

## Notas Científicas

### Conservação e desengorduramento de grãos de pólen de bacurizeiro

Ellen de Moura Vale<sup>(1)</sup>, Valdomiro Aurélio Barbosa de Souza<sup>(2)</sup>, Sulimary Oliveira Gomes Moreira<sup>(3)</sup>,  
Lúcio Flavo Lopes Vasconcelos<sup>(4)</sup>, Alane Rosane Castro Guimarães<sup>(3)</sup>  
e Maria do Perpetuo Socorro Damasceno Costa<sup>(5)</sup>

<sup>(1)</sup>Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Avenida Alberto Lamego, nº 2.000, Parque Califórnia, CEP 28013-602 Campos dos Goytacazes, RJ, Brasil. E-mail: ellenmoura27@hotmail.com <sup>(2)</sup>In memoriam <sup>(3)</sup>Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Petrônio Portela, s/nº, Ininga, CEP 64049-550 Teresina, PI, Brasil. E-mail: sgomes\_pi@hotmail.com, agrolane@hotmail.com <sup>(4)</sup>Embrapa Meio Norte, Avenida Duque de Caxias, nº 5.650, CEP 64006-220 Teresina, PI, Brasil. E-mail: lucio.vasconcelos@embrapa.br <sup>(5)</sup>Universidade Federal da Paraíba, Rodovia PB-079, CEP 58397-000 Areia, PB, Brasil. E-mail: agro26@yahoo.com.br

Resumo – O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito de métodos de extração da oleosidade de grãos de pólen de bacurizeiro (*Platonia insignis*), sobre sua viabilidade. Avaliaram-se sete tratamentos para a extração de lipídios do pólen, cinco deles por imersão em éter de petróleo por 30 s (T1), 60 s (T2), 300 s (T3), 600 s (T4), e 900 s (T5), e dois por imersão em 25% de álcool e 75% de éter petróleo por 60 s (T6) e 900 s (T7); e um tratamento-controle, sem a adição de solventes. Posteriormente, os grãos de pólen desengordurados foram submetidos a um teste de germinação in vitro. Os grãos de pólen submetidos a T2, T3, T4 e T5 apresentaram teores de lipídios menores do que o do tratamento-controle. O tratamento T2 promoveu a maior germinação dos pólenes.

Termos para indexação: *Platonia insignis*, Clusiaceae, armazenamento de pólen, viabilidade do pólen.

#### Conservation and degreasing of bacury pollen grains

Abstract – The objective of this work was to evaluate the effect of methods of oil extraction from bacury (*Platonia insignis*) pollen grains, on their viability. Seven treatments were evaluated for lipid extraction of pollen grains, five of which by immersion in petroleum ether for 30 s (T1), 60 s (T2), 300 s (T3), 600 s (T4), and 900 s (T5), and two treatments by immersion in 25% alcohol and 75% petroleum ether for 60 s (T6) and 900 s (T7); besides a control without solvents. Subsequently, degreased pollen grains were subjected to an in vitro germination test. Pollen grains subjected to T2, T3, T4, and T5 showed lower lipid content than the control treatment. The T2 treatment provided the highest germination of pollen.

Index terms: *Platonia insignis*, Clusiaceae, pollen storage, pollen viability.

O bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.) é uma espécie arbórea, nativa da Amazônia oriental brasileira (Souza et al., 2013), que apresenta elevado valor socioeconômico.

A espécie é predominantemente alógama, com autoincompatibilidade esporofítica e apresenta flores grandes, actinomorfas e hermafroditas, (Saraiva et al., 2013). Nos Estados do Piauí e Maranhão, a floração ocorre de julho a outubro, no entanto, ela pode variar nas demais regiões (Souza et al., 2000).

O armazenamento do grão de pólen é uma estratégia importante para preservar a viabilidade dos gametas masculinos, por diferentes períodos, em condições artificiais, pois permite o cruzamento de acessos de ciclos diferentes e que o pólen esteja sempre disponível quando requerido (Franzon & Raseira,

2006). No entanto, o armazenamento do pólen de bacuri é inviabilizado pela presença de uma substância oleosa (lipídica), que aglomera os grãos em uma massa viscosa (Souza et al., 2013).

Nos últimos anos, estudos sobre a viabilidade polínica do bacurizeiro foram realizados (Sinimbu Neto et al., 2011; Souza et al., 2013) para testar as melhores condições para a germinação do pólen de bacuri. No entanto, na literatura, não se encontraram metodologias para a conservação do pólen do bacurizeiro, cujo armazenamento é difícil; ademais, trata-se de uma espécie com informações técnicas limitadas.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar o efeito de métodos de extração da oleosidade de grãos de

pólen, de bacurizeiro (*Platonia insignis*), sobre sua viabilidade.

As flores foram coletadas após a antese, em plantas de bacurizeiro pertencentes ao Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte. O pólen foi obtido de flores coletadas após a antese e prontamente utilizadas. Em seguida, foram acondicionadas em sacos de plástico e transportadas para o Laboratório de Cultura de Tecido, em Teresina, PI, onde foi realizada a extração do pólen.

Para avaliar a extração de lipídios do pólen, utilizaram-se os seguintes tratamentos: controle, sem imersão em solvente; imersão em 100% de éter de petróleo P.A, por 30 s (T1), 60 s (T2), 300 s (T3), 600 s (T4), 900 s (T5); e imersão em 25% de álcool e 75% de éter petróleo, por 60 s (T6) e 900 s (T7).

A extração de lipídios foi feita por meio da adição dos solventes às estruturas estaminais, seguida da agitação em béquer de 250 mL. A filtração foi realizada em funil com papel-filtro, onde o pólen permaneceu por 24 horas até sua total secagem.

Posteriormente, realizou-se a análise do extrato etéreo (teor de lipídios), a partir de um extrator Soxhlet, com uso de éter de petróleo P.A. como solvente. Após a extração e remoção do solvente, o teor de lipídios foi determinado gravimetricamente, conforme Helrich (1990). O pólen desengordurado foi submetido a teste de viabilidade por germinação *in vitro*, em meio de cultura com 7,5% de sacarose e 0,5% de ágar, como descrito por Souza et al. (2013). O pólen proveniente do tratamento T2, que obteve o melhor desempenho de viabilidade polínica após o desengorduramento, foi, então, armazenado em freezer a -20 °C, para a verificação da viabilidade do pólen desengordurado, ao longo de 450 dias. Os testes de viabilidade foram realizados a cada 90 dias de armazenamento.

Para avaliar a extração do pólen, utilizou-se o delineamento experimental inteiramente ao acaso, com oito tratamentos e três repetições, cada uma composta por 1 g de pólen. Para os testes de viabilidade, logo após a extração de lipídios e armazenamento, utilizaram-se seis tratamentos (tempo de armazenamento), com dez repetições.

Avaliou-se a viabilidade do pólen por meio da contagem do número de grãos de pólen germinados e não germinados, por placa, em dez campos de visão focalizados ao acaso, em um microscópio 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, em que cada campo correspondeu a uma repetição. Consideraram-se germinados os grãos de pólen cujos tubos polínicos apresentaram comprimento superior ao diâmetro do próprio pólen.

Os dados foram submetidos à análise de variância: as médias dos tratamentos de extração de lipídios e de viabilidade do pólen, após a extração de lipídios, foram comparadas pelo teste de Tukey, a 1% de probabilidade; e o efeito do tempo de armazenamento do pólen sobre a viabilidade foi avaliado por análise de regressão, por meio dos pacotes estatísticos R (R Core Team, 2014) e easyanova (Arnhold, 2013).

Houve diferença significativa entre os tratamentos de extração de lipídios quanto à viabilidade do pólen, como também para a conservação do pólen desengordurado ao longo do armazenamento.

O tratamento-controle, sem imersão em solvente, apresentou teor de lipídios de 46,75%, que é significativamente maior do que os outros tratamentos. Os tratamentos mais eficientes para o decréscimo do teor de lipídios do pólen foram T2, T3, T4 e T5, que diferiram estatisticamente de T7. Os tratamentos T1 e T6 apresentaram efeito intermediário e não diferiram dos outros tratamentos com solvente (Figura 1). Os tempos de imersão em éter de petróleo, utilizados no presente trabalho, não afetaram a extração dos lipídios do pólen (Figura 1).

A associação do éter de petróleo e álcool etílico, no tratamento T7, foi menos eficiente na extração dos lipídios, uma vez que os tratamentos que utilizavam apenas o éter de petróleo proporcionaram melhor extração. O melhor desempenho do éter de petróleo puro pode ser atribuído à sua capacidade superior para extrair substâncias apolares, como os lipídios (Martins et al., 2013).

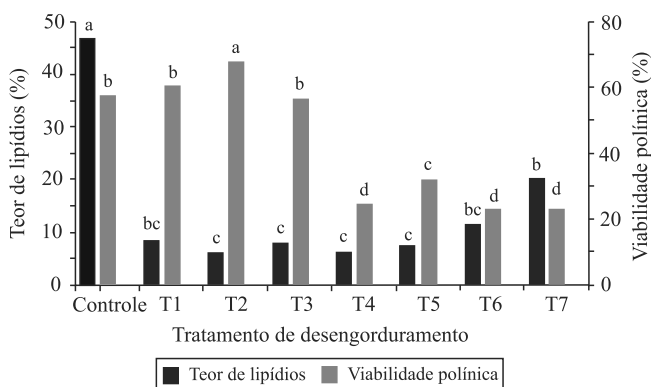
Nos testes de viabilidade, os grãos de pólen provenientes do tratamento T2 (imersão em éter de petróleo por 60 s) apresentaram a maior percentagem de germinação (67,08%) e foram, portanto, superiores estatisticamente a todos os demais tratamentos (Figura 1). O controle T1 e o tratamento T3 apresentaram comportamento semelhante entre si e superiores aos tratamentos T4 ao T7. Estes resultados mostram que não houve perda significativa da viabilidade do pólen no tratamento T2, em comparação a outros trabalhos que avaliaram a germinação do pólen fresco de bacuri, como o de Souza et al. (2013), que obtiveram

viabilidade máxima de 71,1%, e foram superiores aos encontrados por Sinimbú Neto et al. (2011), que obtiveram viabilidade máxima de 42,6%; esses autores utilizaram meio de cultura com 7,5% de sacarose.

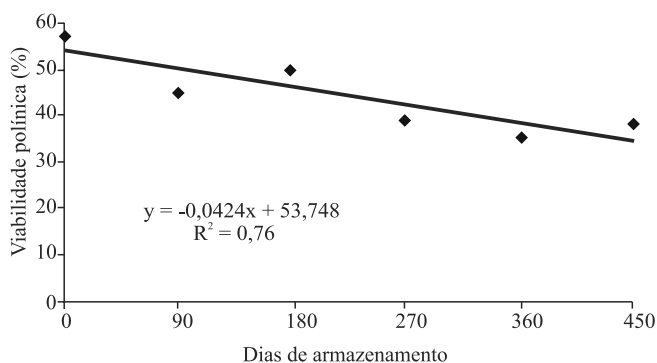
Para o armazenamento do pólen de bacurizeiro, houve ajuste de um modelo linear ( $R^2 = 0,76$ ) que permitiu observar um decréscimo da viabilidade do pólen ao longo do tempo; no entanto, esse decréscimo não foi drástico, já que se iniciou com 57,0% no tempo zero e, ao final de 450 dias de armazenamento, o pólen apresentava viabilidade de 38,27% (Figura 2).

Os resultados obtidos neste trabalho corroboram os de Pham et al. (2015), que conseguiram conservar o pólen de longana (*Dimocarpus longan*) a  $-20\text{ }^\circ\text{C}$ , por um ano. No entanto, Franzon et al. (2007) não conseguiram conservar o pólen de outras espécies frutíferas, como a pitangueira (*Eugenia uniflora*), por mais de 105 dias. O armazenamento de espécies como manga (*Mangifera indica*) e lichia (*Litchi chinensis*) só foi possível com uso de um ultrafreezer, a  $-80\text{ }^\circ\text{C}$ , o que demanda maior custo para a conservação do pólen.

A avaliação da viabilidade polínica é um fator importante, pois interfere diretamente no pegamento dos frutos (Nascimento et al., 2012). De acordo com Einhardt et al. (2006), grãos de pólen com até 30% de germinação podem ser utilizados em hibridações;



**Figura 1.** Teor de lipídios do pólen de bacurizeiro, submetido a diferentes tratamentos de extração de lipídios, e viabilidade do pólen após a extração de lipídios. Tratamentos: controle, sem a adição de solventes; imersão em éter de petróleo por 30 s (T1), 60 s (T2), 300 s (T3), 600 s (T4) e 900 s (T5); imersão em 25% de álcool e 75% de éter petróleo por 60 s (T6) e 900 s (T7). Letras iguais não diferem entre si, pelo teste de Tukey, a 1% de probabilidade. Teor de lipídios: CV = 17%, n=3. Viabilidade: CV = 13,3%; n=10.



**Figura 2.** Viabilidade do pólen de bacurizeiro, após tratamento de imersão em éter de petróleo por 60 s (T2), ao longo de 450 dias de armazenamento em freezer a  $-20\text{ }^\circ\text{C}$ . CV = 17,6%;  $p < 0,01$ ; n=10.

assim, os pólenes de bacuri armazenados por 450 dias são viáveis para utilização.

O uso do éter de petróleo por um minuto é eficiente na extração de lipídios do pólen, sem comprometer sua viabilidade. Os grãos de pólen desengordurados podem ser mantidos e utilizados em hibridações controladas por um período de até 450 dias. Assim, um método simples foi concebido para o desengorduramento e armazenamento do pólen de bacuri e permitiu a sua utilização em hibridações controladas.

## Agradecimentos

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), pela concessão de bolsas.

## Referências

- ARNHOLD, E. Package in the R environment for analysis of variance and complementary analyses. **Brazilian Journal of Veterinary Research and Animal Science**, v.50, p.488-492, 2013. DOI: 10.11606/issn.1678-4456.v50i6p488-492.
- EINHARDT, P.M.; CORREA, E.R.; RASEIRA, M. do C.B. Comparação entre métodos para testar a viabilidade de pólen de pessegueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.28, p.5-7, 2006. DOI: 10.1590/S0100-29452006000100004.
- FRANZON, R.C.; RASEIRA, M. do C.B. Germinação *in vitro* e armazenamento do pólen de *Eugenia involucrata* DC (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.28, p.18-20, 2006. DOI: 10.1590/S0100-29452006000100008.
- FRANZON, R.C.; RASEIRA, M. do C.B.; WAGNER JÚNIOR, A. Testes de germinação *in vitro* e armazenamento de pólen de

pitangueira (*Eugenia uniflora* L.). **Acta Scientiarum. Agronomy**, v.29, p.251-255, 2007. DOI: 10.4025/actasciagron.v29i2.267.

HELDRICH, K. **Official methods of analysis of the AOAC**. 15<sup>th</sup> ed. Arlington: Association of Official Analytical Chemists, 1990. 1298p.

MARTINS, C.R.; LOPES, W.A.; ANDRADE, J.B. de. Solubilidade das substâncias orgânicas. **Química Nova**, v.36, p.1248-1255, 2013. DOI: 10.1590/S0100-40422013000800026.

NASCIMENTO, W.M.; GOMES, E.M.L.; BATISTA, E.A.; FREITAS, R.A. Utilização de agentes polinizadores na produção de sementes de cenoura e pimenta doce em cultivo protegido. **Horticultura Brasileira**, v.30, p.494-498, 2012. DOI: 10.1590/S0102-05362012000300023.

PHAM, V.T.; HERRERO, M.; HORMAZA, J.I. Effect of temperature on pollen germination and pollen tube growth in longan (*Dimocarpus longan* Lour.). **Scientia Horticulturae**, v.197, p.470-475, 2015. DOI: 10.1016/j.scienta.2015.10.007.

R CORE TEAM. **R: a language and environment for statistical computing**. Vienna: R Foundation for Statistical Computing, 2014.

Disponível em: <<http://www.r-project.org/>>. Acesso em: 23 fev 2014.

SARAIVA, R.V.C.; ALBUQUERQUE, P.M.C. de; GIRNOS, E.C. Floral and vegetative morphometrics of three *Platonia insignis* Mart. (Clusiaceae) populations, a native tree from the Brazilian Amazon. **Plant Biosystems**, v.148, p.1-9, 2013. DOI: 10.1080/11263504.2013.791648.

SINIMBÚ NETO, F. de A.; MARTINS, A.B.G.; BARBOSA, J.C. Viabilidade *in vitro* de grãos de pólen de bacurizeiro - Clusiaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.3, p.593-600, 2011. DOI: 10.1590/S0100-29452011005000062.

SOUZA, V.A.B. de; VALE, E. de M.; GOMES, S.O.; COSTA, M. do P.S.D.; GUIMARÃES, A.R.C. Efeito da concentração de sacarose na germinação *in vitro* do pólen de cinco acessos de bacurizeiro (*Platonia insignis* MART.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.35, p.677-684, 2013. DOI: 10.1590/S0100-29452013000300003.

SOUZA, V.A.B. de; VASCONCELOS, L.F.L.; ARAÚJO, E.C.E.; ALVES, R.E. **Bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.)**. Jaboticabal: Funep, 2000. 72p.

---

Recebido em 18 de setembro de 2015 e aprovado em 20 de janeiro de 2016