

VIABILIDADE DO PÓLEN DE MARACUJAZEIRO SOB DIFERENTES CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO¹

Cláudio Horst Bruckner²

Mairon Moura da Silva³

Tais de Moraes Falleiro⁴

Bruno Bernardes de Andrade⁵

Antonio Eustáquio Moreira⁵

RESUMO

A viabilidade do pólen de maracujazeiro armazenado sob diferentes condições de temperatura (ambiente, geladeira e congelador), com o uso ou não de dessecador, ao longo do tempo (0, 1, 2 e 7 dias), foi avaliada *in vitro*. O pólen foi coletado de flores previamente protegidas por sacos de papel, para evitar contaminação, e colocado em placas de Petri, vedadas com filme plástico, para ser então submetido aos tratamentos. Foram retiradas alíquotas de cada tratamento, nos períodos determinados, e colocadas em placas com meio para germinação, que permaneceram em estufa incubadora, com fotoperíodo constante e a 28 °C, por um período de 17-20 horas. O pólen teve melhor conservação na condição ambiente, por um dia, sem alterar significativamente a percentagem de germinação (50 %), que caiu a 26 % dois dias após a coleta. A utilização de baixas temperaturas e dessecador mostrou-se inadequada, reduzindo bruscamente a viabilidade do pólen desde o primeiro dia de armazenamento. Em decorrência dos resultados obtidos *in vitro*, procedeu-se à avaliação *in vivo*, polinizando-se flores com pólen recém-coletado e armazenado à temperatura ambiente por 24 e 48 horas. Os

¹ Aceito para publicação em 02.05.2000.

² Departamento de Fitotecnia, Universidade Federal de Viçosa, 36571-000 Viçosa, MG. bruckner@mail.ufv.br.

³ Estudante de Doutorado em Fitotecnia. Universidade Federal de Viçosa.

⁴ Estudante de Doutorado em Genética e Melhoramento. Universidade Federal de Viçosa.

⁵ Estudante de Agronomia. Universidade Federal de Viçosa.

resultados evidenciaram que o pólen manteve-se viável por até 24 horas após a coleta. A polinização com pólen armazenado durante 48 horas não resultou em frutificação.

Palavras-chaves: *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*, pólen, polinização, hibridação.

ABSTRACT

VIABILITY OF PASSION FRUIT POLLEN UNDER DIFFERENT STORAGE CONDITIONS

The viability of passion fruit pollen stored under different conditions was evaluated *in vitro* and *in vivo*. For the *in vitro* evaluation, the pollen grains were stored at room temperature, refrigeration (4 °C) and freezing (-10 °C), dried or not in a desiccator. Evaluation was done after 0, 1, 2 and 7 days. Pollen germination was more effective when the pollen was stored at room temperature until one day after collection (50 % germination), and poorer at the third day (26 %). Low temperatures and low humidity caused loss of germination. Further, pollen viability was evaluated *in vivo*, with fresh and stored (24 and 48 hours) pollen. Stored pollen was viable for 24 hours. No fruit set was obtained when pollination was done using 48 hour-old pollen.

Key words: *Passiflora edulis* f. *flavicarpa*, pollen, pollination, hybridization.

INTRODUÇÃO

O Brasil é o principal produtor mundial de maracujá. A cultura tem sido, de certa forma, itinerante, com grande variação de área plantada entre locais e ao longo do tempo. Os principais Estados produtores são Pará, Bahia, São Paulo, Sergipe, Rio de Janeiro, Ceará e Minas Gerais. As áreas plantadas variam de acordo com a procura e com os preços pagos pela fruta, pois sendo uma cultura de ciclo relativamente curto, essas variações são imediatas (8). Essa fruteira é predominantemente cultivada em pequenos pomares, de 1,0 a 4,0 ha/propriedade, onde os produtores conduzem a cultura com baixo nível tecnológico. Produtividades na faixa de 10 a 15 t/ha são facilmente obtidas. Com o emprego de técnicas culturais adequadas e variedades melhoradas pode-se chegar a produtividades superiores a 40 t/ha.

Os objetivos do melhoramento têm sido alta produtividade e vigor, resistência ou tolerância a pragas e doenças, adaptação ampla, frutos grandes, alto teor de suco, coloração amarelo-dourada do suco, alto teor de sólidos solúveis e de acidez e resistência a transporte e armazenamento (11). São ainda escassos os trabalhos de melhoramento na espécie. Utilizam-se seleções locais e algumas instituições têm realizado trabalhos de melhoramento, como o Instituto Agrônomo de Campinas (10), com cultivares já lançados. Em plantios comerciais de maracujá, as plantas

apresentam ampla variabilidade com relação a várias características, dentre as quais a produção por planta, vigor, tamanho do fruto e resistência a pragas e doenças.

cultura. Muitas vezes é necessário estocar o pólen em condições que o mantenham viável para uso subsequente em cruzamentos entre plantas de diferentes locais ou cujo período de florescimento não coincida (18).

Estudos sobre a viabilidade de pólen armazenado a ser utilizado em hibridações foram realizados em diversas espécies, principalmente de clima temperado, que tem maiores problemas devido à falta de coincidência de floração entre genótipos, tais como em macieira (20), morangueiro (24), nogueira-pecã (23), *Prunus* (13) e videira (12). Espécies de clima subtropical e tropical têm sido menos estudadas. Foram desenvolvidos alguns trabalhos com o abacateiro (17), os citros (16) e o coqueiro (21). Em bananeira, cujas flores estaminadas estão disponíveis por várias semanas em cada inflorescência, não tem sido necessário investigar técnicas de conservação de pólen (15). A capacidade de armazenamento varia entre as espécies. No geral, temperaturas baixas, em refrigeração (0 a 5 °C), congelamento (-5 a -20 °C) ou criopreservação (-196 °C) e baixa umidade relativa favorecem a manutenção da viabilidade do pólen armazenado por vários anos.

Com relação ao maracujazeiro, a ausência de informações e a necessidade de utilizar pólen armazenado, principalmente com a intensificação dos trabalhos de melhoramento, levaram à realização deste experimento, com o objetivo de verificar a viabilidade do pólen armazenado em diferentes condições ao longo do tempo.

MATERIAIS E MÉTODOS

Os grãos de pólen foram coletados de flores de maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*), no pomar do Departamento de Fitotecnia da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, MG. No período da manhã, procuraram-se botões que mostrassem na extremidade, entre as sépalas verdes, coloração branca das pétalas, indicando que provavelmente abririam à tarde (2). Esse botões foram recobertos com sacos de papel para impedir a visita de insetos polinizadores, evitando-se perda e mistura com o pólen trazido de outras espécies. À tarde, por volta das 14 horas, os botões foram coletados, ainda envoltos pelos sacos de papel, levados ao laboratório

para selecionar as flores que estivessem abertas, e, então, coletar o pólen. Os grãos de pólen foram separados das anteras com o auxílio de palitos de madeira e transferidos para placas de Petri.

Avaliação in vitro

Distribuíram-se os grãos de pólen em seis placas de Petri, que foram submetidas a três temperaturas de armazenamento: 27 °C (ambiente), 4 °C (geladeira) e -10 °C (congelador), colocadas ou não em dessecador. Os tratamentos foram mantidos até a avaliação, realizada a 0, 1, 2 e 7 dias após a instalação do experimento. Foi utilizado o esquema fatorial 3 x 2 (três temperaturas de armazenamento: 27 °C, 4 °C e -10 °C; em dessecador ou sem controle de umidade), com parcelas subdivididas (quatro períodos de armazenamento: 0, 1, 2 e 7 dias); e em delineamento inteiramente casualizado, com três repetições.

A viabilidade dos grãos de pólen foi avaliada em quatro épocas: 0, 1, 2 e 7 dias após a coleta, segundo metodologia descrita por Silva et al. (18). Após os períodos definidos acima, de cada tratamento foi retirada pequena quantidade de pólen para ser analisada. Essas alíquotas foram colocadas em placas de Petri contendo o meio de germinação previamente autoclavado, permanecendo na estufa incubadora, com fotoperíodo constante de 24 horas e temperatura de 28 °C, para garantir boa condição de germinação ao grão de pólen. O meio de cultura utilizado foi composto de 0,10 g/L de H₃BO₃, 50 g/L de sacarose, 0,3 g/L de Ca(NO₃)₂.4H₂O, 0,2 g/L MgSO₄.7H₂O e 0,1 g/L de KNO₃. O meio de germinação foi autoclavado a 121 °C, por 15 minutos, e vertido nas placas de Petri com 9 cm de diâmetro e 2 cm de altura. Essas placas foram previamente lavadas e autoclavadas a 121 °C, por 30 minutos.

Após 10 – 17 horas de incubação dos grãos de pólen, foram feitas análises em microscópio óptico com aumento de 40 vezes, a fim de se observar os grãos de pólen que produziram tubo polínico (18). Foram contados grãos de pólen germinados e não-germinados em três campos do microscópio por placa, sendo estes escolhidos ao acaso. Considerou-se que o tubo polínico estava formado quando ele apresentava o comprimento maior ou igual ao diâmetro do grão de pólen.

Avaliação in vivo

Diante dos resultados da avaliação *in vitro*, instalou-se um experimento para verificar se *in vivo* os resultados seriam confirmados. O pólen coletado de flores em antese de uma planta foi utilizado para polinizar

flores no mesmo dia, 24 horas e 48 horas após a coleta (tratamentos). Para receber o pólen, foram selecionadas três plantas compatíveis com a primeira, e cada uma delas foi considerada um bloco, recebendo pólen de todos os tratamentos, em torno de cinco polinizações cada. Os dados foram expressos em médias mais ou menos o erro-padrão da média (6).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Avaliação in vitro

Houve efeito dos tratamentos na viabilidade dos grãos de pólen, considerados isoladamente ou suas interações (Quadro 1).

QUADRO 1 - Análise de variância da porcentagem de grãos de pólen de maracujazeiro submetidos a diferentes condições de armazenamento ao longo do tempo		
Fonte de variação	Graus de liberdade	Quadrados médios
Temperatura	2	353,9720**
Dessecador	1	1468,6390**
Dessecador x Temperatura	2	394,9180**
Erro (a)	12	48,1460
Tempo	3	12196,7600**
Tempo x Temperatura	6	160,9053**
Tratamento x Dessecador	3	505,0137**
Tempo x Dessec. x Temperatura.	6	340,0766**
Resíduo	36	26,7188
*Significativo pelo teste F (P<0,05) Coeficiente de variação: 25,63 %		

O pólen utilizado no experimento apresentava, em média, 58,30 % de germinação no dia da antese, não havendo boa conservação durante o armazenamento (Quadro 2). O pólen teve melhor conservação na condição ambiental (temperatura ambiente, sem dessecador), ocorrendo relação linear negativa entre a porcentagem de germinação e o tempo de armazenamento ($Y' = 52,61 - 7,84x$, $r^2 = 0,92$), não tendo sido possível ajustar nenhum modelo ao se utilizar o dessecador. O armazenamento em baixa temperatura não se mostrou adequado, reduzindo a germinação.

QUADRO 2 - Médias de porcentagem de germinação do grão de pólen do maracujazeiro em função do tempo e das condições de armazenamento

Tempo	Armazenamento em dessecador	Temperatura de armazenamento		
		Ambiente (27 °C)	Geladeira (4 °C)	Congelador (-10 °C)
Zero	Não ¹	55,62 aA ²	54,19 aA	63,95 aA
	Sim	62,25 aA	56,99 aA	56,38 aA
1 dia	Não	50,04 aA	20,72 bA	5,37 cA
	Sim	0,00 aB	4,31 aB	7,85 aA
2 dias	Não	26,42 aA	16,73 aA	0,00 bA
	Sim	0,00 aB	0,00 aB	0,00 aA
7 dias	Não	0,00 aA	3,31 aA	0,00 aA
	Sim	0,00 aA	0,00 aA	0,00 aA

¹ Armazenamento sem controle de umidade.

² As médias seguidas pela mesma letra minúscula, na linha, e maiúscula, na coluna e dentro do tempo de armazenamento, não diferem entre si pelo teste de Tukey (P<0,05).

A utilização de dessecador no armazenamento prejudicou a germinação do pólen. Vale et al. (22) testaram o uso de sílica gel para retirar a umidade, na tentativa de prolongar a viabilidade do pólen de pessegueiro, mantido em temperatura ambiente. O melhor resultado apresentado foi o da testemunha, avaliada no mesmo dia da coleta, com 64,95 % de germinação. O uso da sílica gel não beneficiou a conservação do pólen. Já, segundo King e Hesse (7), o pólen do pessegueiro pode ser conservado por um período de um a dois anos à temperatura de 0 – 2 °C e 25% de umidade relativa.

A temperatura e a umidade baixas não se mostraram, nas condições deste trabalho, adequadas para o armazenamento do pólen de maracujazeiro, ao contrário do que foi verificado para outras espécies (5, 19). Entretanto, visando armazenamento por períodos maiores, os estudos deverão ser intensificados, uma vez que a reidratação adequada é importante para que se obtenha avaliação mais acurada da viabilidade do pólen (4)

O tratamento que proporcionou maior longevidade ao grão de pólen, até 24 horas após a coleta, foi o armazenamento em temperatura ambiente e sem controle de umidade, com percentagem de germinação igual a 50,04 %, seguido pelo armazenamento em geladeira, com 20,72 % (Quadro 2). Embora o armazenamento por vários dias não tenha se mostrado viável, é possível coletar o pólen num dia para realizar a polinização no dia seguinte, armazenando-o em condições de temperatura ambiente. No segundo dia após a coleta, com armazenamento em temperatura ambiente e fora do dessecador, a viabilidade mostrou-se bastante reduzida (26,42 %).

Avaliação in vivo

Com base nos resultados da polinização *in vivo* (Quadro 3), verifica-se que a polinização pode ser feita até 24 horas após a coleta do pólen, confirmando os resultados observados *in vitro*. A possibilidade de conservação por 24 horas, em condições ambientais, é muito importante, pois permite maior flexibilidade na realização de hibridações, permitindo, por exemplo, a realização de cruzamentos entre plantas situadas em diferentes locais ou entre espécies cujos horários de abertura das flores não coincidam.

QUADRO 3 - Frutificação do maracujazeiro, como resultado da polinização com pólen fresco e armazenado durante 24 e 48 horas	
Tempo de armazenamento (horas)	Frutificação (%)
0	60,0 ± 13,9
24	71,9 ± 11,1
48	0,0 ± 0,0

CONCLUSÕES

A viabilidade do pólen foi prejudicada pela exposição a baixas temperaturas (4 e -10 °C) e pelo armazenamento em dessecador.

Em temperatura ambiente (27 °C), colocado em placas de Petri, sem controle de umidade, o pólen permaneceu viável por 24 horas após a coleta.

REFERÊNCIAS

- BRUCKNER, C.H.; CASALI, V.W.D.; MORAES, C.F. de; REGAZZI, A.J. & SILVA, E.A.M. da. Self-incompatibility in passion fruit (*Passiflora edulis* Sims). *Acta Horticulturae*, 370: 45-57, 1995.

2. BRUCKNER, C.H. & OTONI, W.C. Hibridação em maracujá. In: Borém, A. (ed.). Hibridação artificial em plantas. Viçosa, Editora UFV, 1999. p. 379-99.
3. CAMILLO, E. Polinização do maracujazeiro. In: Ruggiero, C. (ed.). Cultura do maracujazeiro. Ribeirão Preto, Legis Summa, 1987. p. 97-103.
4. CONNOR, K. F. & TOWILL, L. E. Pollen-handling protocol and hydration/dehydration characteristics of pollen for application to long-term storage. *Euphytica*, 68: 77-84, 1993.
5. GALLETTA, G.J. Pollen and seed management. In: Moore, J.N & Janick, J. (eds.) *Methods in fruit breeding*. West Lafayette, Purdue University Press, 1983. p. 23-47.
6. GOMES, F. P. Curso de estatística experimental. 12^a. ed. São Paulo, Livraria Nobel, 1987. 467 p.
7. KING, J. R. & HESSE, C. O. Pollen longevity studies with deciduous fruits. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, 36: 310-3, 1938.
8. LANDGRAF, H. A situação da cultura do maracujazeiro no Brasil e suas perspectivas no mercado externo. In: São José, A.R.; Ferreira, F.R. & Vaz, R.L. (eds.). *A cultura do maracujá no Brasil*. Jaboticabal, FUNEP, 1991. p.1-17.
9. LEONE, N.R.F.M. de. Polinização do maracujazeiro (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.) em Araguari-MG. Viçosa, UFV, 1990. 76 p. (Tese de mestrado).
10. MELETTI, L.M.M.; SANTOS, R.R dos & MINAMI, K. Híbridos IAC de maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa*) – Características produtivas. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 15, Poços de Caldas, 1998. Resumos, UFLA, 1998. p. 578.
11. OLIVEIRA, J. C. DE & FERREIRA, F.R. Melhoramento genético do maracujazeiro. In: São José, A.R.; Ferreira, F.R. & Vaz, R.L. (eds.). *A cultura do maracujá no Brasil*. Jaboticabal, FUNEP, 1991. p.211-39.
12. OLMO, H.P. Storage of grape pollen. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science*, 41: 219-24, 1942.
13. PARFITT, D. E. & ALMEHDL, A. A. Liquid nitrogen storage of pollen from five cultivated *Prunus* species. *HortScience*, 19: 69-70, 1984.
14. RÊGO, M.M. do; BRUCKNER, C.H.; SILVA, E.A.M. da; FINGER, F.L.; SIQUEIRA, D.L. de & FERNANDES, A.A. Self-incompatibility in passion fruit: evidence of two loci genetic control. *Theoretical and Applied Genetics*, 98: 564-8, 1999.
15. ROWE, P. & ROSALES, F.E. Bananas and plantains. In: Janick, J, & Moore, J. N. (eds.). *Fruit breeding: tree and tropical fruits*. New York, John Wiley & Sons, 1995. p. 167-211.
16. SAHAR, N. & SPIEGEL-ROY, P. Citrus pollen storage. *HortScience*, 15: 81-2, 1980.
17. SEDGLEY, M. Storage of avocado pollen. *Euphytica*, 30: 595-9, 1981.
18. SILVA, M.M.; BRUCKNER, C.H.; PICANÇO, M. & CRUZ, C.D. Fatores que afetam a germinação do grão de pólen do maracujá: meios de cultura e tipos de agrotóxicos. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, 34: 347-52, 1999.
19. SINGH, R.N., RANDHAWA, G.S. & SHARMA, D.K. Pollen storage and pollen germination in fruits crops – a review. *Indian Journal of Horticulture*, 18: 85-96, 1961.
20. STÖSSER, R. & ANVARI, S.F. Wie lange ist Apfelpollen befruchtungsfähig? *Erwerbsobstbau*, 37: 37-9, 1995.
21. SUGIMURA, Y. & WATANABE, T. Flowering patterns of coconut and conditions for pollen processing. *Japanese Journal of Tropical Agriculture*, 37: 77-83, 1993.
22. VALE, M.R.; RAMOS, J.D.; OLIVEIRA JUNIOR, A.F.; CHALFUN, N.N.J. & PASQUAL, M. Influência do tempo de armazenamento na germinação dos grãos de pólen de pessegueiro cv. Aurora. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, 14, Curitiba, 1996. Resumos, IAPAR, 1996, p.372.

23. YATES, I. E.; SPARKS, D.; CONNOR, K. & TOWILL, L. Reducing pollen moisture simplifies long-term storage of pecan pollen. *Journal of the American Society for Horticultural Science*, 113: 430-4, 1991.
24. ZEBROWSKA, J. The viability and storage of strawberry pollen. *Plant Breeding*, 114: 469-70, 1995.