

VIABILIDADE DO PÓLEN DE LARANJAS DOCES EM DIFERENTES CONDIÇÕES DE ARMAZENAMENTO

Viability of citrus pollen in different storage conditions

Leila Aparecida Salles Pio¹, José Darlan Ramos², Moacir Pasqual², Keize Pereira Junqueira³, Flavia Carvalho Santos⁴, José Carlos Morais Rufini⁵

RESUMO

O presente trabalho foi realizado visando avaliar a viabilidade de grãos de pólen armazenados das cultivares copas cítricas Natal, Pêra e Valência. O pólen foi submetido a 3 temperaturas de armazenamento: -10°C (*freezer*), 4°C (refrigerador) e temperatura ambiente; 2 ambientes (com e sem dessecador) e na presença e ausência de sílica-gel. A avaliação do índice de germinação foi feita com o pólen fresco e a cada 7 dias, durante 9 semanas. Para avaliar a germinação foi utilizado meio constituído de 1% de ágar e 10% de sacarose, 800 mg L⁻¹ de nitrato de cálcio (Ca(NO₃)₂·4H₂O), 200 mg L⁻¹ de Ácido Bórico (H₃BO₃) e pH corrigido para 6,5. Os grãos de pólen foram incubados à temperatura de 25 ± 2°C por 12 horas. As avaliações foram realizadas através da porcentagem de grãos de pólen germinados. Constatou-se que os grãos de pólen possuem redução na viabilidade com o aumento do tempo de armazenamento; o armazenamento em *freezer* (-10°C) foi mais eficiente do que em refrigerador (4°C) e à temperatura ambiente. Melhores resultados foram alcançados com os tratamentos em freezer com sílica-gel dentro de dessecador e em freezer sem sílica-gel dentro de dessecador. A cultivar Valência apresentou-se superior às demais em todos os tratamentos.

Termos para indexação: *Citrus sinensis*, Palinologia, cultura de tecidos, melhoramento genético.

ABSTRACT

The present work was accomplished to evaluate the effects of storage on the viability of pollen grains from Natal, Pêra and Valência cultivars of sweet oranges. The grains were stored at 3 temperatures: -10°C (freezer), 4°C (refrigerator), and room temperature; 2 environments (with or without desiccator) and in the presence or absence of silica-gel. The germination was evaluated every 7 days, during 9 weeks. To evaluate the germination, a medium consisting of 1% and sucrose 10%, 800 mg L⁻¹ calcium nitrate (Ca(NO₃)₂·4H₂O), 200 mg L⁻¹ boric acid (H₃BO₃) and pH 6.5 was used. The pollen was incubated at 25 ± 2°C temperature for 12 hours. The evaluation was performed using the percentage of pollen grains germinated. It was observed that pollen grains viability diminished as the storage time increased; the storage in freezer temperature (-10°C) was much more efficient than in refrigerator (4°C) and in room temperature. The best results were reached when freezer and desiccator were used. Valência cultivar was superior when compared with the others, in all treatments.

Index terms: *Citrus sinensis*, Palinology, tissue culture, improvement varieties.

(Recebido para publicação em 23 de outubro de 2003 e aprovado em 27 de abril de 2004)

INTRODUÇÃO

O armazenamento, como meio de manutenção da viabilidade do pólen, é uma ferramenta valiosa empregada por melhoristas e geneticistas. O armazenamento de pólen justifica-se em programas de hibridação quando há defasagem no florescimento entre as espécies de interesse, ou quando os mesmos se encontram em regiões distintas.

A maioria dos métodos empregados envolve a redução do teor de umidade e a manutenção do pólen à baixa temperatura, de modo que oscilações sejam evitadas. O teor de umidade do pólen é um dos fatores mais importantes envolvendo o armazenamento e normalmente

encontra-se negativamente relacionado à longevidade (SOUSA, 1988). O baixo teor de umidade do pólen (8 a 10%), quando armazenado, propicia boa longevidade, independente do método de armazenamento (SPRAGUE & JOHNSON, 1977). Um outro fator importante a ser destacado no armazenamento de pólen é a composição da atmosfera que o envolve (umidade relativa, concentração de gases, vácuo etc.).

O emprego de baixas temperaturas também influencia no armazenamento e normalmente encontra-se ligado à redução do metabolismo do pólen, o que propicia maior longevidade. Pode-se conseguir redução de temperatura por meio de refrigeradores e *freezers*, que são de fácil acesso.

¹Engenheira Agrônoma, Mestre em Fitotecnia – Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37.200-000 – Lavras, MG – leilapio@ufla.com.br

²Professor da Universidade Federal de Lavras/UFLA – Departamento de Agricultura/DAG – Cx. P. 3037 – 37.200-000 – Lavras, MG.

³Embrapa Cerrados – BR 020 Km 18 – 73310-970 – Planaltina, DF.

⁴Estudante de Agronomia da Universidade Federal de Lavras/UFLA – Cx. P. 3037 – 37.200-000 – Lavras, MG.

⁵Engenheiro Agrônomo, Doutor em Fitotecnia – UNIVALE – Cx. P. 295 – 35020-220 – Governador Valadares, MG.

A redução da umidade por meio da combinação de vácuo e sílica-gel é destacada por Arlgren & Arlgren (1978). Os autores armazenaram o pólen de *Pinus* com sucesso durante 8 anos, após tê-lo submetido à dessecação sobre sílica-gel em um congelador por 48 horas. Como parte do processo aplicaram vácuo de 2 mmHg por um período de 20 a 30 minutos e armazenaram o pólen em ampolas à temperatura de 5°C.

Em trabalhos com *Delphinium* (esporinha), Honda et al. (2002) preservaram pólen com sílica-gel, verificando que após 180 dias houve alta taxa de germinação e bom crescimento de tubo polínico. Por outro lado, pólen armazenado a 25°C teve diminuição significativa na taxa de germinação dentro de 10 dias.

Sprague & Johnson (1977) destacaram cinco métodos de armazenamento de pólen: em refrigerador a 2°C sob vácuo, em refrigerador a 2°C em frascos tampados com borracha, em freezer a -20°C sob vácuo, em frascos tampados com algodão a 2°C e em frascos tampados com algodão sob vácuo e com LiCl a 2°C. Esses autores observaram que a utilização de vácuo e temperatura de -20°C foram mais efetivos.

Pólen de eucalipto foi armazenado por Sousa (1988) em freezer (-16°C) e em refrigerador (-4°C) dentro de dessecadores. Após 3 meses de armazenamento, verificou-se que a temperatura de -16°C foi mais adequada. Já Pereira (2001) armazenou pólen de eucalipto em freezer (-4°C) por 1, 2 e 3 meses, constatando decréscimo na viabilidade do pólen no decorrer do período de armazenamento.

Sahar & Spiegel (1980) armazenaram pólen de tangerineira (*Citrus reticulata* Blanco) e trifoliata (*Poncirus trifoliata* L. Rat.) em atmosfera de N₂ ou CO₂ e temperatura de -18°C.

Kobayashi et al. (1991) obtiveram 50% de germinação de grãos de pólen em híbrido de *Citrus sinensis* L. Osbeck x *Poncirus trifoliata* L. Rat. utilizando meio de cultura contendo 20% de sacarose. Diferentes concentrações de glicose foram testadas na germinação de grãos de pólen de algumas variedades cítricas e os melhores resultados foram obtidos com 150 g L⁻¹ de glicose, apresentando em média 59% de germinação (BUTT et al., 1993).

Objetivou-se com este trabalho desenvolver técnicas adequadas para o armazenamento de grãos de pólen das laranjeiras doces (*C. sinensis* (L.) Osb.) 'Valência', 'Natal' e 'Pêra'.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi conduzido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade Federal de Lavras –

UFLA, Minas Gerais, no ano de 2002 durante o período de floração, setembro e outubro, das cultivares Valência, Pêra e Natal. Essas cultivares estão localizadas no pomar da Empresa de Pesquisa Agropecuária de Minas Gerais EPAMIG, no município de Lavras – MG e são componentes de uma coleção de cultivares cítricas.

Para a realização do trabalho, foram selecionadas duas plantas de cada cultivar. Os botões florais foram colhidos em estádio "balão", eliminando-se aqueles que estavam abertos, de acordo com a metodologia de Pasqual et al. (1982). Foram coletados aleatoriamente, em todas as partes da planta, no período da manhã, próximo às 8 horas, e transportados para o laboratório em placas de Petri fechadas.

As anteras foram separadas das estruturas florais por intermédio de uma pinça e colocadas em placas de Petri forradas com papel de filtro, mantidas destampadas e submetidas à temperatura de 28°C ± 1°C por 48 horas para que ocorresse a antese e também para que o pólen tivesse seu teor de umidade reduzido, de acordo com a metodologia de Sousa (1988).

As anteras com os grãos de pólen de cada cultivar foram colocadas em frascos de vidro (5,5 x 2,5 cm) tampados e armazenados.

Os tratamentos foram constituídos de 3 temperaturas de armazenamento: -10°C (freezer), 4°C (refrigerador) e temperatura ambiente; 2 ambientes (com e sem dessecador) e na presença e ausência de sílica-gel. Foram utilizados 12 frascos contendo os tratamentos para as três cultivares, perfazendo um total de 36 frascos. O uso do dessecador justifica-se por proporcionar uma atmosfera de vácuo em seu interior e o de sílica-gel por promover a retirada de umidade dos grãos de pólen.

A avaliação do índice de germinação foi feita com o pólen fresco e a cada 7 dias, colocando o pólen de cada frasco no meio de cultura e levando para câmara de crescimento tipo BOD por 12 horas. Este processo foi repetido por 9 semanas, que é o período de intervalo entre as cultivares de florescimento precoce e tardio. Apesar das três variedades florescerem na mesma época, estas servirão como fornecedoras de pólen para cruzamentos com variedades de florescimento tardio, visando o melhoramento genético.

A viabilidade do pólen *in vitro* foi estudada através da germinação dos grãos de pólen em meio de cultura contendo 1% de ágar e 10% de sacarose, 800 mg L⁻¹ de nitrato de cálcio (Ca(NO₃)₂ 4H₂O), 200 mg L⁻¹ de ácido bórico (H₃BO₃) e pH corrigido para 6,5.

O meio de cultura foi vertido em placas de Petri de plástico (aproximadamente 10 mL por placa) e os grãos de

pólen foram espalhados sobre a superfície do meio com o auxílio de um pincel.

As placas de Petri contendo o pólen foram colocadas em BOD à temperatura de $25 \pm 2^\circ\text{C}$ por 12 horas no escuro.

As avaliações foram realizadas pela porcentagem de grãos de pólen germinados, em microscópio óptico com objetiva de aumento de 10x, avaliando 4 campos de visão, que foram equivalentes a 4 repetições. Em cada campo de visão foram contados todos os grãos de pólen germinados ou não. Segundo Sousa (1988), grãos de pólen germinados são aqueles cujos tubos polínicos tenham ultrapassado o comprimento do diâmetro do próprio pólen.

Para a análise da viabilidade do pólen armazenado, foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, considerando-se 4 repetições, representadas pelos 4 campos de visão contados na placa de Petri.

Foram feitas 9 avaliações de germinação e para cada avaliação foi feita uma análise estatística em fatorial. Nas duas primeiras semanas foi utilizado um delineamento fatorial 3×12 e na terceira semana 3×11 ; da quarta à oitava

semana, 3×7 e na nona, 3×6 , ou seja, diferentes números de tratamentos para cada época de avaliação.

O tratamento considerado como testemunha (pólen fresco) não foi submetido ao armazenamento, o pólen foi avaliado logo após a antese.

Na análise de variância foi utilizado o teste de "F" e para a comparação de médias o teste de "Scott Knott". As análises foram realizadas procurando-se verificar o efeito das diferentes técnicas de armazenamento dentro de cada cultivar estudada.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verifica-se que houve diferença significativa entre os tratamentos ao nível de 5% de probabilidade para a interação cultivar x tratamento na quarta e quinta semanas de observação. Demais interações foram significativas ao nível de 1% de probabilidade em todas as épocas de observação, conforme se observa na Tabela 1. Esses resultados confirmam que a porcentagem de germinação é dependente de alguns fatores, principalmente aqueles relacionados ao armazenamento.

TABELA 1 – Resumo das análises de variância da porcentagem de germinação de grãos de pólen em diferentes épocas de avaliação. UFLA, Lavras, 2003.

Fonte de Variação	Pólen fresco		1ª semana		2ª semana		3ª semana				
	GL	QM	GL	QM	GL	QM	GL	QM			
Cultivar	2	64,3**	2	392,8**	2	362,86**	2	200,60**			
Tratamento	-	2,13	11	124,18**	11	167,80**	10	228,97**			
Cultivar x Tratamento	-		22	12,28**	22	16,16**	20	8,42**			
Erro	9		108	2,08	108	1,35	99	1,501			
Total	11		143		143		131				
CV (%)	9,72		14,4		14,81		19,45				
Média Geral	15,04		10,01		7,87		6,3				
4ª semana		5ª semana		6ª semana		7ª semana		8ª semana		9ª semana	
GL	QM	GL	QM	GL	QM	GL	QM	GL	QM	GL	QM
2	135,29**	2	108,29**	2	312,55**	2	233,01**	2	194,64**	2	48,57**
6	21,11**	6	42,92**	6	361,26**	6	643,87**	6	510,02**	5	93,24**
12	1,86*	12	2,00*	12	46,98**	12	88,20**	12	92,60**	10	7,61**
63	1,153	63	0,93	63	93,52	63	73,51	63	54,64	54	0,67
83		83		83		83		83		71	
12,87		12,95		18,71		19,74		20,46		19,76	
8,34		7,44		6,51		5,47		4,55		4,15	

** , * significativo ao nível de 1 e 5% de probabilidade, respectivamente, pelo teste F.

Os coeficientes de variação obtidos para os períodos avaliados foram baixos, levando a crer que os fatores externos tenham exercido pouca influência sobre os tratamentos. Observa-se que houve efeito significativo para o estudo dos fatores isolados (cultivares e tratamentos) ao nível de 1% de probabilidade em todas as épocas avaliadas.

Nas Tabelas 2, 3 e 4 são apresentados os valores médios de germinação de grãos de pólen obtidos para a cultivares Pêra, Natal e Valência de acordo com os diferentes tratamentos de armazenamento nas referidas épocas de avaliação.

Foi feita uma análise estatística para cada semana e comparada com o pólen fresco.

Evidenciou-se que a temperatura ambiente não foi uma boa técnica de armazenamento, sendo que a

viabilidade caiu rapidamente e não passou da terceira semana em nenhuma cultivar. Esses resultados são corroborados por vários autores (GOMEZ et al., 2000; OLIVEIRA JÚNIOR et al., 1995; VAKNIN & EISIKOWITCH, 2000) que constataram que a viabilidade de grãos de pólen armazenados em temperatura ambiente pode ser mantida a curto prazo por no máximo 30 dias.

Torna-se evidente que o pólen armazenado em refrigerador apresentou maiores porcentagens de germinação em relação ao pólen armazenado à temperatura ambiente. Estes resultados concordam com vários autores (GOMEZ et al., 2000; SIREGAR & SWEET, 2000) que mantiveram o pólen armazenado em refrigerador por vários meses, embora com um decréscimo de viabilidade em função do tempo de armazenamento.

TABELA 2 – Porcentagem de germinação de grãos de pólen da cultivar Pêra, submetidos a diferentes técnicas de armazenamento. UFLA, Lavras, 2003.

Trat.	Pólen fresco	1 ^a sem.	2 ^a sem.	3 ^a sem.	4 ^a sem.	5 ^a sem.	6 ^a sem.	7 ^a sem.	8 ^a sem.	9 ^a sem.
1: Amb. /cs/cd *	12,82	11,65 b	5,7 c	1,95 c	-	-	-	-	-	-
2: Amb. /ss/cd	12,82	3,55 d	0,74 d	-	-	-	-	-	-	-
3: Amb. /cs/sd	12,82	4,06 d	2,23 d	1,0 c	-	-	-	-	-	-
4: Amb. /ss/sd	12,82	7,16 c	1,13 d	-	-	-	-	-	-	-
5: Refrig. /cs/cd	12,82	10,68 b	8,60 b	7,26 b	7,67 b	5,63 c	4,60 b	3,99 d	4,18 c	2,15b
6: Refrig. /ss/cd	12,82	9,53 b	8,74 b	5,97 b	5,95 c	4,48 c	2,54 b	1,04 e	0 d	-
7:Refrig. /cs/sd	12,82	11,22 b	8,99 b	8,36 a	-	8,00 a	7,20 a	5,50 c	3,36 c	2,90 b
8:Refrig. /ss/sd	12,82	4,49 d	1,21 d	1,12 c	-	-	-	-	-	-
9: Freezer /cs/cd	12,82	12,74 a	10,87 a	9,30 a	8,18 b	8,02 a	7,85 a	7,36 b	7,31 a	6,93 a
10: Freezer /ss/cd	12,82	10,63 b	10,74 a	10,04 a	9,90 a	9,31 a	8,84 a	8,99 a	8,51 a	7,94 a
11: Freezer /cs/sd	12,82	12,58 a	9,01 b	7,98 a	8,59 b	6,77 b	7,25 a	7,17 b	5,63 b	3,30 b
12: Freezer /ss/sd	12,82	13,25 a	11,55 a	8,92 a	7,76 b	6,53 b	4,97 b	4,01 d	3,08 c	3,53 b

Médias na mesma coluna seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Scott Knott ao nível de 5% de probabilidade.

* cs: com sílica-gel; ss: sem sílica-gel; cd: com dessecador; sd: sem dessecador.

TABELA 3 – Porcentagem de germinação de grãos de pólen da cultivar Valência, submetidos a diferentes técnicas de armazenamento. UFLA, Lavras, 2003.

Trat.	Pólen fresco	1ª sem.	2ª sem.	3ª sem.	4ª sem.	5ª sem.	6ª sem.	7ª sem.	8ª sem.	9ª sem.
1: Amb. /cs/cd *	19,67	14,60 b	12,30 b	2,28 d	-	-	-	-	-	-
2: Amb. /ss/cd	19,67	12,11 c	11,18 b	2,27 d	-	-	-	-	-	-
3: Amb. /cs/sd	19,67	11,28 c	8,96 c	2,31 d	-	-	-	-	-	-
4: Amb. /ss/sd	19,67	6,63 d	2,68 d	-	-	-	-	-	-	-
5: Refrig. /cs/cd	19,67	11,82 c	12,38 b	13,84 a	8,74 b	6,56 b	6,53 c	3,70 c	2,60 c	1,71 c
6: Refrig. /ss/cd	19,67	9,90 c	8,40 c	8,22 c	9,34 b	7,78 b	5,53 c	1,67 d	2,52 c	-
7:Refrig. /cs/sd	19,67	17,42 a	15,36 a	12,09 b	12,12 a	11,53 a	11,65 a	11,32 a	8,69 a	8,24 a
8:Refrig. /ss/sd	19,67	8,40 d	4,23 d	0,76 d	-	-	-	-	-	-
9: Freezer /cs/cd	19,67	16,09 b	12,41 b	11,87 b	12,38 a	10,85 a	11,85 a	9,99 a	9,38 a	8,84 a
10: Freezer /ss/cd	19,67	15,17 b	14,55 a	13,33a	12,63 a	11,90 a	9,90 b	11,45 a	8,99 a	7,97 a
11: Freezer /cs/sd	19,67	17,09 a	14,48 a	13,71 a	10,56 b	10,61 a	9,22 b	7,84 b	6,30 b	3,56 b
12: Freezer /ss/sd	19,67	18,18 a	15,38 a	14,97 a	10,27 b	8,01 b	8,49 b	6,73 b	6,30 b	2,06 c

Médias na mesma coluna seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Scott Knott ao nível de 5% de probabilidade.

* cs: com sílica-gel; ss: sem sílica-gel; cd: com dessecador; sd: sem dessecador.

Os grãos de pólen armazenados em *freezer* apresentam maior porcentagem de germinação que aquele à temperatura ambiente e refrigerador. O emprego de baixas temperaturas normalmente encontra-se ligado à redução do metabolismo do pólen, o que propicia maior longevidade. Resultados semelhantes foram obtidos por Oliveira et al. (2001) que enfatizam a maior longevidade do pólen congelado de pessegueiro.

A maior porcentagem de germinação foi obtida em *freezer* na presença de dessecador, independente da presença de sílica-gel. É interessante ressaltar que, de modo geral, a ausência de dessecador proporcionou os piores resultados. A presença de sílica nestes casos não proporcionou maior longevidade do pólen armazenado.

Por outro lado, a ausência de dessecador unida à ausência de sílica-gel em temperatura ambiente apresentou os piores resultados em todas as cultivares, sendo que o pólen permaneceu viável por no máximo 2 semanas. O tratamento na ausência de sílica e dessecador em refrigerador também não apresentou bons resultados, já que o pólen perdeu sua viabilidade na terceira semana. Nota-se com isso que a ausência do dessecante sílica-gel unida à ausência do dessecador promoveu uma drástica redução na viabilidade do pólen. Esse fato pode ser atribuído a uma maior absorção de umidade do ar pelo grão de pólen devido à falta do dessecador e também do dessecante.

TABELA 4 – Porcentagem de germinação de grãos de pólen da cultivar Natal, submetidos a diferentes técnicas de armazenamento. UFLA, Lavras, 2003.

Trat.	Pólen fresco	1 ^a sem.	2 ^a sem.	3 ^a sem.	4 ^a sem.	5 ^a sem.	6 ^a sem.	7 ^a sem.	8 ^a sem.	9 ^a sem.
1: Amb. /cs/cd *	12,63	7,70 b	2,06 d	-	-	-	-	-	-	-
2: Amb. /ss/cd	12,63	3,87 c	2,38 d	-	-	-	-	-	-	-
3: Amb. /cs/sd	12,63	4,76 c	1,89 d	-	-	-	-	-	-	-
4: Amb. /ss/sd	12,63	0,87 d	0 e	-	-	-	-	-	-	-
5: Refrig. /cs/cd	12,63	7,89 b	5,69 c	5,90 b	4,31 b	3,25 d	1,46 c	1,76 c	1,11 c	0,40 c
6: Refrig. /ss/cd	12,63	10,41 a	10,31 a	5,31 b	4,32 b	2,95 d	2,24 c	0 c	0 c	-
7:Refrig. /cs/sd	12,63	10,75 a	8,19 b	6,73 b	6,89 a	6,55 b	4,45 b	3,73 b	3,31 b	1,81 b
8:Refrig. /ss/sd	12,63	5,12 c	2,90 d	-	-	-	-	-	-	-
9: Freezer /cs/cd	12,63	10,58 a	10,55 a	9,48 a	8,38 a	8,49 a	8,03 a	7,35 a	6,61 a	6,53 a
10: Freezer /ss/cd	12,63	10,35 a	9,56 a	8,96 a	7,92 a	7,99 a	7,36 a	7,66 a	6,67 a	6,86 a
11: Freezer /cs/sd	12,63	10,46 a	10,04 a	7,83 a	7,10 a	6,01 b	4,17 b	2,72 b	1,0 c	0 c
12: Freezer /ss/sd	12,63	9,75 a	8,26 b	6,23 b	5,77 b	5,11 c	2,64 c	0,92 c	0 c	0 c

Médias na mesma coluna seguidas pela mesma letra não diferem estatisticamente pelo teste Scott Knott ao nível de 5% de probabilidade.

* cs: com sílica-gel; ss: sem sílica-gel; cd: com dessecador; sd: sem dessecador.

Em resumo, no que diz respeito à viabilidade do pólen em cada época de armazenamento, nota-se que o pólen armazenado em temperatura ambiente perdeu sua viabilidade muito rapidamente, o pólen armazenado em *freezer* permaneceu viável por um período maior de tempo, mas ainda assim pôde-se verificar que houve uma redução com o tempo de conservação, sendo menos intensa para os tratamentos dentro de dessecadores. Vários autores enfatizam a importância do uso de dessecadores (ARLGREN & ARLGREN, 1978; HONDA et al., 2002).

Nos tratamentos em refrigerador e temperatura ambiente, a presença de sílica-gel, independentemente da presença de dessecador, proporcionou melhores resultados. Por outro lado, para os tratamentos em *freezer*, a presença de sílica-gel proporcionou os piores resultados.

Sousa (1988), estudando pólen de eucalipto, verificou que o pólen sob vácuo e na presença de sílica-gel exibiu a maior porcentagem de germinação para *E. camaldulensis* e a pior germinação para *E. grandis*. De qualquer forma, evidenciou-se a necessidade do uso de sílica-gel no armazenamento, prática que, além de reduzir a taxa respiratória, evita ataque por microrganismos. Além disso, quando se pretende submeter o pólen a temperaturas muito baixas (10°C ou menos), a redução de umidade é necessária para evitar o rompimento dos tecidos, provocado pelo congelamento intracelular da água contida no pólen.

Dependendo da técnica usada para o armazenamento e da variedade envolvida, ainda pode-se obter boa germinação no refrigerador após nove semanas de armazenamento, como é o caso da 'Valência' na presença de sílica-gel e fora do dessecador (8,24%).

Oliveira et al. (2001) enfatizam que a diminuição na porcentagem de pólenes viáveis pode estar relacionada a vários fatores, tais como 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 se os grãos de pólen estiverem secos (SOUSA, 1988).

Apesar das cultivares terem exibido taxas de viabilidade variáveis nos períodos de armazenagem, pode-se considerar que os resultados obtidos para o pólen possam subsidiar programas de melhoramento em citros, viabilizando cruzamentos entre indivíduos com potencial econômico que apresentem barreiras temporais de floração, ou estejam geograficamente separados.

CONCLUSÕES

O armazenamento em *freezer* (-10°C) é mais eficiente do que em refrigerador (4°C) no período estudado (9 semanas).

O armazenamento em temperatura ambiente não é eficiente. De maneira geral, os melhores resultados são obtidos em *freezer* com sílica dentro de dessecador e em *freezer* com grãos de pólen acondicionados em dessecador contendo ou não sílica-gel, para todas as cultivares estudadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- AHLGREN, C. E.; AHLGREN, I. F. Viability and fertility of vacuum dried pollen of 5 needle species. **Floresty Science**, Washington, v. 24, n. 1, p. 100-102, Mar. 1978.
- BUTT, S. J.; YUSUF, A.; ALI, S.; KHAN, M. A. *In vitro* studies on viability and germination of pollen in various citrus species. **Pakistan Journal of Scientific and Industrial Research**, Rawalpindi, v. 36, n. 10, p. 432-434, Oct. 1993.
- GOMEZ, P.; GRADZIEL, T. M.; ORTEGA, E.; DICENTA, F. Short term storage of almond pollen. **HortScience**, Alexandria, v. 35, n. 6, p. 151-152, Oct. 2000.
- HONDA, K.; WATANABE, H.; TSUTSUI, K. Cryopreservation of *Delphinium* pollen at -30°C. **Euphytica**, Dordrecht, v. 126, n. 3, p. 315-320, 2002.
- KOBAYASHI, S.; OIYAMA, I.; YOSHINAGA, K.; OHGAWARA, T.; ISHII, S. Fertility in an intergeneric somatic hybrid plant of Rutaceae. **HortScience**, Alexandria, v. 26, n. 2, p. 207, Feb. 1991.
- OLIVEIRA JÚNIOR, A. F. de; RAMOS, J. D.; PASQUAL, M.; RIBEIRO, V. G.; SANÁBIO, D.; SANTOS, S. dos. Influência do armazenamento na germinação de grãos de pólen de pessegueiro cv. Aurora. In: CONGRESSO DA PÓS-GRADUAÇÃO DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS, 8., 1995, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 1995. p. 117.
- OLIVEIRA, M. S. P.; MAUÉS, M. M.; KALUME, M. A. A. Viabilidade de pólen *in vivo* e *in vitro* em genótipos de açaizeiro. **Acta Botânica Brasilica**, São Carlos, v. 15, n. 1, p. 63-67, 2001.
- PASQUAL, M.; PETRI, J. L.; MATTOS, C. S. Polinização da macieira III: cultivares BR-1 e Mollies Delicieux. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 10, p. 1477-1481, out. 1982.
- PEREIRA, R. C. **Alternativas para melhorar a eficiência dos cruzamentos em programas de melhoramento em Eucalyptus**. 2001. 41 p. Dissertação (Mestrado em Genética e Melhoramento de Plantas) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2001.
- SAHAR, N.; SPIEGEL, R. P. Citrus pollen storage. **HortScience**, Alexandria, v. 15, n. 1, p. 81-82, Feb. 1980.
- SIREGAR, I. Z.; SWEET, G. B. The impact of extraction and storage conditions on the viability of radiata pine pollen. **Silvae Genetica**, Bogor, v. 49, n. 1, p. 10-14, 2000.
- SOUSA, V. A. de. **Manejo e viabilidade do pólen de Eucalyptus spp.** 1988. 155 f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1988.
- SPRAGUE, J. R.; JOHNSON, V. W. Extraction and storage of loblolly pine (*Pinus taeda*) pollen. In: SOUTHERN FOREST TREE IMPROVEMENT CONFERENCE, 14., 1977, Gainesville. **Proceeding...** Macon: Eastem Tree Seed, 1977. p. 20- 27.
- VAKNIN, Y.; EISIKOWITCH, D. Effects of short-term storage on germinability of pistachio pollen. **Plant Breeding**, Tel Aviv, v. 119, n. 4 p. 347-350, Aug. 2000.