

Evento: XXVII Jornada de Pesquisa

**RELAÇÃO PÓLEN-ÓVULO DE *Linum usitatissimum* L. (Linaceae): UMA INVESTIGAÇÃO PRELIMINAR DO MODO DE REPRODUÇÃO<sup>1</sup>**

**POLLEN-OVULE RATIOS OF THE *Linum usitatissimum* L. (Linaceae): A PRELIMINARY INVESTIGATION OF THE REPRODUCTION MODE**

**Inaê Carolina Sfalcin<sup>2</sup>, Rafael Schneider Costa<sup>3</sup>, Liziane Kraemer<sup>4</sup>, Murilo Antonio Scardoeli<sup>5</sup>, Priscila Schott de Paula<sup>6</sup>, Juliana Maria Fachineto<sup>7</sup>**

<sup>1</sup> Resultados parciais de pesquisa científica vinculada ao Programa de Pós-Graduação em Sistemas Ambientais e Sustentabilidade da Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul/UNIJUÍ, desenvolvida sob a orientação da professora Dra. Juliana Maria Fachineto.

<sup>2</sup> Bióloga, mestranda em Sistemas Ambientais e Sustentabilidade/UNIJUÍ, bolsista FAPERGS.

<sup>3</sup> Graduando em Ciências Biológicas - bacharelado/UNIJUÍ, bolsista do Programa de Educação Tutorial PET/MEC/SeSU.

<sup>4</sup> Bióloga, mestranda em Sistemas Ambientais e Sustentabilidade/UNIJUÍ, bolsista CAPES.

<sup>5</sup> Biólogo, mestrando do Programa de Pós-Graduação em Sistemas Ambientais e Sustentabilidade/UNIJUÍ, bolsista FAPERGS-CAPES e bolsista Gratuidade UNIJUÍ.

<sup>6</sup> Engenheira Agrônoma, mestranda em Sistemas Ambientais e Sustentabilidade/UNIJUÍ, bolsista UNIJUÍ.

<sup>7</sup> Professora do curso de Graduação em Ciências Biológicas e do Programa de Pós-Graduação em Sistemas Ambientais e Sustentabilidade/UNIJUÍ.

**RESUMO**

*Linum usitatissimum* L. (Linaceae), conhecida popularmente como linhaça, é uma planta de origem asiática, cultivada no Brasil para obtenção de sementes. No país, poucos são os estudos que abordam os aspectos da biologia floral da cultura, embora tenha crescido o interesse dos programas de melhoramento vegetal que buscam otimizar a produção do grão. Compreender os mecanismos naturais de transferência de grãos de pólen para os óvulos é fundamental para o emprego de técnicas de hibridação. Assim, este trabalho objetivou realizar a relação pólen-óvulo de *L. usitatissimum* a fim de contribuir com o conhecimento da biologia reprodutiva da cultura. Foi quantificado o número de grãos de pólen das cinco anteras de 50 botões florais em pré-antese por varredura em microscópio óptico. O número de óvulos foi determinado em 50 ovários dissecados sob lupa estereoscópica. A razão pólen-óvulo (P:O) e a classificação do modo de reprodução preferencial foram determinadas conforme Cruden (1977). Foi obtida uma média de 2.390 grãos de pólen por botão floral (PB) e 10 óvulos por botão floral (OB), com número de grãos de pólen por antera (PA) variando de 300 a 1.302. A relação P:O obtida para a linhaça foi de 239:1, sugerindo um sistema de reprodução de autogamia facultativa, ou seja, a planta é predominantemente autógama com eventos de polinização cruzada. Isso ocorre quando as flores tendem a se autopolinizar antes ou durante a abertura da corola, e a exposição de estigmas a potenciais polinizadores ocorre após a autopolinização. Demais estudos acerca da biologia floral de *L. usitatissimum* devem ser realizados para contribuir com o estabelecimento de um modo de reprodução preferencial para a cultura, provendo informações úteis para as abordagens do melhoramento de plantas.



**Palavras-chave:** Linhaça. Linho. Biologia floral. Polinização.

## ABSTRACT

*Linum usitatissimum* L. (Linaceae), popularly known as linseed, is a plant of Asian origin, cultivated in Brazil to obtain seeds. In the country, there are few studies that address aspects of the floral biology of the crop, although interest in plant breeding programs that seek to optimize grain production has grown. Understanding the natural reproduction of pollen for ovules is fundamental to hybridization techniques. Thus, this work aimed to perform a pollen-ovule relationship of *L. usitatissimum* in order to contribute to the knowledge of the reproductive biology of the culture. It was quantified from pollen grains and five anthers of flower buds, using techniques in number of optical lights. The number of ovules was determined in 50 dissected ovaries, under a stereoscopic magnifying glass. The pollen-ovule ratios (P:O) and the classification of preferential reproduction mode were determined according to Cruden (1977). An average of 2.390 pollen grains per flower bud (PB) and 10 ovules per flower bud (OB) were generated, with the number of pollen grains per anther (PA) ranging from 300 to 1.302. The P:O ratios obtained for linseed was 239:1, suggesting a facultative autogamy reproduction system, that is, the plant is predominantly autogamous with cross-pollination events. This occurs when flowers tend to self-pollinate before or during corolla opening, and exposure of stigmas to potential pollinators occurs after self-pollination. Other studies on the floral biology of *L. usitatissimum* should be carried out to contribute to the establishment of a preferential reproduction mode for the culture, providing useful information for approaches to plant breeding.

**Keywords:** Linseed. Flax. Floral biology. Pollination.

## INTRODUÇÃO

*Linum usitatissimum* L. (Linaceae), é uma espécie de planta herbácea, diploide e de origem asiática, cultivada em diversos países de clima frio para obtenção de fibra e sementes (CANADA, 2019). Desta última, é extraído o óleo, rico em compostos fenólicos e ácidos graxos poli-insaturados de importância industrial, alimentícia e farmacêutica (CABI, 2018; JOHNSON e KERR, 2019). No Brasil, a espécie é conhecida popularmente como linhaça, sendo o Rio Grande do Sul o maior estado produtor do grão (IBGE, 2020).

A linhaça cresce em ramos delgados de inflorescências fartas, constituídas de cimeiras de flores perfeitas e pentâmeras, ou seja, elementos florais como pétalas, sépalas, estames e carpelos ocorrem todos em número de cinco. Os carpelos são septados, alocando dois óvulos, o que resulta em até dez sementes dentro da cápsula seca, a qual constitui o fruto (RASHAW, 2021; SCHEWE, SAWHNEY e DAVIS, 2011; DRESSLER, REPPLINGER e BAYER *et al.*, 2014). No país, poucos são os estudos que abordam os aspectos da biologia floral e reprodutiva



da cultura, embora tenha crescido, nos últimos anos, a aplicação de métodos de melhoramento que buscam otimizar a produção do grão, explorado comercialmente (XIE *et al.*, 2018).

Neste contexto, o estudo da biologia reprodutiva da espécie se faz relevante, uma vez que, compreender os mecanismos naturais de transferência de grãos de pólen para os óvulos é fundamental para o emprego de técnicas de hibridação (GIORDANI, 2019). Dentre diversas metodologias, estudos vêm utilizando a relação pólen-óvulo (CRUDEN, 1977) como uma estimativa do provável modo de reprodução da espécie. Não foram encontradas informações na bibliografia nacional acerca da relação P:O de linhaça. Assim, este trabalho objetivou realizar a relação pólen-óvulo de *L. usitatissimum* a fim de contribuir com o conhecimento da biologia reprodutiva da cultura.

## METODOLOGIA

Buscando conhecer a relação pólen-óvulo (P:O) de *L. usitatissimum*, botões florais em pré-antese foram coletados aleatoriamente nas inflorescências de plantas de linhaça da cultivar CISJU21, cultivadas em vasos e em área aberta, na Universidade Regional do Noroeste do Estado do Rio Grande do Sul, campus Ijuí-RS. Os botões florais foram fixados em etanol 70% e refrigerados a 4°C - 6°C até manipulação no Laboratório de Microscopia da universidade.

Para a obtenção do número de grãos de pólen, as anteras foram removidas dos botões florais com auxílio de agulhas histológicas e lupa estereoscópica, sendo maceradas com bastão de vidro sob uma gota de Hematoxilina de Sill 1%. Após montado o conjunto lâmina/lamínula, as amostras foram observadas sob varredura em microscópio óptico com sistema de captura de imagem modelo Nikon® eclipse E200. Foram avaliados 50 botões florais, dos quais foi preparada uma lâmina para cada uma das cinco anteras de cada botão, onde foram contabilizados todos os grãos de pólen corados, totalizando 250 lâminas avaliadas. Para obtenção do número de óvulos por botão floral, ovários de 50 botões florais foram dissecados com auxílio de lâmina de bisturi e agulhas histológicas. Um corte transversal foi efetuado em cada ovário a fim de expor os óvulos, os quais foram contabilizados sob observação em lupa estereoscópica. Os dados obtidos foram submetidos à análise estatística descritiva utilizando o software R®, e a relação pólen-óvulo (P:O) foi efetuada seguindo a metodologia proposta por Cruden (1977), por meio da divisão da média geral do número de polens (PB) pela média geral do número de óvulos (OB) dos botões florais.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A partir da análise descritiva dos dados (Tabela 1), observa-se que o botão floral de *L. usitatissimum* produz em média 2.390 grãos de pólen por flor e 10 óvulos por ovário. Cada antera (n=5) apresentou, em média, 478 grãos de pólen. Contudo, observa-se que o número de grãos de pólen por antera (PA) variou de  $1.302 \pm 300$  (CV = 36%), demonstrando uma grande variação na produção de polens nas anteras.

**Tabela 1.** Análise descritiva do número de grãos de pólen por botão floral (PB), número de grãos de pólen por antera (PA) e número de óvulos por botão floral (OB) de *L. usitatissimum* cv. CISJU21.

Variáveis	Máximo	Mínimo	Média	Desvio Padrão	CV (%)*
<b>PB</b>	4008	1262	2390	632.99	26
<b>PA</b>	1302	300	478	175.45	36
<b>OB</b>	12	8	10	0.86	8

\*CV (%): Coeficiente de Variação.

Cruden (1977) desenvolveu um índice que indica o modo de reprodução preferencial das plantas de acordo com a proporção de polens e óvulos produzidos pelas flores, sendo: cleistogamia (P:O = 2,7 - 5,4), autogamia obrigatória (P:O = 18,1 - 39,0), autogamia facultativa (P:O = 31,9 - 396,0), alogamia facultativa (P:O = 244,7 - 2.588,0) ou alogamia obrigatória (P:O = 2.108,0 - 195.525,0) (AMORIM, 2019). Assim, a relação P:O obtida para a linhaça foi de 239:1, o que classifica a cultura como autógama facultativa. Segundo Cruden (1977), flores autógamas facultativas tendem a se autopolinizar antes ou durante a abertura da corola, e a exposição de estigmas a potenciais polinizadores ocorre após a autopolinização. Isso indica que a linhaça é predominantemente autógama com possíveis eventos de polinização cruzada (SCHEWE, SAWHNEY e DAVIS, 2011).

Para Zelentsov *et al.* (2018), os estames da linhaça são considerados de baixa produtividade de pólen e a dinâmica da antese floral da espécie garante a autogamia, permitindo a polinização cruzada em casos excepcionais em que ocorre a antese com estigmas que, por alguma dificuldade, não se autopolinizaram. A ocorrência de 1 a 5% de polinização cruzada tem sido relatada para a cultura e, de acordo com os autores, configura um mecanismo adicional de polinização para a linhaça, enquanto a autogamia é preferencial. Navatha *et al.* (2012) explicam que a autopolinização é favorecida em genótipos de linhaça cultivada, uma vez que

possuem estames em maior comprimento em relação ao pistilo e anteras ligeiramente curvadas acima do estigma.

Ainda, aspectos relativos à biologia floral da linhaça são importantes para confirmar o tipo de reprodução preferencial da planta, como morfologia e morfometria florais, longevidade floral e perfil da antese, receptividade estigmática e viabilidade dos grãos de pólen, bem como, sua natureza histoquímica, além das razões fruto:flor, semente:óvulo e o índice de autoincompatibilidade, conforme Wiens *et al.* (1987) e Bullock (1985).

### CONSIDERAÇÕES FINAIS

A relação pólen-óvulo (P:O) obtida para *L. usitatissimum* sugere um sistema de reprodução de autogamia facultativa para a cultura, estando de acordo com a literatura, a qual relata a linhaça como preferencialmente autógama, havendo uma taxa variável e adicional de polinização cruzada. Demais estudos acerca da biologia floral de *L. usitatissimum* devem ser realizados a fim de contribuir para o estabelecimento de um modo de reprodução preferencial para a cultura, provendo informações úteis para as abordagens do melhoramento de plantas.

### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AMORIM, G. T. dos S. **Modo de Reprodução Preferencial em Genótipos de Vinca (*Catharanthus roseus* [L.] G. Don)**. Dissertação de Mestrado em Fitotecnia. Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2019. 95 p.

BULLOCK, S. H. Breeding Systems in the Flora of a Tropical Deciduous Forest in Mexico. **Biotropica**, v.17, n. 4, p. 287-301, 1985.

CABI, Center for Agriculture and Biosciences International. ***Linum usitatissimum* data sheet**. 2018. Disponível em: <https://www.cabi.org/cpc/datasheet/31053>. Acesso em: 10 mai 2022.

CANADA, Canadian Food Inspection Agency. **The Biology of *Linum usitatissimum* L. (Flax)**. 2021. Disponível em: <https://inspection.canada.ca/plant-varieties/plants-with-novel-traits/applicants/directive-94-08/biology-documents/linum-usitatissimum-l-flax-/eng/1330979709525/1330979779866>. Acesso em: 10 abr 2022.

CRUDEN, R.W. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. **Evolution**, 31: 32-46, 1977.

DRESSLER, S.; REPLINGER, M.; BAYER, C. Linaceae. *In: Flowering Plants. Eudicots. The Families and Genera of Vascular Plants*. 11 ed., Berlin, Heidelberg: 2014, 237 p.



GIORDANI, S. C. O. **Biologia reprodutiva e produtividade de frutos em Pequi (*Caryocar brasiliense* Cambess - Caryocaraceae)**. Tese de Doutorado em Produção Vegetal.

Universidade Federal dos Vales do Jequitinhonha e Mucuri, Diamantina, 2019. 62 p.

IBGE. **Produção Agrícola - Lavoura Temporária**. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística. 2022. Disponível em:

<<https://cidades.ibge.gov.br/brasil/rs/pesquisa/14/10193?tipo=cartograma&indicador=10317>>

Acesso em: 10 maio 2022.

JOHNSON, B.; KERR, D. **Growing Flax: Production, Management e Diagnostic Guide**.

Canada: Flax Council of Canada, 2019. 64 p.

NAVATHA, L., SREEDEVI, K., CHAITANYA, T. *et al.* Species richness and foraging activity of insect visitors in linseed (*Linum usitatissimum* L.). **Current Biotica**, v. 5, n. 4, p. 465-471, 2012.

RASHAW, S. M. **Evaluation of ethiopian linseed (*Linum usitatissimum* L.) Genotypes for yield, its related traits and oil content at arsi highlands**. MSc in Plant Breeding. Jimma University College of Agriculture and Veterinary Medicine, 2021.

SCHEWE, L. C.; SAWHNEY, V. K. ; DAVIS, A. R., Ontogeny of floral organs in flax (*Linum usitatissimum*; Linaceae). **American Journal of Botany**, v. 98, n. 7, p. 1077–1085, 2011.

WIENS, D.; CALVIN, C. L.; WILSON, C. A. *et al.* Reproductive success, spontaneous embryo abortion, and genetic load in flowering plants. **Oecologia**, v.71, n.4, p. 501-509, 1987.

XIE, D.; DAI, Z.; YANG, Z. *et al.* Genome-Wide Association Study Identifying Candidate Genes Influencing Important Agronomic Traits of Flax (*Linum usitatissimum* L.) Using SLAF-seq. **Frontiers in Plant Science**, v. 8, 2018.

ZELENTSOV, S.V.; MOSHNENKO, E.V.; RYABENKO, L.G.; *et al.* The Types And Methods of Natural Pollination of Flax *Linum Usitatissimum* L. **Oil Crops**, v. 1, n. 173, p. 105–113, 2018.