O.; AGHO, M. O.; ABDULLAHI, A. L. Um estudo etnobotânico de plantas herbáceas do estado de Bauchi e sua atividade antimicrobiana. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 99, p.1-4, 2005.
- ALONI, B.; PEET, M.; PHARR, M.; KARNI, L. The effect of high temperature and high atmospheric CO₂ on carbohydrate changes in bell pepper (*Capsicum annuum*) pollen in relation to its germination. **Physiologia Plantarum**, v. 112, p. 505-512, 2001.
- AVEKIN, J. V.; GAYDARZHI, M. M. ГЕНЕРАТИВНЕ РОЗМНОЖЕННЯ ADENIUM OBESUM (FORSSK.) ROEM. & SCHULT. В УМОВАХ ІНТРОДУКЦІЇ. **Інтродукція рослин**, n. 3, p. 57-63, 2016.
- BALASUBRAMANIAN S.; SURESHKUMAR S.; LEMPE J.; WEIGEL D. Potent induction of Arabidopsis thaliana flowering by elevated growth temperature. **Plos Genetics**, v. 2, p. 980-989, 2006.
- BARNABA'S, B.; JAGER, K.; FEHER, A. The effect of drought and heat stress on reproductive processes in cereals. **Plant, Cell and Environment**, v. 31, p. 11-38, 2008.
- BRAUM, A. F. **Morfologia, Anatomia e Imunocitoquímica da interação pólene estigma em duas espécies de Passiflora (Passifloraceae)**. 2008. 117f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008.
- BREWBAKER, J. L.; KWACK, B. H. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. **American Journal of Botany**, v. 50, n. 9, p. 859-865, 1963.
- BREWBAKER, J. L. The distribution and phylogenetic significance of binucleate and trinucleate pollen grains in the angiosperms. **American Journal of Botany**, v. 54, n. 9, p. 1069-1083, 1967.

- CAMPANHARO, M.; RODRIGUES, J. J. V.; LIRA JÚNIOR, E.; COSTA, M. C. Características físicas de diferentes substratos para produção de mudas de tomateiro. **Revista Caatinga**, v. 19, n. 2, p.140-145, 2006.
- CHAN, Y. M.; LIM, A. L.; SAW, L. G. Reproductive biology of the endangered and endemic palm *Johannesteijsmannia lanceolata* (Arecaceae). **Journal of Tropical Forest Science**, p. 213-221, 2011.
- CHAUDHURY, R.; MALIK, S. K.; RAJAN, S. An improved pollen collection and cryopreservation method for highly recalcitrant tropical fruit species of mango (*Mangifera indica* L.) and litchi (*Litchi chinensis* Sonn.). **CryoLetters**, v. 31, p. 268-278, 2010.
- COLOMBO, R. C.; CRUZ, M. A.; CARVALHO, D. U.; HOSHINO, R. T.; ALVES, G. A. C.; FARIA, R. T. *Adenium obesum* as a new potter flower: growth management. **Ornamental Horticulture**, v. 24, n. 3, p. 197-205, 2018.
- COLOMBO, R.C.; FAVETTA, V.; YAMAMOTO, L.Y.; ALVES, G.A.C.; ABATI, J.; TAKAHASHI, L.S.A.; FARIA, R.T. Biometric description of fruits and seeds, germination and imbibition pattern of desert rose [*Adenium obesum* (Forssk.), Roem. & Schult.]. **Journal of Seed Science**, v. 37, n. 4, p. 206-213, 2015.
- DAFNI, A.; FIRMAGE, D. Pollen viability and longevity: practical, ecological and evolutionary implications. **Plant Systematics and Evolution**, v. 222, n. 1-4, p. 113-132, 2000.
- DIMMITT, M.; JOSEPH, G.; PALZKILL, D. *Adenium*: Sculptural Elegance, Floral Extravagance. **Tucson: Scathingly Brilliant Idea**, 2009. 152p.
- ESCOBAR, W.; ZÁRATE, R. D.; BASTIDAS, A. Biología floral y polinización artificial del guanábano *Annona muricata* L. en condiciones del valle del Cauca, Colombia. **Acta agrônômica**, v. 36, n. 1, p. 7-20, 1986.
- ESTRADA-LUNA, A. A.; HUANCA-MAMAMI, W.; ACOSTA-GARCÍA, G.; LEÓN-MARTÍNEZ, G.; BECERRA-FLORA, A.; PÉREZ-RUIZ, R.; VIELLE-CALZADA, Ph. Beyond promiscuity: from sexuality to apomixis in flowering plants. **In Vitro Cellular & Developmental Biology – Plant**, v. 38, p. 146-151, 2002.
- FAEGRI, K.; VAN DER PIJL, L. **The Principles of Pollination Ecology**. Oxford: Pergamon Press, 1979. 244p
- FREITAS, L. L. **Efeito da temperatura sobre a germinação *in vitro* de grãos de pólen em dois genótipos de mamoeiro (*Carica papaya* L.)**. 2013. 69f. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes, 2013.
- GALLETA, G. J. Pollen and seed management. *In*: MOORE, J. N.; JANICK, J. **Methods in fruits breeding**. Indiana: Purdue University Press. 1983, p. 23-47.
- GBOL. **Programa GBOL** [Genética Básica on Line]. 2020. Disponível em: <http://arquivo.ufv.br/dbg/gbol/gbol.htm>. Acesso em: 1 set. 2020.
- HASTUTI, D.; SURANTO; SETYONO, P. Variation of morphology, karyotype and protein band pattern of *Adenium (Adenium obesum)* varieties. **NusantaraBioscience**, 2009, vol. 1, n. 2, p. 78-83.
- HEDHLY, A. Sensitivity of flowering plant gametophytes to temperature fluctuations. **Environmental and Experimental Botany**, v. 74, n. 1, p. 9-16, 2011.
- HEDHLY, A.; HORMAZA, J. I.; HERRERO, M. Global warming and plant sexual reproduction. **Trends in Plant Science**, v. 14, p. 30-36, 2008.
- INSTITUTO BRASILEIRO DE FLORICULTURA – IBRAFLO. **O mercado de flores no Brasil**. 2020.

Disponível em: https://354d6537-ca5e-4df4-8c1b-3fa4f2dbe678.filesusr.com/ugd/875639_f02d8909d93a4f249b8465f7fc0929b4.pdf. Acesso em: 15 ago. 2020.

JUNQUEIRA, A. H.; PEETZ, M. S. Mercado interno para os produtos da floricultura brasileira: características, tendências e importância socioeconômica recente. **Revista Brasileira de Horticultura Ornamental**, v. 14, n. 1, p. 37-52, 2008.

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, n. 1, p. 59-67, 2005.

KOTI, S.; REDDY, K. R.; REDDY, V. R.; KAKANI, V. G.; ZHAO, D. Interactive effects of carbon dioxide, temperature, and ultraviolet-B radiation on soybean (*Glycine max* L.) flower and pollen morphology, pollen production, germination, and tube lengths. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, p. 725-736, 2005.

LEE, Y.D; MIN, W.J; JOO, S.G; KANG, C.H. Callus Induction and Increase in Anti-Inflammatory Activity by Treatment of Methyl Jasmonate in *Adenium obesum*. **Life Science Research Institute, GFC Co., Ltd., 17095 Yongin, Korea, 2017.**

LORA, J.; TESTILLANO, P. S.; RISUEÑO, M. C., HORMAZA, J. I., HERRERO, M. Pollen development in *Annona cherimola* Mill. (Annonaceae). Implications for the evolution of aggregated pollen. **BMC Plant Biology**, v. 9, p. 129-139, 2009.

MACHADO JUNIOR, G.R; FERNANDES, A.D. Assepsia e germinação in vitro de *adenium obesum*. **Revista Eletrônica Univag**, n.18, 2018.

MCBRIDE, K.; HENNY, R. J.; CHEN, J.; MELLICH, T. A. Effect of light intensity and nutrition level on growth and flowering of *Adenium obesum* 'Red' and 'Ice Pink'. **HortScience**, Alexandria, v. 49, n. 4, p. 430-433, 2014.

MCLAUGHLIN, J.; GAROFALO, J. O. E. The Desert Rose, *Adenium obesum*: nursery production. **University of Florida**, 2002.

MORRISON, M. J.; STEWART, D. W. Heat stress during flowering in summer Brassica. **Crop Science**, v. 42, p. 797-803, 2002.

NEVES, M. F.; PINTO, M. J. A.; LIMA JÚNIOR, J. C.; NAKATANI, J. K.; MONACO NETO, L. C.; LIMA, L. A. C. V.; KALAKI, R. B.; CAMARGO, R. B. Mapeamento e quantificação da cadeia de flores e plantas ornamentais do Brasil. **Journal of agronomic sciences**, v. 7, São Paulo: OCESP, 2015.

PEÇANHA, S.; CARDOSO, S. A.; OLIVEIRA E SILVA, G. F. Efeito de diferentes substratos na germinação e crescimento de *Adenium obesum* – Apocynaceae (rosa-do-deserto). **Vita et Sanitas**, v. 14, n. 1, p. 54-65, 2020.

PONTES, F. S. S. Principais pragas e nível tecnológico do seu manejo na floricultura cearense: um estudo de caso para a cultura da roseira. 2007. 82f. **Dissertação** (Mestrado em Agronomia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 2007.

PORTES, R. G. R. Curva de embebição e interferência da luz na germinação de sementes de rosa-do-deserto (*Adenium obesum* (Forssk), Roem. & Schult.). **South American Journal of Basic Education, Technical and Technological**, v. 5, n. 1, p. 9-19, 2018.

PRASAD, P. V. V.; BOOTE, K. J.; ALLEN JR, L. H.; THOMAS, J. M. G. Effects of elevated temperature and carbon dioxide on seed-set and yield of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Glob. Change Biol**, v.8, p.710-721, 2002.

- PRASAD, P. V. V.; BOOTE, K. J.; ALLEN, J. R., 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, n. 1, p. 51-57, 2011.
- PRATHAMA, M. **Fenologi dan biologi pembungaan *Adenium Obesum***. 2009. 60 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Agronomia) – Fakultas Pertanian Institut Pertanian Bogor, 2009.
- RAMOS, B. M. S. **Biologia floral de *Adenium obesum***. 2020. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2020.
- RODRIGUEZ-RIANO, T; DAFNI, A. A new procedure to asses pollen viability. **Sexual Plant Reproduction**, v. 12, n. 4, p. 241-244, 2000.
- ROMAHN, V. **Enciclopédia ilustrada das plantas & flores: suculentas, samambaias e aquáticas**. São Paulo: Europa, 2012.
- ROWLEY, G. D. The pollination mechanism of *Adenium (Apocynaceae)*. **The National Cactus and Succulent Journal**, v. 35, n. 1, p. 2-5, 1980.
- SAKHANOKHO, H. F.; RAJASEKARAN, K. Pollen biology of ornamental ginger (*Hedychium* spp. J. Koenig). **Scientia Horticulturae**, v. 125, n. 2, p. 129-135, 2010.
- SALEM, M. A.; KAKANI, V. G.; REDDY, K. R. Temperature effects on *in vitro* pollen germination and pollen tube growth of soybean genotypes. **Annual Meetings of the Southern Branch of the American Society of Agronomy**, p. 27-29, 2004.
- SANTOS, M. M.; COSTA, R. B.; CUNHA, P. P.; SELEGUINI, A. Tecnologias para produção de mudas de rosa do deserto (*Adenium obesum*). **Multi-Science Journal**, v. 1, n. 3, p. 79-82, 2015.
- SCOTT, R. J.; SPIELMAN, M., DICKINSON, H. G. Stamen development: primordium to pollen. **In The molecular biology and biotechnology of flowering**, 2nd ed. [s. l.]: [s.n.], 2006. p. 298-331. [CAB International].
- SOARES, T. L.; JESUS, O. N.; SOUZA, E. H.; OLIVEIRA, E. J. Reproductive biology and pollen–pistil interactions in *Passiflora* species with ornamental potential. **Scientia Horticulturae**, v. 197, p. 339-349, 2015.
- SOARES, T. L.; SOUZA, E. H. D.; ROSSI, M. L.; SOUZA, F. V. D. Morfologia e viabilidade de grãos de pólen de acessos silvestres de abacaxi. **Ciência Rural**, v. 41, n. 10, p. 1744-1749, 2011.
- STANLEY, R. G.; LINSKENS, H. F. **Pollen: biology, Biochemistry management**. New York: [Springer], 1974. 172p.
- TALUKDAR, T. Development of NaCl-tolerant line in an endangered ornamental, *Adenium multiflorum* Kklotzsch through in vitro selection. **International Journal of Recent Scientific Research**, v. 3, n. 10, p. 812-821, 2012.
- TAYLOR, L. P.; HEPLER, P. K. Pollen germination and tube growth. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 48, p. 461-91, 1997.
- TONSOR, S. J.; SCOTT, C.; BOUMAZA I.; LISS, T. R.; BRODSKY, J. L.; VIERLING, E. Heat shock protein 101 effects in *A. thaliana*: genetic variation, fitness and pleiotropy in controlled temperature conditions. **Molecular Ecology**, v. 17, p. 1614-1626, 2008.

4 ARTIGO

4.1 ARTIGO 1 – Viabilidade Polínica em *Adenium obesum*

Este artigo foi elaborado conforme as normas da revista Ornamental Horticulture: Revista Brasileira de Horticultura Ornamental.

Viabilidade Polínica em *Adenium obesum*

Cristiane Gonçalves Souza¹, Silvia Nietsche¹, Clivia Carolina Fiorilo Possobom¹

¹Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, MG, Brasil

Resumo

Objetivou-se com o presente estudo: (1) Testar concentrações de sacarose e temperaturas na germinação *in vitro* de grãos de pólen de *Adenium obesum* e; (2) identificar o efeito da temperatura na viabilidade de grãos de pólen de *Adenium obesum*. Foram realizados dois experimentos e utilizados acessos de *A. obesum* com 18 meses de idade cultivados em vasos em viveiro. Em ambos experimentos as flores dos acessos foram coletadas manualmente no dia da antese. No primeiro experimento, para o teste de germinação *in vitro* os grãos de pólen foram extraídos e inoculados em lâminas de vidro com 150µL do meio de cultura padrão com variações nas concentrações de sacarose (0%, 1%, 2% e 3%) e incubados sob diferentes temperaturas (15°, 20°, 25° e 30°C). Utilizou-se delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições. No segundo experimento, acessos de *A. obesum* no início do desenvolvimento do primórdio floral foram selecionadas em viveiro e acondicionadas em câmara B.O.D. sob diferentes temperaturas (20°, 25° e 30°C) e fotoperíodo de 16 horas de luz, com delineamento inteiramente casualizado e três repetições. A viabilidade dos grãos foi realizada por meio do teste colorimétrico. Interação significativa entre temperaturas e concentrações de sacarose foi observada no teste de germinação *in vitro*. A maior porcentagem de germinação *in vitro* dos grãos de pólen foi observada (39,81%) na temperatura estimada de 26,05°C. Os acessos de rosa-do-deserto mantidos em B.O.D. sob temperatura de 30°C e fotoperíodo de 16 horas de luz apresentaram florescimento mais rápido e as temperaturas $\geq 25^\circ\text{C}$ indicaram porcentagens de viabilidade dos grãos de pólen acima de 69%.

Palavras-chave: antese, rosa-do-deserto, grãos de pólen, sacarose, temperatura.

Abstract

Pollen Viability in *Adenium obesum*

The aim of this study was: (1) to test sucrose concentrations and temperatures in the *in vitro* germination of *Adenium obesum* pollen grains and; (2) to identify the effect of air temperature on the viability of *Adenium obesum* pollen grains collected in anthesis. In the experiments conducted in the present work, accessions of *A. obesum* (18 months old) grown in pots in a nursery were

selected. In the *in vitro* germination and viability tests, the accession flowers were collected manually on the anthesis day. For the *in vitro* germination test, pollen grains were extracted and inoculated in glass slides with 150 μ L of the standard culture medium with variations in sucrose concentrations (0%, 10%, 20% and 30%) and incubated under different temperatures controlled (15°, 20°, 25° and 30°C). The data were submitted to variance analysis. In the second experiment, accessions of *A. obesum* at the beginning of the development of the floral primordium were selected in a nursery and stored in a B.O.D. under different temperatures (20°, 25° and 30°C) and a photoperiod of 16 hours of light. The pollen grains viability was accomplished through the colorimetric test. Significant interaction between temperatures and sucrose concentrations was observed in the *in vitro* germination test. The highest percentage of *in vitro* pollen grains germination was observed (39.81%) at the estimated temperature of 26.05°C. Desert rose accessions maintained in B.O.D. under a temperature of 30 ° C and a photoperiod of 16 hours of light, they flowered faster and temperatures $\geq 25^\circ\text{C}$ indicated percentages of pollen grains viability above 69%.

Keywords: anthesis, desert rose, pollen grains, sacarose, temperature.

INTRODUÇÃO

A espécie *Adenium obesum* (Forssk.) Roem. & Schult, conhecida comumente como rosado-deserto caracteriza-se por ser ramificada, com caule curto que atua como reserva, vem ganhando relevância como ornamental devido à alguns aspectos botânicos e fisiológicos, diversidade de cores nas pétalas e disposições florais, resistência ao estresse hídrico, excelente adaptação em ambientes de pleno sol e por fim, o fato de ser uma planta perene. Pertence à família Apocynaceae, e relatos indicam que a sua origem foi na África, mais precisamente do Sul do Saara (Brown, 2012; Oyen, 2008; Lorenzi, 2015 ; Wannakrairoj, 2008; McBride *et al.*, 2014).

É de fundamental importância a multiplicação da rosa do deserto por semente devido suas características morfológicas e genéticas, tais como caudex e coloração das flores, apreciadas por colecionadores (Colombo *et al.*, 2018).

As flores do gênero têm uma complexa morfologia floral, pode ser de formato redondo ou estrela, a corola tem aspecto de funil, ovário superior, estiletos reunidos, estames com filetes fortes e pequenos, longas anteras que se encontra dentro de um cone em cima do estigma (Rowley, 1980).

O pólen fica armazenado na base das anteras e o estigma fica encoberto por este, as flores são hermafroditas com diferentes cores. Elas podem ficar abertas de três a trinta e dois dias e não exalam perfume. São bissexuais actinomórficas, com parte feminina composta por estilete, estigma e ovário, e a masculina por filete, antera e pólen. Reproduzem-se através de alogamia, ou seja, reprodução cruzada, pois há uma possível autoincompatibilidade entre o gênero, dificultando a autopolinização das flores. A polinização natural é feita por polinizadores com apêndice alongado que se localiza na cabeça de algumas espécies, o que dificulta pois não se encontra no nosso território, todavia se faz necessário a polinização artificial para produção de sementes (Brown, 2012; Rowley 1980; Ramos, 2020).

O grão de pólen é de grande importância na reprodução sexuada, pois permite que o tubo polínico leve o gameta masculino até o gameta feminino. O formato pode ser elíptico ou esférico e o diâmetro, variam de 0,01 a 0,1mm. É produzido no microsporângio, formado por duas células haploides e uma película protetora. Uma célula se dividiu e formará dois gametas masculinos e a outra célula vegetativa vai dar origem ao tubo polínico (Bennett e Willis, 2002; Santos, 2020).

Foi constatado em estudos que a fertilidade do pólen da espécie *Adenium obesum* é de 70% a 90% do primeiro ao terceiro dia após antese (Avekin e Gaydarzhi, 2016). Entretanto, dados sobre a viabilidade dos grãos de pólen na antese são desconhecidos, apesar de relatos de produtores acerca da eficiência da fertilização por meio do uso dos grãos de pólen coletados no dia da abertura das flores.

As mudanças no clima, tais como aquecimento global, chuvas, geadas e a própria sazonalidade climática influenciam na produção agrícola, principalmente na produção de ornamentais pois são sensíveis a alterações no clima. A temperatura é o fator abiótico que mais altera o aspecto reprodutivo das flores. Em temperaturas mínimas inferiores a 15°C compromete a

viabilidade do pólen, e o máximo ou superior a 30°C de temperatura pode influenciar o processo de desenvolvimento dos grãos de pólen, ou seja interfere em todo o dinamismo de formação (Stainforth *et al.*, 2005; Young *et al.*, 2004).

Em temperaturas de 30° a 40°C tendem a encurtar algumas fases de desenvolvimento das plantas, tais como a fase reprodutiva. Assim, a quantidade e a morfologia do pólen, deiscência das anteras e arquitetura da parede do pólen, bem como a composição química e metabolismo de pólen demonstraram ser influenciados por essas temperaturas elevadas (Prasad *et al.*, 2002; Koti *et al.*, 2005; Aloni *et al.*, 2001). Embora a rosa-do-deserto seja de origem de regiões desérticas, não existem relatos científicos sobre a influência da temperatura na viabilidade polínica.

O presente estudo objetivou avaliar a influência de fatores abióticos na viabilidade dos grãos de pólen de *A. obesum* através de métodos colorimétricos e de germinação *in vitro*.

MATERIAL E MÉTODOS

Área experimental e Material genético

A partir do banco de germoplasma de rosa do deserto localizado na UFMG/Montes ClarosMG, foram selecionadas plantas pertencentes a dois acessos conforme descrição, denominados:

(a) ICA-bd, acesso com flores de cor branca e disposição das pétalas em arranjo duplo; e (b) ICA-vt, acesso com flores de cor vermelha e arranjo de pétalas triplo. Seis plantas de cada acesso com 18 meses de idade e duas florações finalizadas foram selecionadas (Ramos, 2020).

Os experimentos foram conduzidos em laboratório e as plantas em casa-de-vegetação com tela antiafídio e 20% de sombreamento, localizada na Universidade Federal de Minas Gerais UFMG, Campus Montes Claros-MG, no período de março a agosto de 2020. O município de Montes Claros se encontra em região semiárida no norte de Minas Gerais, localizada com as seguintes coordenadas geográficas (Latitude = 16°43'13"S, Longitude = 43°52'52"O, altitude

média de 638mm). O clima é considerado tropical de savana (Aw), segundo Koppen, com precipitação média anual superior a 1060 mm, com inverno seco e verão chuvoso (INMET, 2017).

Os acessos utilizados estavam acondicionados em vasos de plásticos (4 L) e 17 cm de diâmetro, contendo substrato comercial da marca Bioplant[®] sob cultivo em casa-de-vegetação. Os seguintes tratamentos culturais foram conduzidos ao longo do experimento conforme orientação de Ramos (2020); (1) irrigação semanal de 500mL de água por vaso e (2) adubação semanal realizada por vaso pela aplicação manual de 200mL do produto Fort flores[®], na dosagem de 10 g do produto comercial diluída em 2 litros de água.

Contudo essas plantas foram utilizadas para a condução dos dois experimentos descritos a seguir.

Experimento 1: Viabilidade polínica em flores submetidas a diferentes temperaturas durante o desenvolvimento

As plantas de *Adenium obesum* que apresentavam o início do desenvolvimento do primórdio floral (Figura 1) foram selecionadas e acondicionadas duas plantas para cada câmara, foram utilizadas três câmaras do tipo B.O.D (Limatec[®]) com temperaturas controladas de 20°C, 25°C e 30°C e 16h de fotoperíodo (Figura 2).

A partir da floração plena foram coletadas as flores no primeiro dia da antese e a extração dos grãos de pólen foi realizada conforme metodologia proposta (Acar e Kakani, 2010; Dafni e Firmage, 2000), porém com a adição de uma gota do corante azul de anilina. As lâminas foram fixadas com uma gota de glicerina, e logo após foram visualizadas em microscópio (Binocular, LED digilab[®]) de campo claro com objetiva de baixa magnitude (16x) (Zambon *et al.*, 2014).

Cada lâmina foi dividida em quatro quadrantes e foram contados 100 grãos de pólen por quadrante. Foram considerados viáveis os grãos de pólen que se apresentaram coloridos de azul

(Figura 4). O percentual de viabilidade foi obtido pela razão entre os grãos viáveis e o total de grãos avaliados na lâmina.

Foi utilizado delineamento experimental inteiramente casualizado (DIC) com três tratamentos (20, 25 e 30°C) e três repetições. Cada parcela experimental foi composta por uma lâmina contendo pelo menos 400 grãos de pólen.

Os dados avaliados foram submetidos à análise de variância, e quando significativo pelo teste F, as médias foram comparadas entre si pelo teste de Tukey, a 5% de significância.

Experimento 2: Germinação *in vitro* dos grãos de pólen em concentrações de sacarose e diferentes temperaturas

Para realização dos testes de germinação *in vitro*, as flores dos acessos selecionados foram coletadas manualmente no dia da antese às 08:00 horas da manhã.

Em câmara de fluxo laminar foi realizada a extração dos grãos de pólen das anteras com auxílio de uma agulha (0,45 x 13 mm da marca TKL), e logo em seguida foram inoculados no centro de uma lâmina de vidro, contendo 150µL do meio de cultura padrão: 1,27mM de $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$, 0,87mM de $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, 0,99mM de KNO_3 , 1,62mM H_3BO e diferentes concentrações de sacarose (0, 10, 20 e 30 $\text{g}\cdot\text{L}^{-1}$), em pH 7,0 (Brewbaker e Kwack, 1963).

Após a inoculação, as lâminas foram acondicionadas em placas de Petri com papel filtro humedecido, formando uma câmara húmida, e em seguida mantidas em incubador do tipo BOD com temperaturas controladas de 15°, 20°, 25° e 30°C. Seis horas após a incubação foi adicionado uma gota do corante azul de toluidina e a contagem dos grãos de pólen germinados foi realizada sob microscópio Binocular, LED digilab® de campo claro com objetiva de baixa magnitude (16x). Cada lâmina foi dividida em quatro quadrantes e foram contados 100 grãos de pólen por quadrante. O percentual de germinação *in vitro* dos grãos de pólen foi estimado pela relação entre o número de grãos de pólen germinados em relação ao número total de grãos de pólen contados em cada

lâmina. Foram considerados viáveis os grãos de pólen que apresentaram tubo polínico com o comprimento igual ou superior ao diâmetro do grão de pólen (Acar e Kakani, 2010; Dafni e Firmage, 2000).

O delineamento experimental inteiramente casualizado foi em esquema fatorial 4 x 4, sendo testadas quatro temperaturas de incubação (15, 20, 30 e 35°C), quatro concentrações de sacarose (0%, 1%, 2% e 3%), e quatro repetições. Cada parcela experimental foi composta por uma lâmina contendo pelo menos 400 grãos de pólen.

Os dados foram submetidos a análise de variância, e assim foi possível calcular estatisticamente alguns preceitos importantes. Os valores quando o teste “F” foi significativo, ou seja, maior que F tabelado, foram analisados e gerado um gráfico de superfície resposta em função das variáveis independentes (doses de sacarose e temperaturas), determinando quais seriam as condições favoráveis para cada uma das variáveis, por meio do programa R *studio*.

Os dados de porcentagem de germinação dos grãos de pólen foram transformados, por meio da transformação logarítmica ($\text{Log } X+1$) para obter a normalidade do conjunto de dados.

RESULTADOS

Experimento 1: Viabilidade polínica em flores submetidas a diferentes temperaturas durante o desenvolvimento

De maneira geral, os acessos de rosa-do-deserto mantidas em BOD na temperatura de 30°C e fotoperíodo de 16 horas de luz se desenvolveram mais rápido. Da emissão do botão floral até antese levaram em média 15 dias para atingir a antese. Na temperatura de 25°C levaram em média 22 dias para o seu desenvolvimento, e na temperatura de 20°C atingiram a antese com 28 dias. Também foi possível observar que nas temperaturas de 20 e 25°C, as plantas apresentaram abortamento floral e amarelecimento de folhas.

A análise de variância indicou diferença significativa a nível de probabilidade de 5% da viabilidade polínica da rosa-do-deserto entre as temperaturas (Tabela 1). Observou-se que a viabilidade dos grãos de pólen apresentou médias superiores a 69% nas temperaturas de 25 e 30°C e foram significativamente superiores quando comparado à temperatura de 20°C (Tabela 1).

Experimento 2: Germinação *in vitro* dos grãos de pólen em concentrações de sacarose e diferentes temperaturas

De acordo com a análise de variância houve interação significativa ($p < 0,05$) entre as temperaturas e as concentrações de sacarose para a característica de germinação *in vitro* dos grãos de pólen de *Adenium obesum*.

Obteve-se um aumento da germinação *in vitro* em condições de temperatura e concentração de sacarose favoráveis, demonstrando crescimento linear, nos demais o crescimento ocorreu de forma quadrática (Figura 5). Houve um incremento da germinação *in vitro*, com incremento da temperatura e concentração ideais atingindo seu valor máximo de 39,81% germinação, depois houve uma queda atingindo seu valor mínimo de 16,60% germinação (Figuras 5 e 6).

DISCUSSÃO

A germinação *in vitro* é um método seguro e adequado para testar a viabilidade de grãos de pólen, sendo, portanto, o mais utilizado (Almeida *et al.*, 2002). E o conhecimento deste importante caractere se torna crucial para conhecer aspectos de fertilidade e melhorar as práticas de hibridação artificial para produção das populações segregantes em programas de melhoramento (Soares *et al.*, 2018). No entanto, fatores abióticos como a temperatura (alta ou baixa) e alguns fatores

nutricionais, podem ocasionar a diminuição ou aceleração da reação das enzimas pertencentes aos grãos de pólen (Taiz e Zeiger, 2013).

No presente estudo foi observada interação entre dois fatores abióticos: temperatura e concentração de sacarose na germinação *in vitro* dos grãos de pólen da rosa-do-deserto coletados na antese. Os resultados indicaram que a germinação *in vitro* dos grãos de pólen coletados no momento da antese de *Adenium obesum* respondeu positivamente aos efeitos de temperatura em uma faixa entre 20° e 30°C com variações amplas em função da concentração de sacarose. Taylor e Hepler (1997), Zhang *et al.* (2003) destacaram em seu estudo que fatores como temperatura, o tempo de incubação e componentes do meio de cultura, influenciam diretamente a germinação de pólen *in vitro*, pois dependendo da quantidade de sacarose ou de micronutrientes podem impedir o tubo polínico de se desenvolver ou romper a película ou desnaturar o grão de pólen tornando o inviável, o que dificulta a disseminação de espécies como frutíferas e ornamentais.

García *et al.* (2012), nos relata que a sacarose é uma fonte fundamental de energia para a germinação do pólen, induzindo o crescimento do tubo polínico e sintetiza células novas. Nossos resultados indicaram que mesmo na ausência de sacarose foi observada germinação *in vitro* dos grãos de pólen superior a 30%. Esse resultado pode ser explicado em função do genótipo dos acessos, e em função de outros componentes do meio de cultura. O meio de cultura padrão desenvolvido por Brewbaker e Kwack (1963), Galletta (1983) além da fonte de carbono, possui em sua composição um micronutriente essencial associado a germinação dos grãos de pólen, o boro. No entanto uma fonte de carbono ou de boro se torna suficiente para a germinação do pólen, não sendo essencial outros nutrientes, o boro induz o crescimento do tubo polínico.

Recentemente, um estudo realizado em *Adenium obesum* indicou que grãos de pólen coletados em pré-antese apresentaram a maior porcentagem de germinação *in vitro*, em condições de meio de cultivo contendo 1 % de sacarose e uma temperatura entre 25° a 30°C (Ramos, 2020).

Adenium obesum é típico de regiões áridas e semiáridas, se desenvolve bem em condições de exposição à luz e as flores do gênero geralmente têm antese pela manhã, horário onde são observadas temperaturas mais amenas (Braun, 2008; Ramos, 2020). Eventualmente as rosas-dodeserto não se adaptam ao frio, mostrando sensibilidade em baixas temperaturas. Seu metabolismo fica muito lento e dormente, podendo ocasionar folhas amarelas e perdas dessa, além de abortamento floral (Braga, 2017).

Todavia, a temperatura alta influencia diretamente a vitalidade do pólen antes da antese, podendo causar efeitos negativos tais como acúmulo de amido, desnaturação, rompimento da parede celular, alterações na composição química. Assim como uma temperatura baixa, altera o metabolismo, e ocasiona a esterilidade, no entanto é fundamental se saber a temperatura ideal, visto que as oscilações da sazonalidade climática podem dificultar a produção de sementes (Rodrigues, 2017).

No entanto, alguns autores descrevem essa relação de importância entre a temperatura e a viabilidade do pólen em algumas espécies, rosa-do-deserto (Akevin, 2016), babaçu (Araújo *et al.*, 2017), mamoeiro (Moura *et al.*, 2010), milho (Davide *et al.*, 2009).

No presente estudo ficou evidente que temperaturas de 20°C em um fotoperíodo de 16 horas de luz afetaram consideravelmente a viabilidade polínica, atrasou o desenvolvimento das flores, levando em média 28 dias do estágio de primórdio floral até a antese e causou um amarelecimento das folhas e maior abortamento floral. Segundo Kakani *et al.* (2005), a temperatura é um dos fatores mais importantes pois é o que mais influencia o desenvolvimento das plantas. Altas ou baixas temperaturas têm vários efeitos importantes sobre tecidos reprodutivos e os principais fenômenos observados são florescimento rápido ou tardio (Tonsor *et al.*, 2008), assincronia no desenvolvimento do sistema reprodutivo masculino e feminino (Hedhly; Hormaza; Herrero, 2008) e defeitos nos gametas masculinos e femininos (Takeoka *et al.*, 1991, Morrison e Stewart, 2002).

Em contrapartida, a temperatura ambiente de 30°C em fotoperíodo de 16 horas de luz proporcionou uma grande viabilidade dos grãos de pólen, acelerou o desenvolvimento floral e menor número de abortamentos florais foram observados. McLaughlin e Garofalo (2002), Avezkin (2016), também relatou em seu estudo que *Adenium* se adapta bem em temperatura acima de +25°C e iluminação suficiente (máximo - 13.000 lux), e que a melhor fertilidade do pólen foi observada entre o primeiro dia da antese.

As estimativas de viabilidade dos grãos de pólen e das condições ideais de cultivo de uma espécie são fundamentais e permitem aos pesquisadores inferir sobre a capacidade de germinação, efeitos da temperatura no manejo das espécies, estágio de desenvolvimento da flor para a coleta e condições de armazenamento do grão de pólen (Nietsche *et al.*, 2009; Pereira *et al.*, 2014; Stanley e Linskens, 1974).

CONCLUSÕES

A maior porcentagem estimada de germinação de grãos de pólen *in vitro* de *Adenium obesum* é de 39,81%, obtida na temperatura de 26,05°C.

A viabilidade dos grãos de pólen de *Adenium obesum* é maior em temperaturas de 25 e 30°C.

REFERÊNCIAS

ALONI, B.; PEET, M.; PHARR, M.; KARNI, L. The effect of high temperature and high atmospheric CO₂ on carbohydrate changes in bell pepper (*Capsicum annum*) pollen in relation to its germination. **Physiologia Plantarum**, v. 112, p. 505-512, 2001.

ARAÚJO, E. C. E; LIMA P. S. C; VIEIRA, P. F. M. J; SITTOLIN, I.M; VELOSO, M. E. C. Efeito do tempo de armazenamento em baixa temperatura na viabilidade do pólen de espécies do complexo babaçu. *In*: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 25., 2017, Porto Seguro, Bahia. **Anais** [...]. Porto Seguro, Bahia, 2017.

AVEKIN, J. V.; GAYDARZHI, M. M. ГЕНЕРАТИВНЕ РОЗМНОЖЕННЯ ADENIUM OBESUM (FORSSK.) ROEM. & SCHULT. В УМОВАХ ІНТРОДУКЦІЇ. **Інтродукція рослин**, n. 3, p. 57-63, 2016.

BRAGA, I. *et al.* [**Rosa do deserto**: categorias]. *In*: ÍTALO Braga: loja virtual de rosas do deserto. 2017. Disponível em: <https://italobraga.com.br/>. Acesso em: 6 ago. 2020.

BRAUM, A. F. **Morfologia, Anatomia e Imunocitoquímica da interação pólene estigma em duas espécies de *Passiflora* (Passifloraceae)**. 2008. 117 f. Dissertação (Mestrado) – (Pósgraduação em Botânica) Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008.

BREWBAKER, J. L. The distribution and phylogenetic significance of binucleate and trinucleate pollen grains in the angiosperms. **American journal of botany**, v. 54, n. 9, p. 1069-1083, 1967.

BREWBAKER, J. L.; KWACK, B. H. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. **American Journal of Botany**, v. 50, n. 9, p. 859-865, 1963.

CHATTERJEE, R.; SARKAR, S.; RAO, G. M. N. Birbal Sahni Institute of Palaeobotany; Improved media for *in vitro* pollen germination of some Species of apocynaceae. **International Journal of Environment**, v. 3, p. 146-153, 2014.

COLOMBO, R. C.; CRUZ, M. A.; CARVALHO, D. U.; HOSHINO, R. T.; ALVES, G. A. C.; FARIA, R. T. *Adenium obesum* as a new potter flower: growth management. **Ornamental Horticulture**, v. 24, n. 3, p. 197-205, 2018.

DAFNI, A.; FIRMAGE, D. Pollen viability and longevity: practical, ecological and evolutionary implications. **Plant Systematics and Evolution**, v. 222, n. 1-4, p. 113-132, 2000.

DAVIDE, C. M. L.; PEREIRA, C. R.; ABREU, B. G.; SOUZA, C. J.; PINHO, V. V. É. Viabilidade de pólen de milho em diferentes períodos de armazenamento em baixa temperatura. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v. 8, n. 2, p. 199-206, 2009.

GALLETA, G. J. Pollen and seed management. *In*: MOORE, J. N.; JANICK, J. **Methods in fruits breeding**. Indiana: Purdue University Press, 1983. p. 23-47.

GARCÍA, C. C.; GUARNIERI, M.; PACINI, E. Tomato pollen tube development and carbohydrate fluctuations in the autotrophic phase of growth. **Acta Physiologiae Plantarum**, Kraków, v. 34, n. 6, p. 2341-2347, 2012.

HEDHLY, A.; HORMAZA, J. I.; HERRERO, M. Global warming and plant sexual reproduction. **Trends in Plant Science**, v. 14, p. 30-36, 2008.

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, n. 1, p. 59-67, 2005.

KOTI, S.; REDDY, K. R.; REDDY, V. R.; KAKANI, V. G.; ZHAO, D. Interactive effects of carbon dioxide, temperature, and ultraviolet-B radiation on soybean (*Glycine max* L.) flower and

pollen morphology, pollen production, germination, and tube lengths. **Journal of Experimental Botany**, v. 56, p. 725-736, 2005.

MCBRIDE, K.; HENNY, R. J.; CHEN, J.; MELLICH, T. A. Effect of light intensity and nutrition level on growth and flowering of *Adenium obesum* 'Red' and 'Ice Pink'. **HortScience**, Alexandria, v. 49, n. 4, p. 430-433, 2014.

MORRISON, M. J.; STEWART, D. W. Heat stress during flowering in summer Brassica. **Crop Science**, v. 42, p. 797-803, 2002.

MOURA, P. H. C.; PEREIRA, S. N. T.; CORTES, M. F. D.; PEREIRA, G. M. **Efeito da temperatura na germinação "in vitro" de grãos de pólen e crescimento do tubo polínico em genótipos de mamoeiro**. 2010. Tese (Doutorado em genética e melhoramento de plantas) – Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Rio de Janeiro, 2010.

NIETSCH, S.; PEREIRA, M. C. T.; OLIVEIRA, C.; DIAS, M. M.; REIS, S. T. Viabilidade dos grãos de pólen de flores de pinheira (*Annona squamosa*) em diferentes horários. **Ciência e Agrotecnologia**, v.33, n.2, p.527-531, 2009.

PEREIRA, M. C. T.; CRANEB, J. H.; MONTAS, W.; NIETSCH, S.; VENDRAME, W. A. Effects of storage length and flowering stage of pollen influence its viability, fruit set and fruit quality in 'Red' and 'Lessard Thai' sugar apple (*Annona squamosa*) and 'Gefner' atemóia (*A. cherimola* × *A. squamosa*). **Scientia Horticulturae**, v. 178, p. 55-60, 2014.

PRASAD, P. V. V.; BOOTE, K. J.; ALLEN JR, L. H.; THOMAS, J. M. G. Effects of elevated temperature and carbon dioxide on seed-set and yield of kidney bean (*Phaseolus vulgaris* L.). **Glob. Change Biol**, v. 8, p.710-721, 2002.

PRASAD, P. V. V.; BOOTE, K. J.; ALLEN, J. R., 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, n. 1, p. 51-57, 2011.

RAMOS, B. M. S. **Biologia floral de *Adenium obesum***. 2020. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Universidade Federal de Minas Gerais, Minas Gerais, 2020.

RODRIGUES, A. R. B. **A sazonalidade climática influencia o desenvolvimento dos grãos de pólen e a frutificação em *Annona squamosa* L.** 2017. Dissertação (Mestrado em Produção vegetal) – Universidade Estadual de Montes Claros, Montes Claros, 2017.

ROWLEY, G. D. The pollination mechanism of *Adenium* (*Apocynaceae*). **The National Cactus and Succulent Journal**, v. 35, n. 1, p. 2-5, 1980.

SANTOS, M. M.; COSTA, R. B.; CUNHA, P. P.; SELEGUINI, A. Tecnologias para produção de mudas de rosa do deserto (*Adenium obesum*). **Multi-Science Journal**, v. 1, n. 3, p. 79-82, 2015.

SOARES, T. L.; JESUS, O. N.; SOUZA, E. H.; OLIVEIRA, E. J. Reproductive biology and pollen–pistil interactions in *Passiflora* species with ornamental potential. **Scientia Horticulturae**, v. 197, p. 339-349, 2015.

SOARES, T. L.; SOUZA, E. H. D.; ROSSI, M. L.; SOUZA, F. V. D. Morfologia e viabilidade de grãos de pólen de acessos silvestres de abacaxi. **Ciência Rural**, v. 41, n. 10, p. 1744-1749, 2011.

STAINFORTH, D. A.; AINA, T.; CHRISTENSEN, C.; COLLINS, M.; FAULL, N.; FRAME, D. J.; KETTLEBOROUGH, J. A.; KNIGHT, S.; MARTIN, A.; MURPHY, J. M.; PIANI, C.; SEXTON, D.; SMITH, L. A.; SPICER, R. A.; THORPE, A. J.; ALLEN, M. R. Uncertainty in predictions of the climate response to rising levels of greenhouse gases. **Nature**, 433:403–406, 2005.

STANLEY, R. G.; LINSKENS, H. F. **Pollen: biology, Biochemistry management**. New York: 1974. 172p.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology**, 5th Edn. Sunderland, MA: Sinauer Associates. 2010.

TAKEOKA, Y.; HIROI, K.; KITANO, H.; WADA T. Pistil hyperplasia in rice spikelets as affected by heat-stress. **Sexual Plant Reproduction**, v.4, p. 39-43, 1991.

TAYLOR, L. P.; HEPLER, P. K. Pollen germination and tube growth. **Annual Review of Plant Physiology and Plant Molecular Biology**, v. 48, p. 461-91, 1997.

TONSOR, S. J.; SCOTT, C.; BOUMAZA I.; LISS, T. R.; BRODSKY, J. L.; VIERLING, E. Heat shock protein 101 effects in *A. thaliana*: genetic variation, fitness and pleiotropy in controlled temperature conditions. **Molecular Ecology**, v. 17, p. 1614-1626, 2008.

YOUNG, L.; R. WILEN; BONHAM-SMITH, P. High temperature stress of *Brassica napus* during flowering reduces micro- and megagametophyte fertility, induces fruit abortion, and disrupts seed production. **J. Expt. Bot.**, v. 55, p. 485–495, 2004.

ZAMBON, R. C.; SILVA, O. F. L.; PIO, R.; FIGUEIREDO, A. M.; SILVA, N. K. Estabelecimento de meio de cultura e quantificação da germinação de grãos de pólen de cultivares de marmeleiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 2, p. 400-407, 2014.



Figura 1 – Planta de *Adenium obesum* evidenciando os primórdios florais, caracterizando o estágio de seleção dos acessos para acondicionamento em BOD sob diferentes temperaturas. Montes Claros, MG, 2020



Figura 2 –

Acessos de *Adenium obesum* acondicionadas em câmaras do tipo B.O.D sob diferentes temperaturas (A) 20°C, (B) 25°C e (C) 30°C, Montes Claros, MG, 2020



Figura 3 – Corte longitudinal de uma flor de *Adenium obesum* em antese (A) e detalhe dos grãos de pólen aderidos nas anteras (B), Montes Claros, MG, 2020

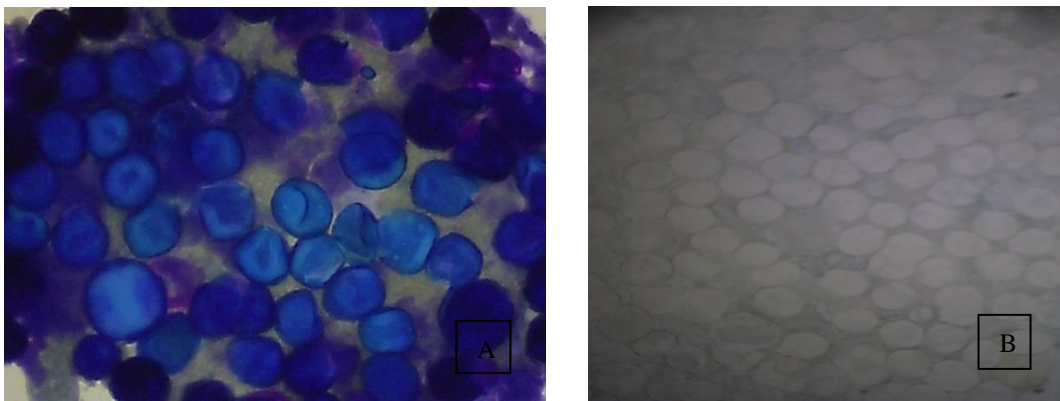


Figura 4 – Viabilidade dos grãos de pólen de *Adenium obesum* por meio do teste colorimétrico. A – grãos de pólen viáveis; B – grãos de pólen inviáveis

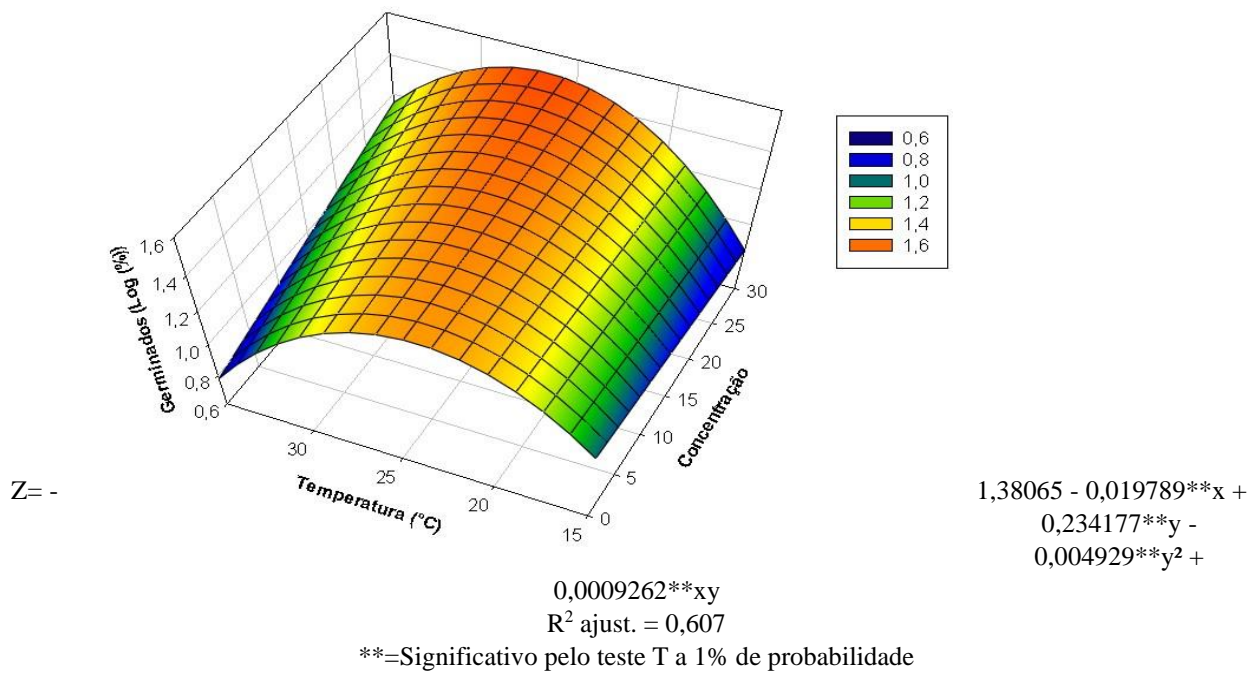


Figura 5 – Superfície de resposta para a germinação *in vitro* de grãos de pólen de *Adenium obesum*, em função das concentrações de sacarose (0%, 1%, 2% e 3%) e temperaturas (15°, 20°, 25° e 30°C). Médias transformadas (log^{X+1}). Montes Claros, MG, 2020

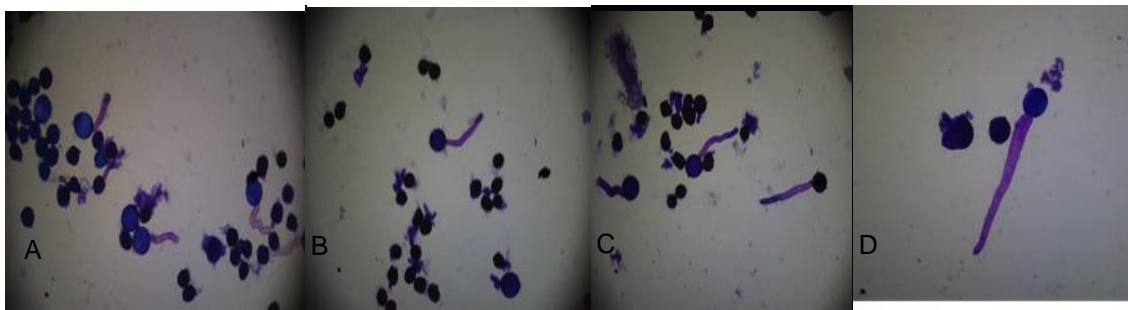


Figura 6 – Germinação *in vitro* dos grãos de pólen de *Adenium obesum* em diferentes concentrações de sacarose: A – 0%; B – 1%; C – 2%; D – 3%. Montes Claros, MG, 2020

Tabela 1 – Resumo da análise de variância para os dados de viabilidade dos grãos de pólen em diferentes temperaturas Montes Claros, MG, 2020

FV	GL	QM	F
Temperaturas	2	1131,56	41,54 *
Resíduo	12	27,23	
Total	14		
CV (%)	8,68		

Temperaturas (°C)	30	25	20
Germinação <i>in vitro</i> (%)	72,61a	69,93a	38,00b

(*) significativo a 5 % pelo teste F. Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey.

5 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Diante dos principais resultados apresentados pelo trabalho, podemos afirmar que os grãos de pólen de *Adenium obesum* são influenciados diretamente por fatores abióticos como por exemplo a temperatura e concentrações de sacarose. Temperaturas inferiores a 25°C reduzem significativamente a viabilidade polínica e atrasam o florescimento de *Adenium obesum*. Em relação a germinação in vitro dos grãos de pólen as melhores condições foram observadas em concentração de 3% de sacarose associada a temperatura de 26,05°C.

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL

Montes Claros, 20 de Abril de 2021

Ilm^a. Sr^a.

Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal

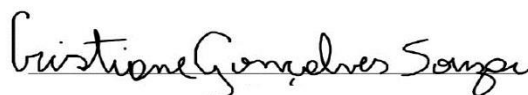
Prezada Senhora,

Comunicamos-lhe que o trabalho do(a) mestrando/ doutorando(a), Cristiane Gonçalves Souza, intitulado "Influência de fatores abióticos na viabilidade polínica em *Adenium obesum*" foi corrigido de acordo com as sugestões da banca e encontra-se em sua versão final. Entretanto devido a pandemia causada pelo SARS-COVID-19 não é possível finalizar os procedimentos para entrega da dissertação, e atestamos que esta e os demais documentos necessários para a expedição do diploma do(a) discente serão entregues em até 30 dias após o retorno das atividades da Secretaria de Pós Graduação do ICA.

Atenciosamente,



Nome e assinatura do(a) Orientador(a)

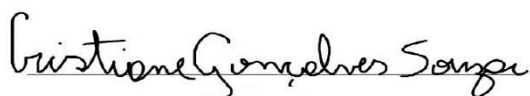


Nome e assinatura do(a) Discente

DECLARAÇÃO DE ORIGINALIDADE

Eu, Cristiane Gonçalves Souza, portador da CI:MG-14803913, CPF: 01625407602, declaro, para os devidos fins a que se destinam, que a minha dissertação, intitulada “Influência de fatores abióticos na viabilidade polínica em *Adenium obesum*”, e defendida no Instituto de Ciências Agrárias – ICA/UFMG, no dia 30/10/2020, sob a orientação do(a) Prof.(a) Silvia Nietzsche, é um trabalho original e inédito, fruto de minhas pesquisas e investigações e que sou conhecedor da Lei nº 9.610/98, que trata dos Direitos Autorais. Declaro, ainda, que citei e referenciei todos os autores e documentos por mim utilizados na produção da dissertação e que a mesma nunca foi submetida para avaliação no âmbito de qualquer Curso de Ensino do país e do exterior. As frases ou parágrafos retiradas de trabalhos ou obras de outros autores (adaptadas ou não) e citadas nesta dissertação estão assinaladas entre aspas e devidamente referenciadas, de acordo com as normas da ABNT. Declaro, ainda, que estou ciente de que o plágio – a utilização de partes de um trabalho alheio não devidamente referenciadas – pode resultar na anulação desta dissertação e, em casos que assumam particular gravidade ou de reincidência, poderá inviabilizar a atribuição do meu Grau de Mestre.

Montes Claros, 20 de Abril de 2021.



Assinatura

do(a) acadêmico(a)

DECLARAÇÃO

Revisor de Língua Portuguesa

Declaro, para o Colegiado do Curso de Doutorado em Produção Vegetal, que realizei as correções de Língua Portuguesa da dissertação intitulada “**Influência de fatores abióticos na viabilidade polínica em *Adenium obesum***”, de autoria de Cristiane Gonçalves Souza.

Montes Claros, 5 de fevereiro de 2021.



Maria Aparecida Possato
Mestre em Educação
Especialista em Língua Portuguesa
Formada em Letras (Português e Inglês)
(35) 99840 1864 aparecidapossato@gmail.com

DECLARAÇÃO

Orientador

Declaro que a versão da dissertação da mestrandia CRISTIANE GONÇALVES SOUZA, intitulada “**Influência de fatores abióticos na viabilidade polínica em *Adenium obesum*”** defendida em 30/10/2020, foi devidamente corrigida sendo atendidas todas as sugestões dos membros da banca.

Montes Claros, 01 de março de 2021.



Orientador

DECLARAÇÃO

Revisor de Língua Inglesa

Declaro para o Colegiado do Curso de Mestrado em Produção Vegetal, que realizei as correções de língua inglesa da dissertação intitulada "Influência de Fatores Abióticos na viabilidade de Polímeros em *Adenium Obesum*"

de autoria de Cristiane Gonçalves Souto

Montes Claros, 12 de junho de 2021.

Lígia Magalhães Xavier
Favor digitar o nome completo e assinar

TERMO DE AUTORIZAÇÃO - DEPÓSITO E DISPONIBILIZAÇÃO DE TRABALHOS ACADÊMICOS NO RI-UFMG

() Tese (Doutorado) (**X**) Dissertação (Mestrado) () Monografia (Especialização) () TCC (Graduação)

Autor (a): Cristiane Goncalves Souza	
Matrícula: 2021662114	CPF: 01625407602
E-mail: crisengenheiraagro@yahoo.com.br	Telefone de contato: (38)32140220
Programa/Curso: Mestrado	
Título do Trabalho: Influência de fatores abióticos na viabilidade polínica em <i>Adenium obesum</i>	
Orientador: Silvia Nietzsche	
Co-orientador: Clivia Carolina F. Possobom	
Órgão Financiador: Capes	Data da defesa: 30/10/2020
Concordo que a minha tese, dissertação, monografia ou trabalho de conclusão de curso seja distribuída pelo Repositório Institucional da Universidade Federal de Minas Gerais (RI-UFMG) nas seguintes condições: (X) 1. Acesso Aberto: disponibilização imediata do trabalho para acesso público. () 2. Acesso Restrito: arquivo indisponível por 12 meses a contar da data de defesa, podendo ser renovado por igual período mediante envio de solicitação do orientador. Após finalização do prazo, o trabalho será disponibilizado para acesso público. () 3. Acesso Embargado: arquivo e dados referenciais indisponíveis por 36 meses a contar da data de defesa por motivo de registro de patente em agência de proteção intelectual. Após finalização do prazo, o trabalho será disponibilizado para acesso público.	

Declaro que este arquivo é a versão final do trabalho em suporte digital, confirmada pelo orientador mediante assinatura abaixo, aprovada após a realização de defesa pública, e, quando for o caso, após as correções sugeridas pela banca. Declaro que o trabalho entregue é original, não infringe direitos de qualquer outra pessoa e que contendo material do qual não detenho direitos de autor, obtive autorização prévia do detentor dos referidos direitos para conceder à UFMG os termos requeridos por esta licença. Estou ciente de que o depósito da produção intelectual preserva os direitos do autor e, dessa forma, não implica em transferência dos meus direitos sobre o trabalho para a Universidade.

Na qualidade de titular dos direitos de autor(a) do trabalho supracitado, de acordo com a Lei nº 9610/98, autorizo a UFMG a disponibilizá-lo gratuitamente, sem ressarcimento dos direitos autorais, conforme permissões assinaladas acima, para fins de leitura, impressão e/ou download pela internet, a título de divulgação da produção científica gerada pela Universidade, a partir desta data.

Repositório Institucional da UFMG

Biblioteca Universitária/UFMG - 3º andar - Sala 301
Av. Presidente Antônio Carlos, 6627 - Campus Pampulha - Belo Horizonte/MG
+55 (31) 3409-4625 / 5513/ 4620 - repositorio-trabacad@servicos.ufmg.br

Este documento foi gerado com dados fornecidos pelo usuário utilizando autenticação minhaUFMG

Declaração (0685570) SEI 23072.220566/2021-41 / pg. 1



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA JOSÉ CARLOS VALLE DE LIMA

DECLARAÇÃO DE REVISÃO DE NORMAS BIBLIOGRÁFICAS

Declaro para o colegiado do Curso de Mestrado em Produção Vegetal, que realizei as correções de referências, citações e normalização da dissertação intitulada "INFLUÊNCIA DE FATORES ABIÓTICOS NA VIABILIDADE POLÍNICA EM ADENIUM OBESUM" de autoria de CRISTIANE GONÇALVES SOUZA.

Montes Claros, 18 de fevereiro de 2021.

RACHEL BRAGANÇA DE CARVALHO MOTA
Bibliotecária Documentalista - CRB-6 /2838



Documento assinado eletronicamente por Rachel Braganca de Carvalho Mota , Bibliotecária-Documentalista , em 18/02/2021, às 21:07, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador 0574871 e o código CRC BE0DAE24.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS
BIBLIOTECA UNIVERSITÁRIA JOSÉ CARLOS VALLE DE LIMA

DECLARAÇÃO

Declaramos, para os devidos fins, que a usuária CRISTIANE GONCALVES SOUZA, Usuária 112018720672, (Aluna de Pós-Graduação) não possui débito com o Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Minas Gerais.

Montes Claros, 25/02/2021

RACHEL BRAGANÇA DE CARVALHO MOTA
Bibliotecário-Documentalista - CRB-6/2838



Documento assinado eletronicamente por **Rachel Braganca de Carvalho Mota, Bibliotecária-Documentalista**, em 25/02/2021, às 20:15, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 5º do [Decreto nº 10.543, de 13 de novembro de 2020](#).



A autenticidade deste documento pode ser conferida no site [h ps://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0](https://sei.ufmg.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0), informando o código verificador **0589000** e o código CRC **679C6153**.