

EFEITO DO TEMPO E FORMA DE CONSERVAÇÃO NA GERMINAÇÃO *in vitro* DO PÓLEN DE BACURI

Ellen de Moura Vale¹, Valdomiro Aurélio Barbosa de Souza², Sulimary Oliveira Gomes¹, Maria do Perpetuo Socorro Damasceno Costa³, Alane Rosane Castro Guimarães¹, João Paulo Brito Sousa⁴ e Crisley Cristina Pereira da Silva⁴

Resumo

O bacurizeiro é uma espécie nativa de elevada importância socioeconômica no Meio-Norte do Brasil. A análise da fertilidade do pólen é um fator importante para se estabelecer estratégias de melhoramento para a espécie. Contudo, a literatura é carente de estudos sobre a viabilidade do pólen nessa espécie. Esse trabalho objetivou avaliar o efeito do tempo e da forma de conservação na germinação *in vitro* do pólen de bacuri. Foram avaliados seis tempos de armazenamento (0, 24, 48, 72, 90 e 120h) e duas formas de conservação (flor intacta e feixes estaminares) do pólen de quatro acessos de bacuri em delineamento inteiramente ao acaso em arranjo fatorial 6 x 2 x 4, com oito repetições. Não houve efeito de forma de conservação do pólen e, em média, todos os acessos mantiveram índices considerados aceitáveis de viabilidade por até 48h após a coleta das flores. No entanto, em média, os maiores índices de viabilidade são obtidos com o uso do pólen fresco.

Introdução

O bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.) é uma espécie arbórea nativa da Amazônia Oriental Brasileira (CAVALCANTE, 1996), de elevado valor socioeconômico. Os frutos dessa Clusiaceae ocupam posição de destaque na preferência dos consumidores, especialmente nos Estados do Pará, Piauí e Maranhão, onde a espécie apresenta maior dispersão, formando densas e diversificadas populações naturais (SOUZA *et al.*, 2000).

Devido à ampla aceitação de seus frutos o bacurizeiro apresenta elevado potencial para exploração econômica. Estimativas indicam que somente na cidade de Belém-PA, são comercializados, anualmente, cerca de sete milhões de frutos, com valor total de US\$ 1,61 milhão (SHANLEY, 2000).

A viabilidade do pólen é um parâmetro de grande importância no estudo das plantas, pois, além de evidenciar a capacidade reprodutiva da espécie, contribui em estudos taxonômicos, ecológicos e palinológicos, fornecendo informações básicas para aplicação no cultivo, na conservação de germoplasma e no planejamento de estratégias de melhoramento (ARROYO, 1981; GUINET, 1989).

Na literatura especializada são encontrados diversos métodos que podem ser empregados na determinação da viabilidade do pólen (GALLETTA, 1983; DALFNI, 1992; KEARNS e INOUE, 1993). Contudo, a germinação *in vitro* é tida como um procedimento eficiente, seguro e, também, o mais utilizado para se determinar a viabilidade do pólen em programas de melhoramento genético (MARCELLÁN; CAMADRO, 1996). No caso do bacuri, contudo, ainda não há estudos sobre o manuseio do pólen.

O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do tempo e forma de conservação na viabilidade do pólen de quatro acessos de bacurizeiro.

¹ Estudantes de Graduação, Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Petrônio Portela, Teresina-PI, CEP 64049-550. E-mail: ellenmoura27@hotmail.com; sgomes_pi@hotmail.com; agroalane@hotmail.com

² Pesquisador A da Embrapa Meio-Norte, Teresina-PI, CEP 64006-220. E-mail: valdo@cpamn.embrapa.br

³ Graduada em Agronomia, Bolsista DTI do CNPq/Embrapa Meio-Norte. E-mail: lindamara.1@hotmail.com

⁴ Estudantes de Graduação, Universidade Estadual do Piauí, Campus de União, União-PI, CEP 64120-000. E-mail: cpdelicia@hotmail.com; crisley.silva@hotmail.com

Material e Métodos

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Embrapa Meio-Norte, em Teresina, PI, no período de agosto a setembro de 2008, utilizando acessos da Coleção de Germoplasma de Bacurizeiro da Embrapa Meio-Norte.

Foram avaliados seis tempos (0, 24, 48, 72, 90 e 120h após a coleta do pólen) e duas formas de conservação (flor intacta e feixes estaminares) na germinação *in vitro* do pólen de quatro acessos de bacuri (BGB 221, BGB 615, BGB 1218 e BGB 4214). Utilizou-se o delineamento experimental inteiramente ao acaso em arranjo fatorial 6x2x4, com oito repetições.

Flores foram coletadas logo após a antese, acondicionadas em sacos plásticos e levadas ao laboratório de Cultura de Tecidos, onde foram separadas em dois grupos: um em que as flores permaneceram intactas, sem a remoção dos feixes estaminares, e outro em que as flores tiveram os feixes estaminares removidos. Em seguida, todo o material foi novamente acondicionado em sacos plásticos e conservado em geladeira (7°C). As avaliações da viabilidade do pólen foram efetuadas em períodos de 24 horas, sendo a avaliação no tempo 0 (pólen fresco) utilizada como padrão.

Utilizou-se na germinação *in vitro* do pólen meio de cultura constituído de 0,5% de Ágar e 7,5% de sacarose. A germinação foi realizada em placas de Petri de acrílico e antes de se verter o meio de cultura nas placas (aproximadamente 10 mL por placa), espalhou-se o pólen sobre a superfície da placa com o auxílio de um pincel fino. As placas de Petri contendo o pólen foram colocadas em sala de crescimento à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ por 2 horas no claro.

Avaliou-se a germinação por meio da contagem do número de grãos de pólen germinados e não germinados em oito campos de visão focalizados ao acaso, por placa, utilizando microscópio estereoscópico binocular com objetiva de aumento de 10x. Para efeito de contagem, considerou-se um número mínimo de 30 grãos de pólen por campo de visão focalizado, sendo que cada campo de visão correspondeu a uma repetição. Foram considerados como germinados os grãos de pólen cujos tubos polínicos apresentaram comprimento superior ao diâmetro do próprio pólen (SOUSA, 1988).

Submeteram-se os dados à análise de variância e compararam-se as médias de acessos e tempos de conservação pelo teste de Tukey a 5%. As médias de forma de conservação foram comparadas pelo teste F também a 5%.

Resultados e Discussão

A análise de variância não indicou efeito significativo ($P < 0,05$) da forma de conservação do pólen e das suas interações com acesso e tempo de conservação na germinação *in vitro* do pólen, indicando que tanto faz conservá-lo na flor intacta ou apenas nos feixes estaminares. Por outro lado, acesso e tempo de conservação, bem como a interação entre estes, tiveram efeitos significativos na germinação *in vitro* do pólen, cujos resultados após o desdobramento da análise de variância são apresentados na Tabela 1.

O uso do pólen fresco resultou nos maiores percentuais de germinação em todos os acessos, sem diferir, contudo, da conservação por 24 horas no caso dos acessos BGB 1218 (60,82% vs. 65,86%) e BGB 4214 (63,20% vs. 68,65%). Houve redução progressiva da germinação com o tempo de conservação do pólen para todos os acessos, sendo que essa redução acentuou-se a partir de 72 horas, com exceção do acesso BGB 4214, cuja germinação ainda alcançou 50,88% após esse período e 41,70% após 96 horas. Em média, após 120 horas de armazenamento o percentual de viabilidade foi insignificante. Em pêssago, de acordo com Raseira e Nakasu (2002), o pólen normalmente utilizado em hibridações deve ter germinação de pelo menos 30%. Isso indica que, no caso do bacurizeiro, é possível a utilização do pólen por até 48 horas depois da coleta das flores.

Oliveira *et al.* (2001) enfatizam que a diminuição na percentagem de pólenes viáveis pode estar relacionada a vários fatores, dentre os quais as condições de armazenamento, o recipiente usado no acondicionamento do pólen e a manipulação dos recipientes. Em vários trabalhos, a viabilidade do pólen armazenado é mantida por até dois anos, desde que os grãos de pólen sejam desidratados antes de armazenados (SOUSA, 1988). No caso do pólen de bacuri, no entanto, a secagem ainda é um problema a ser vencido, de forma a viabilizar seu armazenamento por períodos mais longos. De acordo com Arambuja (2008), nessa espécie os grãos de pólen são envoltos em substância oleosa que

aglomera os grãos numa massa viscosa, o que dificulta sua secagem e, como consequência, seu armazenamento por períodos mais longos.

No que se refere ao efeito de acessos, observa-se que os percentuais de germinação do pólen fresco não diferiram significativamente entre acessos. Após 24 horas, o acesso BGB 615 teve a menor média de germinação (46,80%), diferindo significativamente dos demais, os quais não diferiram entre si. Depois de 48, 72 e 96 horas de conservação, apenas o acesso BGB 4214 manteve percentuais satisfatórios de viabilidade, com 54,88%, 50,88% e 41,7%, respectivamente. Mesmo após 120 horas de conservação, a viabilidade do pólen do acesso BGB 4214 foi superior aos demais acessos, porém ainda assim muita baixa para se considerar esse pólen em condições de uso. Já no caso dos acessos BGB 221 e BGB 615, não houve pólen viável após nesse tempo de conservação.

Conclusões

1. A forma de conservação de bacuri não afetou a sua viabilidade.
2. Em média, os maiores índices de viabilidade são obtidos com o uso do pólen fresco. No entanto, em função do material genético utilizado, iguais índices de viabilidade podem ser obtidos com a conservação do pólen em geladeira por até 24 horas após a coleta das flores.
3. A viabilidade do pólen de bacuri é função do material genético utilizado e do tempo de conservação e, de forma geral, é possível a utilização do pólen por até 48 horas após a coleta das flores.

Referências

- ARAMBUJA, A.K. *Interações entre Platonía insignis (Clusiaceae) e a avifauna visitante floral no cerrado do Maranhão*. 2008. 63f. Tese (Mestrado em Ecologia) ó Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.
- ARROYO, M.T.K. Breeding systems and pollination biology in leguminosae. In: POLHILL, M.; RAVEN, P.H. (Ed.). *Advances in legumes systematics*. Kew: Royal Botanic Gardens, 1981. p.723-69.
- CALVALCANTE, P.B. *Frutas comestíveis da Amazônia*. 6.ed. Belém: CNPq/Museu Paraense Emílio Goeldi, 1996. 279p. (Coleção Adolpho Ducke).
- DAFNI, A. *Pollination ecology: a practical approach (the practical approach series)*. New York, Oxford University press, 1992. 250p.
- GALLETTA, G.J. Pollen and seed management. In: Moore, J.N.; Janick, J. (Ed.). *Methods in fruit breeding*. Lafayette: Purdue University Press, 1983. p.23-47.
- GUINET, P.H. *Advances in legume biology: structure evolution, and biology of pollen in Leguminosae*. St.Louis: Missouri Botanical Garden, 1989. 842 p.
- KEARNS, C.A.; INOUE, D. *Techniques for pollinations biologists*. Niwot, Colorado: University press of Colorado, 1993. 579p.
- MARCELLÁN, O.N.; CAMADRO, E.L. The viability of asparagus pollen after storage at low temperatures. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, v.67, p.101-104, 1996.
- OLIVEIRA, M. do S.P; MAUÉS, M.M.; KALUME, M.A. de A. Viabilidade de pólen *in vivo* e *in vitro* em genótipos de açazeiro. *Acta Botânica Brasilica, São Paulo*, v.15, n.1, p. 27-33, 2001.
- RASEIRA, M.C.B.; NAKASU, B.H. Pessegueiro. In: BRUCKNER, C.H. *Melhoramento de Fruteiras de Clima Temperado*. Viçosa: UFV, p.89-126, 2002.
- SHANLEY, P. *As the Forest falls: the changing use, ecology and value of non-timber forest resources for caboclo communities in eastern Amazonia*. 2000. 214f. Tese (Doutorado) ó The Durrel Institute of Conservation and Ecology, The University of Kent, Canterbury, 2000.
- SOUZA, V.A.B.; VASCONCELOS, L.F.L.; ARAÚJO, E.C.E.; ALVES, R.E. *Bacurizeiro (Platonía insignis Mart.)*. Jaboticabal: Funep, 2000. 72p. (Série Frutas Nativas, 11).

Tabela 1. Médias de germinação *in vitro* de pólen de quatro acessos de bacurizeiro em diferentes tempos de conservação

Acesso ¹	Tempos de conservação (h)						Média	C.V. (%)
	0	24	48	72	96	120		
	----- Germinação (%) -----							
BGB 221	70,50 aA	62,03 aB	48,47 abC	9,41 cD	0,87 bE	0,00 cE	31,88 bc	30,53
BGB 4214	68,65 aA	63,20 aA	54,88 aB	50,88 aB	41,70 aC	7,95 aD	47,88 a	19,76
BGB 1218	65,86 aA	60,82 aA	41,87 bB	20,55 bC	11,93 bD	4,17 bE	34,20 b	23,65
BGB 615	62,39 aA	46,80 bB	33,53 cC	17,31 bD	9,55 bE	0,00 cF	28,26 c	32,95
Média	66,85 A	58,21 B	44,69 C	24,53 D	16,01 E	3,03 F	35,55	-
C.V. (%)	14,30	20,54	23,70	22,13	46,46	72,80	-	-

¹ Médias seguidas da mesma letra minúscula na coluna e maiúscula na linha não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey a 5%