

Estudos sobre a Preservação do Pólen do Urucueiro¹

C. de M.P. Moreira*, F.C. Guedes A.**,
F.A. Guedes A.***, J.J. Lima de Albuquerque****

ABSTRACT

The preservation of pollen viability is valuable to plant breeders and geneticists for preventing time and space problems frequently associated with artificial pollination. This experiment was conducted to evaluate the influence of storage temperature on annatto pollen viability. The viability was estimated by *in vitro* germination in culture media of 1.0% agar and 10% sucrose diluted in distilled water. The pollen was stored at -10°C, 0°C, 10°C and humidity of 70%, 80% and 50%, respectively. The best storage condition was -10°C and 70% RH. After 24 hours, viability of the annatto pollen was reduced in all the conditions tested.

RESUMO

A preservação da viabilidade do pólen se reveste de grande importância, na solução de problemas envolvendo tempo e espaço encontrados no processo da polinização artificial. Estudos no pólen de *Bixa orellana* foram realizados no laboratório de Citogenética do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará - Brasil, com o objetivo de se determinar a temperatura mais adequada para a preservação da viabilidade verificada através de testes de germinação *in vitro* em meio artificial contendo 1% de agar e 10% de sacarose. A preservação em três tratamentos; -10°C, 0°C e 10°C com 70%, 80% e 50% de umidade relativa, respectivamente. As melhores condições para o armazenamento do pólen ocorreram a -10°C e 70% de umidade relativa. Em todos os tratamentos a viabilidade decresceu após 24 horas de armazenamento.

INTRODUÇÃO

Muitos são os estudos já realizados com a finalidade de prolongar a vida do pólen. Um dos primeiros estudos de preservação de pólen foi feito por Kampfer em 1912, onde pólen de pinhos (*Pinus* sp.) foi armazenado na ausência de

luz e após um ano não foi constatado nenhuma perda de viabilidade (Knowlton 1922). Para o melhorista, a preservação da viabilidade do pólen soluciona dois dos maiores problemas da polinização artificial que são, o tempo e o espaço (Bissiri e Nik-Nejad 1976), permitindo assim, cruzamentos entre plantas situadas em diferentes localidades (Almeida *et al.* 1985).

¹ Recebido para publicação el 10 julho de 1993
Parte do trabalho de dissertação apresentado à Universidade Federal do Ceará, pelo primeiro autor, para a obtenção do grau de Mestre em Fitotecnia

* Eng. Agr., MS, técnica da Secretaria de Agricultura e Reforma Agrária do Estado do Ceará, Rua Bernardo Figueiredo, 2261 CEP: 60 455 Fortaleza, Ceará, Bra.

** Eng. Agr., Ph D., Prof. Adjunto do Departamento de Fitotecnia da UFC; bolsista do CNPq; Caixa postal 12.168 CEP 60.355 Fort. CE, Bra.

*** Eng. Agr., Ph D., Prof. Titular do Departamento de Biologia da UFC; bolsista do CNPq; Caixa postal 12.168 CEP 60.355 Fort. CE, Bra.

**** Eng. Agr., M.S., Prof. Assistente do Departamento de Estatística e Matemática Aplicada da UFC; Caixa postal 12 168 CEP 60 355 Fort. CE, Bra.

O sucesso da preservação do pólen, depende principalmente da temperatura e da umidade relativa do armazenamento (Dean 1965; Khan *et al.* 1971; Linskens 1964; Pruszinsky 1960). Pólens de diferentes famílias armazenados em diferentes condições de umidade relativa, ofereceram melhores resultados entre 60 e 80%. Ultrapassando os limites indicados, a perda da viabilidade foi drástica. A viabilidade do pólen depende do quanto sua atividade vital pode ser reduzida sem perder seu poder de germinação e a longevidade geralmente aumenta para algumas espécies com a redução da umidade relativa durante o armazenamento, existindo casos em que o teor d'água não pode ser menor do que um certo valor

crítico, sendo portanto, indispensável manter-se determinada quantidade d'água para que o pólen permaneça viável (Spiss e Hittle 1979; Linskens 1964). Para o pólen do trigo (*Triticum* sp.), a perda de sua viabilidade só ocorreu após quatro dias em ambiente de 4°C e umidade relativa girando em torno de 75% a 95% (Khan *et al.* 1971). Aumentando-se a temperatura e a umidade relativa de armazenamento, acarretará, um acréscimo na taxa de respiração e como consequência uma perda na viabilidade (Hoekstra e Bruinsma 1975).

O objetivo desta pesquisa foi determinar entre as temperaturas de -10°C, 0°C e 10°C, qual a mais adequada para a preservação do pólen do urucueiro (*B. orellana* L.).

MATERIAL E MÉTODOS

O pólen usado neste experimento foi oriundo de plantas cultivadas na área experimental da Usina Piloto de Álcool em Caucaia-Ceará, Brasil pertencente a Universidade Federal do Ceará. Após aproximadamente 60 min da coleta, uma amostra deste pólen foi submetida, em Fortaleza (distante 20 km da área experimental), ao teste de viabilidade, em meio de cultura contendo 1% de agar e 10% de sacarose. Comprovada sua viabilidade, a massa de pólen foi acondicionada em placas de Petri, sem tampa, em diferentes ambientes os quais resultaram em três tratamentos:

A -10°C e 70% de umidade relativa.

B 0°C e 80% de umidade relativa.

C 10°C e 70% de umidade relativa.

A diferença de médias entre os tratamentos foi feita pelo teste de Tukey. As variáveis analisadas foram percentual de germinação e comprimento de tubo polínico em micrômetro (μm).

RESULTADOS E DISCUSSÕES

Os resultados da análise de variância, para percentagem de germinação e comprimento do tubo polínico, são apresentados na Quadro 1.

Diferença significativa foi verificada entre os tratamentos com relação a percentagem de germinação e comprimento do tubo polínico. Desmembrando-se os contrastes verificou-se diferença estatística entre os níveis de temperaturas, tempo de preservação e interação temperatura x tempo de preservação.

Ocorreu diferença significativa no percentual de germinação e no comprimento do tubo polínico da testemunha, em relação aos diferentes tratamentos, indicando decréscimo de viabilidade pelo efeito dos tratamentos.

A Figura 1 apresenta o comportamento da germinação do pólen do urucum após o armazenamento, mostrando a percentagem de germinação do pólen fresco, os percentuais médios observados e a curva de regressão para as três temperaturas analisadas. Nesta figura observa-se que o maior percentual de germinação ocorreu quando o pólen estava fresco. Após um dia de armazenamento, o ambiente que

Quadro 1. Análise de variância para percentagem de germinação de pólen e comprimento do tubo polínico do urucueiro (Fortaleza, Ceará, Bra, 1991).

Causas de variação	G.L.	Cuadrado médio	
		Germinação polínico	Comprimento tubo
(Tratamento)	12	2 901 90**	161 061 89**
Temperatura	2	9 457 28**	486 416 73**
Dia	3	1 434 98**	53 076 65**
Dia vs temperatura	6	578 42**	12 926 92**
Testemunha vs tratamento	1	8 132 82**	723 117 74**
Resíduo	39	8 79	399 70

** = Significativo ao nível de 1% de probabilidade

proporcionou maior percentagem de germinação, foi de -10°C a 70% de umidade relativa, seguido por 10°C a 50% de umidade relativa e 0°C a 80% de umidade relativa. Verifica-se também, que em todos os dias a curva -10°C a 70% de umidade relativa manteve-se acima das demais curvas, mantendo sua viabilidade por 7 dias. Em temperatura de 4°C e umidade relativa em torno de 75% a 95%, o pólen de *Triticum* sp. manteve-se viável por 4 dias (Khan *et al.* 1971). No entanto, os pólenes de *Spathiphyllum* e *Vriesea* armazenados a 7°C e 65% de umidade relativa, mantiveram-se viáveis por 24 e 16 semanas respectivamente (Johnson 1978).

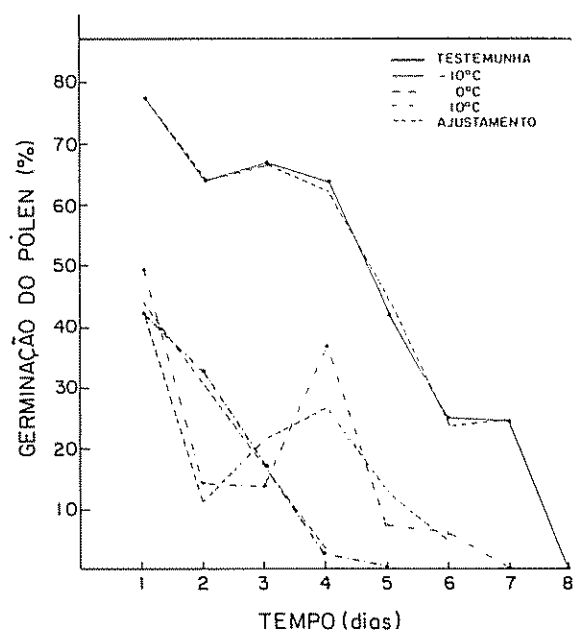


Fig. 1. Longevidade e percentual de germinação do pólen do urucueiro em diferentes temperaturas (Fortaleza, Ceará, Bra., 1991).

A Figura 2 apresenta o comprimento do tubo polínico do pólen fresco, os comprimentos médios observados e a curva de regressão para as três temperaturas e umidades relativas analisadas. O maior comprimento do tubo polínico ($1320.90\ \mu\text{m}$) ocorreu no pólen fresco. Após 24 horas, o ambiente que melhor proporcionou a preservação do pólen foi -10°C a 70% de umidade relativa, seguidos por 10°C a 50% de umidade relativa e 0°C e 80% de umidade relativa. Em todos os dias de armazenamento a curva -10°C e 70% de umidade relativa apresentou superioridade diante das demais.

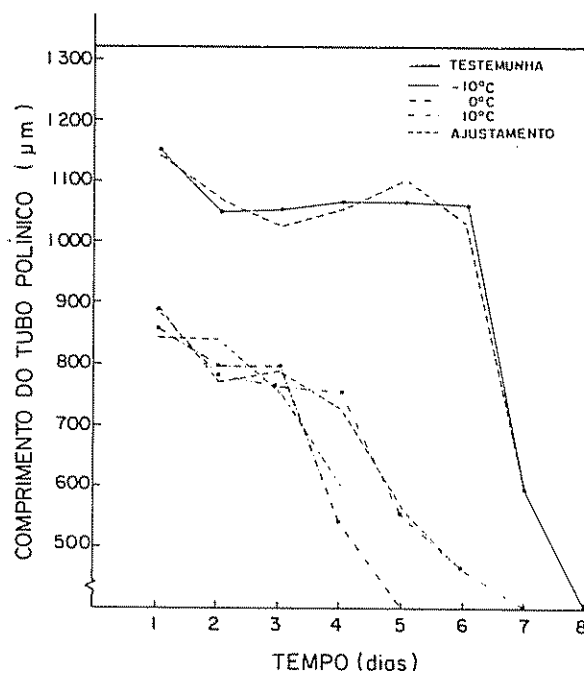


Fig. 2. Longevidade e comprimento do tubo polínico do urucueiro em diferentes temperaturas (Fortaleza, Ceará, Bra., 1991).

Os percentuais médios de germinação e os comprimentos médios dos tubos polínicos, nos diversos tratamentos e suas comparações através do teste de Tukey, são vistos na Quadro 2.

Preservado por um período de um dia a -10°C e 70% de umidade relativa, o pólen de urucueiro germinou em um percentual de 77.51% (Fig. 3). Por dois dias sua germinação foi de 63.84%, mantendo-se mais ou menos neste percentual no terceiro e quarto dias de preservação. O comprimento do tubo polínico comportou-se de maneira semelhante, ou seja, com um dia de preservação, ocorreu diminuição do comprimento em relação ao pólen fresco, reduzindo-o mais uma vez no segundo dia, e permanecendo mais ou menos constante no terceiro e quarto dias. Quando em 0°C e 80% de umidade relativa, o pólen perdeu drasticamente sua capacidade germinativa do primeiro ao quarto dia de preservação (Fig. 4). Após o quarto dia, este pólen tornou-se praticamente inviável. O tubo polínico neste ambiente de preservação alcançou um comprimento de $856.1\ \mu\text{m}$, depois de 24 horas. Manteve-se mais ou menos con-

Quadro 2. Percentual médio de germinação de pólen e comprimento do tubo polínico do urucueiro preservado em diferentes períodos, temperatura e umidades relativas (Fortaleza, Ceará, Bra., 1991).

Tratamentos	Média de germinação (%)	Comprimento médio do tubo polínico (μm)
Testemunha (pólen fresco)	87.01 a	1 321.90 a
Dia 1X-10° C/70% UR	77.51 b	1 149.54 b
Dia 2X-10° C/70% UR	63.84 c	1 049.58 c
Dia 3X-10° C/70% UR	66.95 c	1 051.01 c
Dia 4X-10° C/70% UR	63.76 c	1 063.86 c
Dia 1X-10° C/80% UR	42.29 cd	856.09 d
Dia 2X-0° C/80% UR	32.62 e	796.11 e
Dia 3X-0° C/80% UR	17.23 f	795.40 e
Dia 4X-0° C/80% UR	2.67 g	589.76 f
Dia 1X-10° C/50% UR	49.03 d	888.93 d
Dia 2X-10° C/50% UR	19.30 f	781.83 e
Dia 3X-10° C/50% UR	13.87 f	763.91 e
Dia 4X-10° C/50% UR	36.27 c	754.70

1 Médias seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey

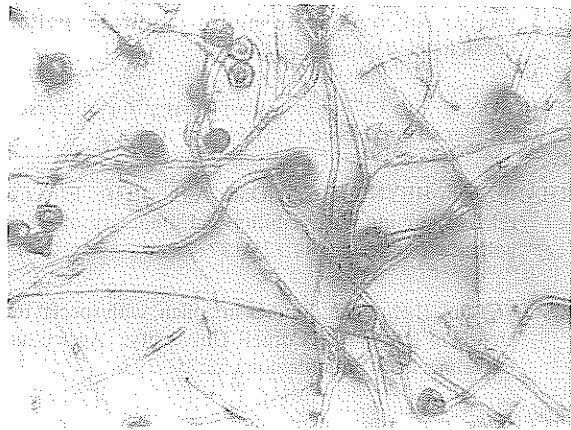


Fig. 3. Germinação do pólen (77.51%) e comprimento do tubo polínico (1320.90 μm) do urucueiro preservado a -10°C durante 24 horas (objetiva de aumento 32X).

stante no segundo e terceiro dias, 781.33 e 763.91 μm respectivamente. No quarto dia sofreu uma redução significativa para 589.76 μm .

Quando o pólen do urucueiro foi preservado a 10°C e 50% de umidade relativa, sua germinação chegou a 49.03% após 24 h, caindo para 19.30% no segundo dia e 13.87% no terceiro dia. No quarto dia

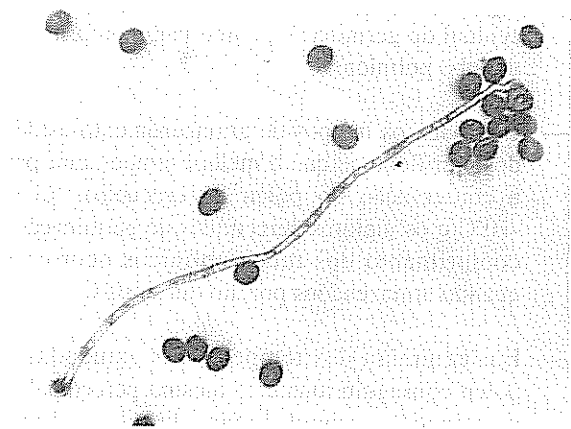


Fig. 4. Germinação do pólen (2.67%) e comprimento do tubo polínico (598.76 μm) do urucueiro preservado a 0°C durante 96 horas (objetiva de aumento 32X).

observou-se um considerável acréscimo no percentual de germinação chegando a 36.27. Observou-se um comportamento semelhante em pólen de *Birdsfoot trefoil* (Spiss e Hittle 1979). Nestas condições o tubo polínico, mesmo após quatro dias de armazenamento, ainda apresentou um razoável comprimento (754.70 μm) de tubo polínico (Fig 5).

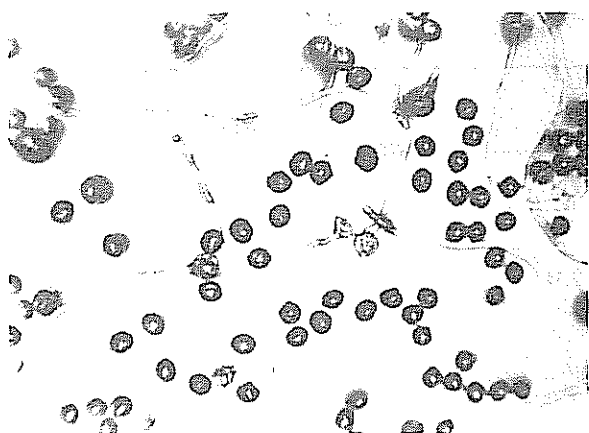


Fig. 5. Germinação do pólen (19.30%) e comprimento do tubo polínico (781.33 μm) do urucueiro preservado a 10°C durante 48 horas (objetiva de aumento 32X).

CONCLUSÕES

- Verificando-se o tempo de armazenamento e a temperatura para preservação de pólen de urucueiro, constatou-se efeito significativo para tempo, temperatura e interação, tempo para percentual de germinação, como para comprimento do tubo polínico.
- Em todos os tempos de armazenamento estudados, verificou-se que a melhor temperatura para a conservação do pólen de urucueiro, foi de -10°C e os maiores percentuais de germinação e comprimento dos tubos polínicos ocorreram quando armazenados por um dia a -10°C.
- Em nenhuma das temperaturas estudadas, o pólen conseguiu manter o mesmo percentual de germinação e comprimento de tubo polínico obtido quando fresco, embora tenha permanecido viável por alguns dias.
- O percentual de germinação e comprimento de tubo polínico para a testemunha foi de 81% e 1320.9 μm respectivamente. Observou-se decréscimo na viabilidade em todos os ambientes estudados

- Preservação do pólen do urucueiro em 0 e 10°C, sem o controle da umidade relativa, não é favorável ao armazenamento.
- Houve uma tendência de diminuir a percentagem de germinação e o comprimento do tubo polínico, a medida em que se aumentou o tempo de preservação.

LITERATURA CITADA

- ALMEIDA, F.C.G.; HUANG, F.H.; WADDLE, B.A.; LANE, F.E. 1985. Effects of postanthesis storage variables on pollen of cotton (*Gossypium hirsutum* L.). *Ciência Agrônômica* 16(2):33-40
- BISSIRI, M.K.; NIK-NEJAD, M. 1976. Effects of temperature and humidity on pollen viability of six rose species. *Canadian Journal of Plant Science* 56:517-523
- DEAN, C.E. 1965. Effects of temperature and humidity on the longevity of tobacco (*Nicotiana tabacum* L.) pollen in storage. *Crop Science* 5:148
- HOEKSTRA, F.A.; BRUINSMA, J. 1975. Respiration and vitality of binucleate and trinucleate pollen. *Physiologia Plantarum* 34:221-225.
- JOHNSON, B.B. 1978. *In vitro* propagation of *Episcia cupreata*. *HortScience* 13(5):596.
- KHAN, M.N.; HEYNE, E.C.; GOSS, A.E. 1971. Effect of relative humidity on viability and longevity of wheat pollen. *Crop Science* 11:125-127.
- KNOWLTON, H.E. 1922. Studies in pollen, with special reference to longevity. Cornell University. Agriculture Experimental Station Memoirs 52:751-793.
- LINSKENS, H.F. 1964. Pollen physiology. *Annual Review Plant Physiology* 14:225-266
- PRUSZINSKY, S. 1960. Sitzungsberichte Österreichische Akademie der Wissenschaften. Mathematik - Naturwissenschaften 1(169):43-100
- SPISS, L.; HITTLE, C.N. 1979. Pollen germination and storage in birdsfoot trefoil (*Lotus corniculatus* L.). *Acta Agraria et Silvestria* 17(2):267-276