

ESTUDOS PRELIMINARES SOBRE A CONSERVAÇÃO DE PÓLEN DE *Eucalyptus* SPP

Cacilda Pimenta Borges^{*}
Araci Aparecida da Silva^{**}
Mário Ferreira^{***}

SUMMARY

The purpose of this work has been to study the harvest and the conservation of pollen of the following species: *E. camaldulensis* Delin., *E. resinifera* Smith, *E. robusta* Smith e *E. tereticornis*.

The pollen was stored at 4°C and -10°C. Storage period ranged from just after harvesting until three months post-harvesting. Both temperature and period of storage gave significant variation in the germination of pollen. Several concentrations of saccharose solution were utilized for storing the pollen; these different concentrations also gave significant variation as to the viability of the stored pollen.

1 - INTRODUÇÃO

O gênero *Eucalyptus* apresenta inúmeras espécies utilizadas como exóticas e que, pelas suas características silviculturais, ganharam importância econômica marcante.

FREITAS (1971), estudando material botânico obtido de povoamentos comerciais de *E. grandis* Hill ex Maiden, *E. saligna* Smith, *E. alba* Reinw (= *E. urophylla* S. T. Blacke), concluiu serem os mesmos altamente variáveis botanicamente.

A nova política governamental, permitindo a utilização dos incentivos fiscais no reflorestamento, propiciou aumento na procura de sementes para a instalação de novos eucaliptais. O Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais (IPEF), visando atender a grande demanda de sementes, estabeleceu programas de melhoramento genético para as espécies economicamente mais importantes.

O presente trabalho tem por objetivo estudar a colheita e conservação do pólen, visando sua utilização em polinizações controladas.

2. REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

DECKER (1936), estudando a morfologia das flores das mirtáceas, cita que o desabrochamento do opérculo se dá quase que subitamente e atribui esse desprendimento ao intenso crescimento lateral do receptáculo, ao passo que o opérculo se mantém suspenso, acreditando ser o estilete devido ao seu crescimento rápido, que eleva e suspende o opérculo à altura, não raras vezes do estigma. Nas flores abertas faltam por completo o cálice e a corola, cuja função é exercida pelos estames ricamente coloridos. Os estames

* Bolsista da FAPESP junto ao Departamento de Silvicultura da ESALQ - USP - Piracicaba.

** Aluna Monitora Estagiária junto ao Departamento de Silvicultura da ESALQ - USP - Piracicaba.

*** Professor Livre Docente do Departamento de Silvicultura da ESALQ - USP - Piracicaba

nascem em grande número nas margens do receptáculo onde formam uma coroa muito vistosa. No centro ergue-se o pistilo cujo ovário plurilocular é totalmente concrecido com o receptáculo. O cálice falta por completo já no estado pré-floral, enquanto os segmentos corolíneos, insertos em duas séries, formam dois involúcros distintos. O que forma o involúcro exterior é muito delgado e de consistência membranosa, ao passo que o segundo, visto por dentro, é coriáceo e duro, formando o opérculo e servindo de abrigo aos órgãos de reprodução. Coincidindo a época de floração com o tempo seco, não há necessidade de que as flores apresentem adaptações especiais contra a umidade e as chuvas.

ELDRIGE (1969), estudando a polinização controlada em **Eucalyptus regnans** afirma que, quando o opérculo cai, os filamentos dos estames endireitam-se e as anteras entram em deiscência por aberturas longitudinais. Se o ambiente for seco, o pólen pode ser retirado simplesmente por batidas com o dedo na flor.

Cita ainda o autor que após a queda do opérculo e a libertação dos estames, o estilete se alonga por mais ou menos sete dias, antes que o estigma se alargue, torne-se viscoso e aparentemente receptível. Nesse estágio o néctar começa a fluir e as anteras já estão vazias. Em menos de sete dias o estilete se abre na base, os filetes estaminais caem, o néctar cessa de fluir e o florescimento se completa. As cápsulas estarão suficientemente maduras para serem colhidas e proceder-se a extração das sementes, aproximadamente 10 meses após a polinização. KRUG e ALVES (1949) comprovaram em nossas condições que o tempo desde o aparecimento do botão floral até o amadurecimento do fruto, depende de cada espécie, sendo de 6 a 8 meses em **E. alba** e **E. tereticornis**, de 13 meses em **E. saligna** e de 15 meses em **E. citriodora**.

AMENGUAL (1954) salienta que na Austrália, em muitas localidades, o opérculo cai, dá-se a abertura da flor e o pólen é liberado dos estames, antes mesmo que o estigma apresente-se receptivo. O estigma, na maioria dos casos, alcança a condição receptiva ou 3 dias antes da abertura da flor e parece assim permanecer 3 ou 4 dias, mais. Salienta ainda o autor que a auto-fecundação parece não existir, sendo que a emasculação pode ser feita com facilidade efetuando-se uma incisão abaixo do anel estaminal. Em algumas espécies o estigma localiza-se muito próximo dos estames; neste caso será necessário então que a incisão seja feita diretamente no opérculo e no anel estaminal.

PENFOLD e WILLIS (1961), descrevendo a liberação do pólen, afirmam que a antera quando madura se abre por uma fenda longitudinal ou por pequenos poros. O processo da queda do pólen se completa em 24 horas; poderão alguns grãos de pólen ficar retidos nos filetes e posteriormente ser transferidos para o estigma após o murchamento dos filetes, induzindo assim, à auto-fecundação desde que a polinização não tenha ocorrido anteriormente. Acrescentam ainda os autores que em alguns casos o pólen poderá ser liberado antes mesmo que o opérculo tenha caído completamente.

BODEN (1958) recomenda para a coleta e conservação do pólen, que se proceda à coleta somente de flores cujo opérculo esteja começando a se destacar. Coletando as anteras o trabalho é mais facilitado. Obtém-se melhor resultado na conservação do pólen quando, após a secagem das anteras procede-se à separação do pólen. Afirma ainda o autor que para a coleta de flores no campo basta cortar o ramo com flores e a seguir imergir sua ponta cortada em água; afirma ainda que se as flores forem protegidas com sacos de polietileno a perda de fertilidade é quase total. A coleta do pólen é função das diferentes épocas de floração das diferentes espécies, como por exemplo: **E. alba** (janeiro a março), **E. umbra** (julho), **E. paniculata** (maio a agosto), **E. triantha** (outubro a novembro), **E. grandis** (fevereiro a março), **E. dawssonii** (julho a agosto), etc.

JETT (1969) considera ser recomendável para **Pinus** spp. que na coleta e extração do pólen as inflorescências sejam colocadas em salas a 20-23°C de temperatura e secas sob Umidade relativa de 30% .A temperatura ambiente nunca deverá ultrapassar 32.°C. É desaconselhável a secagem das inflorescências a pleno sol. Após a secagem coletar o pólen e filtrá-lo em tecidos de malha fina. Conservar o pólen assim separado em vidros com 25 cm³ de volume tamponados com algodão preenchidos somente metade do seu volume com o pólen filtrado e armazenados em refrigerador. Para armazenamento por longo período é aconselhável colocar os vidros no interior de dessecadores sob umidade relativa de 10 a 20% em refrigerador .

JOHNSON (1955) afirma que o pólen deve ser sempre conservado a frio, pois normalmente perde a viabilidade 3 dias após a sua coleta quando em temperatura ambiente ao redor de 20°C. Afirma ainda que precedendo sua utilização, deve-se determinar a viabilidade do pólen.

BODEN (1958) utilizou para testar a viabilidade do pólen, gelatina e sacarose dispostas em camadas sobre lâminas microscópicas visando acelerar à germinação como meio de germinação. Dispôs as lâminas em câmaras úmidas. A concentração de gelatina utilizada foi de 1,5%. Não encontrou diferenças na germinação nas concentrações de 10 a 20% de sacarose a não ser para **E. pulverulenta** em que os resultados melhores foram observados a 30% de concentração. Acrescenta ainda o autor, que a melhor temperatura para germinação situa-se entre 20 a 30°C, havendo declínio na germinação em temperaturas superiores a 35.°C.

GABRIELLI et al. (1965) concluíram que a melhor germinação do pólen de eucalipto foi conseguida usando-se uma solução contendo 1,5% de gelatina e dependendo da espécie, 30 a 40% de sacarose. Para realização dos testes de germinação, recomendam os autores, colocar pequenas quantidades de pólen sobre lâminas microscópicas, colocando-as em seguida em câmara úmida para que o pólen recupere a umidade perdida durante o período de dessecação. Após o intervalo de, aproximadamente dez minutos, os grãos de pólen devem receber algumas gotas da solução de gelatina com sacarose. Após 20 horas da adição da solução, as lâminas devem ser levadas ao microscópio e, a seguir, proceder-se-á à contagem dos grãos de pólen, germinados e não germinados, em diferentes campos visuais tomados ao caso.

JETT (1969) preconiza, para o caso de pólen de **Pinus** spp, a utilização de solução a 0,1% de sacarose ou mel, onde se coloca pequena quantidade de pólen deixando-se o conjunto à temperatura ambiente por 36 a 72 horas. Se os grãos de pólen forem viáveis os tubos polínicos deverão apresentar desenvolvimento 5 a 10 vezes maiores do que a largura do grão de pólen após 72 horas.

CHRISTIANSEN (1969) sugere para melhoria dos testes de viabilidade:

- a) estudar os melhores meios de armazenamento do pólen, antes e depois do teste;
- b) estudar o melhor substrato para a realização do teste;
- c) basear-se em fases mais adiantadas da fertilização do que somente na formação do tubo polínico;
- d) evitar o uso de desinfetantes se não soubermos previamente a ação dos mesmos sobre as células masculinas.

BODEN (1958) estudando a conservação do pólen de diversas espécies de eucaliptos a diversas temperaturas, conclui:

- a) o pólen armazenado à temperatura ambiente, perdeu sua viabilidade após 1 mês de armazenamento;

b) A temperatura de 2°C, houve perda de viabilidade após 3 meses de armazenagem, sendo que após 6 meses a germinação foi praticamente nula;

c) à temperatura de 16°C, após 6 meses de armazenagem, o pólen apresentou 60% de viabilidade.

GABRIELLI et al. (1965) concluíram que a melhor técnica de conservação dos grãos de pólen consiste em, após sua extração do botão floral, separá-los com o auxílio de uma série de peneiras e, a seguir, armazená-los em tubo de ensaio no interior de dessecadores, à temperatura de 4°C.

3. MATERIAL E MÉTODOS

3.1. Material

a) Para o estudo da conservação do pólen foram selecionadas no Horto de Rio Claro (F.E.P.A.S.A.), matrizes de **E. camaldulensis** Delinh, **E. resinifera** Smith, **E. robusta** Smith e **E. tereticornis**.

b) Na conservação do pólen foram utilizados dessecadores, tubos de ensaio e congeladores.

c) Para os testes de viabilidade foram usadas lâminas, caixas de Petri, germinador, microscópio, além de soluções à base de gelatina e sacarose.

3.2. Métodos

3.2.1. Coleta do pólen

a) A coleta de ramos para obtenção de pólen foi feita em árvores matrizes selecionadas botanicamente no Horto das Ferrovias Paulista S. A., em Rio Claro, São Paulo.

b) Os ramos foram coletados quando os botões estavam com os opérculos prestes a cair e em tempo seco.

c) A princípio o material foi trazido ao laboratório em sacos de papel, sendo este processo substituído no decorrer do trabalho pelo uso de baldes contendo água, onde os ramos permaneciam sempre com as bases imersas na água.

d) No laboratório era realizada a operação de separação das flores para aproveitamento do pólen. Destas, segundo PRYOR (1972), retiramos os filetes com as anteras contendo pólen.

e) Este material permanecia dentro de dessecador, à temperatura ambiente, para secagem prévia ao armazenamento, por aproximadamente uma hora.

f) Após esta secagem, o material (filetes, anteras e pólen) era acondicionado em tubos de ensaio tamponados com algodão.

g) Os ramos coletados com flores por abrir, foram deixados com as extremidades imersas em água no interior de câmara de vegetação, para que a abertura da flor se completasse. A coleta e armazenamento do pólen aqui obtido foi realizada conforme os itens d), e), e f).

3.2.2. Conservação do pólen

Os métodos de conservação do pólen estudados foram: armazenagem em dessecador a -10°C e 4°C, com o tempo de armazenagem variando de zero a doze meses.

4. RESULTADOS OBTIDOS

4.1. Germinação do pólen de *E. robusta*, *E. camaldulensis* e *E. tereticornis*, armazenados a -10°C, em função do tempo de armazenagem e da concentração de sacarose da solução.

QUADRO N.º 1 - Porcentagem de germinação (transformada $\text{arc sen } \sqrt{P/100}$ em dos grãos de pólen das espécies *E. robusta*, *E. camaldulensis*, e *E. tereticornis*, armazenados a uma temperatura de -10°C, em função do tempo de armazenagem e da concentração de sacarose da solução.

Concen- -tração	<i>E. robusta</i> (*)				<i>E. camaldulensis</i>				<i>E. tereticornis</i>			
	T ₀	t ₁	T ₂	t ₃	T ₀	t ₁	t ₂	t ₃	T ₀	t ₁	t ₂	T ₃
20%	52,44	40,49	36,35	16,82	43,84	39,85	26,49	17,55	60,97	50,51	37,97	21,29
	46,70	40,37	28,88	14,68	28,06	36,11	21,46	20,50	70,86	51,56	34,27	20,86
25%	67,08	30,30	20,41	11,13	64,66	0,50	21,38	13,68	69,54	40,14	32,45	10,97
	59,39	31,55	17,24	16,50	68,20	39,50	15,15	15,95	73,45	37,85	27,06	12,47
30%	39,50	39,91	21,20	21,29	26,42	34,33	17,35	12,04	74,94	31,74	12,61	0,50
	36,89	35,38	24,08	29,29	36,11	40,32	14,68	14,44	72,45	31,87	17,45	22,47
40%	43,21	25,38	27,70	10,81	56,92	34,02	24,31	16,82	36,53	40,26	24,16	21,89
	30,43	33,71	31,74	13,29	41,13	39,20	25,08	13,02	38,20	38,85	25,15	12,89

- (*) t₀ = pólen recém colhido.
t₁ = pólen armazenado durante 1 mês.
t₂ = pólen armazenado durante 2 meses.
t₃ = pólen armazenado durante 3 meses.

A análise da variância dos dados de germinação dos grãos de pólen armazenados a -10°C relacionados no Quadro n.º 1 revelou:

a) As espécies *E. robusta*, *E. camaldulensis* e *E. tereticornis* diferiram significativamente entre si (ao nível de 1% de probabilidade) independentemente do tempo de armazenagem e da concentração da solução. Após a aplicação do Teste de Tukey, na análise dos contrastes das médias de germinação constatou-se que a germinação média do pólen de *E. tereticornis* diferiu significativamente ao nível de 1% de probabilidade da do *E. robusta* e do *E. camaldulensis*. Entre o *E. robusta* e *E. camaldulensis* não houve diferença significativa.

As germinações médias foram: *E. tereticornis* - 34,7%, *E. robusta* - 26,7% e *E. camaldulensis* - 23,1%.

b) Houve diferença altamente significativa (ao nível de 1% de probabilidade) no comportamento da germinação do pólen em função da concentração de sacarose da solução. Após a análise do contraste das médias pelo Teste de Tukey, constatou-se que houve diferença altamente significativa ao nível de 1% de probabilidade, entre as germinações médias encontradas para a solução com concentração de 20% de sacarose e aquelas de 30%, o mesmo ocorrendo entre as de 20% e 40%. Não houve diferença significativa entre as concentrações de 20% e 25%, 25% e 30%, 25% e 40% e 30% e 40%.

As porcentagens médias de germinação em função das concentrações foram:

Concentração de sacarose da solução (%)	% média de germinação
20	34,0
25	30,0
30	24,2
40	24,0

c) Houve diferença altamente significativa (ao nível de 1% de probabilidade) no comportamento da germinação do pólen em função do tempo de armazenagem. Após a análise dos contrastes das médias pelo Teste de Tukey constatou-se que, para as três espécies, a germinação do pólen recém-colhido diferiu significativamente ao nível de 1% de probabilidade daqueles armazenados a -10°C por períodos de 1 mês, 2 meses e 3 meses. A germinação do pólen armazenado por um período de 1 mês diferiu significativamente ao nível de 1% de probabilidade daquela dos armazenados por 2 meses e 3 meses. Houve também diferença significativa, ao nível de 1% de probabilidade, entre as germinações médias do pólen armazenado por período de 2 meses e 3 meses.

As germinações médias em função do tempo de armazenagem foram:

Tempo de armazenagem (meses)	Germinação média (%)
recém-colhido	60,5
1	33,7
2	16,4
3	7,0

d) Houve diferença altamente significativa - (1% de probabilidade) no comportamento da germinação em função das concentrações para o **E. tereticornis**. A germinação média encontrada para a solução com 20% de sacarose não diferiu daquela encontrada para 25%, diferindo significativamente da de 30% e 40% a 1% de probabilidade. A germinação média encontrada para a solução de concentração 25% em sacarose não diferiu das de 30 % e 40 % , não havendo também diferença entre a de 30% e 40%.

A germinação média encontrada para o **E. tereticornis**, independentemente do tempo de armazenagem, em função da concentração foi:

Concentração de sacarose da solução (%)	% de germinação
20	47,4
25	37,9
30	29,7
40	24,6

Houve diferença altamente significativa (ao nível de 1% de probabilidade), no comportamento da germinação do pólen das espécies dentro das soluções com concentrações de 20%, 25% e 30% de sacarose.

Na solução com 20% de sacarose, a germinação média do pólen de **E. tereticornis** diferiu significativamente ao nível de 5% da do **E. robusta** e ao nível de 1% da do **E. camaldulensis**.

A germinação média encontrada para a solução de 20% de sacarose, independentemente do tempo de armazenagem foi:

Espécie	% de germinação
E. tereticornis	47,4
E. robusta	32,2
E. camaldulensis	23,8

Na solução com 25% de sacarose, a germinação média do pólen do **E. tereticornis** diferiu significativamente ao nível de 5% de probabilidade da do **E. camaldulensis**.

A germinação média encontrada para a solução de 25% de sacarose, independentemente do tempo de armazenagem foi:

Espécie	% de germinação
E. tereticornis	37,9
E. robusta	27,6
E. camaldulensis	24,8

Na solução com 30% de sacarose a germinação média do pólen do **E. tereticornis** diferiu ao nível de 5% de probabilidade da do **Eucalyptus camaldulensis**.

A germinação média encontrada para a solução de 30% de sacarose, independentemente do tempo de armazenagem foi:

Espécie	% de germinação
E. tereticornis	29,7
E. robusta	26,4
E. camaldulensis	17,2

e) A germinação média do pólen variou significativamente ao nível de 1% de probabilidade em função do tempo de armazenagem para as três espécies.

Para o **E. robusta** a germinação média do pólen recém-colhido diferiu significativamente (ao nível de 1% de probabilidade} da do armazenado por 1, 2 e 3 meses. A germinação média do pólen armazenado por 1 mês diferiu ao nível de 5% de probabilidade da do armazenado por 3 meses e ao nível de 1% de probabilidade da do armazenado por 3 meses. Entre o pólen armazenado por 2 e 3 meses houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade.

A germinação média do pólen de **E. robusta** em função do tempo de armazenagem a -10°C foi:

Tempo de armazenagem (meses)	% de germinação
recém-colhido	53,4
1	32,3
2	19,1
3	8,3

Para o **E. camaldulensis**, a germinação média do pólen recém-colhido diferiu significativamente ao nível de 1% de probabilidade da do armazenado por 1, 2 e 3 meses. A germinação média do pólen armazenado por 1 mês diferiu significativamente ao nível de 1% de probabilidade da do armazenado por 2 e 3 meses; a de 2 e 3 meses não diferiram significativamente.

A germinação média do pólen de **E. camaldulensis** em função do tempo de armazenagem a -10°C foi:

Tempo de armazenagem (meses)	% de germinação
recém-colhido	51,2
1	29,6
2	12,5
3	7,2

Para o **E. tereticornis**, a germinação média do pólen recém-colhido diferiu significativamente ao nível de 1% de probabilidade da do armazenado por 1, 2 e 3 meses. A germinação média do pólen armazenado por 1 mês diferiu significativamente ao nível de 1% de probabilidade da do armazenado por 2 e 3 meses; a de 2 meses diferiu também ao nível de 1% de probabilidade da de 3 meses.

A germinação média do pólen de **E. tereticornis** em função do tempo de armazenagem a -10°C foi:

Tempo de armazenagem (meses)	% de germinação
recém-colhido	78,1
1	41,9
2	19,7
3	7,1

Houve significância ao nível de 1% de probabilidade no comportamento da germinação do pólen recém-colhido em função das espécies. A germinação média do pólen recém-colhido de **E. tereticornis** diferiu significativamente ao nível de 1% de probabilidade, pelo Teste de Tukey, da do **E. robusta** e **E. camaldulensis**. O **E. robusta** e o **E. camaldulensis** não diferiram significativamente entre si.

A germinação média dos grãos de pólen para as três espécies, em material recém-colhido foi:

Espécie	% de germinação
E. tereticornis	78,1
E. robusta	53,4
E. camaldulensis	51,2

Para os períodos de armazenagem de 1,2 e 3 meses o comportamento da germinação do pólen foi idêntico para as três espécies.

A germinação média do pólen, independentemente da espécie, variou significativamente ao nível de 1% de probabilidade em função da concentração, para o pólen recém-colhido e para o armazenado por 1 e 2 meses.

Para o pólen recém-colhido, a germinação média encontrada para a solução com 25% de sacarose diferiu significativamente ao nível de 1% de probabilidade da de 20%, 30% e 40%.

Não houve diferença significativa entre as germinações médias do pólen para as soluções de 20%, 30% e 40%.

A germinação média encontrada para o pólen recém-colhido em função da concentração de sacarose da solução foi:

Concentração de sacarose da solução (%)	% de germinação
25	84,8
20	59,5
30	54,1
40	43,2

Para o pólen armazenado por um período de 1 mês, a germinação média do pólen encontrada para a solução com 20% de sacarose diferiu significativamente ao nível de 1% de probabilidade da de 25% , não diferindo da de 30% e 40%.

A germinação média encontrada para o pólen armazenado por 1 mês a -10°C, em função da concentração de sacarose da solução foi:

Concentração de sacarose da solução (%)	% de germinação
20	46,8
30	33,9
40	33,3
25	24,9

Para o pólen armazenado por um período de 2 meses, a germinação média encontrada para a solução de 20% diferiu significativamente ao nível de 1% de probabilidade da de 30% , não diferindo da de 25% e 40%.

A germinação média encontrada para o pólen armazenado por 2 meses a -10°C, em função da concentração de sacarose da solução foi:

Concentração de sacarose da solução (%)	% de germinação
20	26,4
40	19,7
25	14,4
30	9,5

No tocante ao comportamento da germinação em função do tempo de armazenagem, dentro das diferentes concentrações de sacarose da soluções, constatou-se que houve significância para todas as concentrações utilizadas. A análise dos contrastes das médias pelo Teste de Tukey revelou que:

Para a solução com concentração de 20% em sacarose, a germinação média do pólen recém-colhido diferiu significativamente ao nível de 1% de probabilidade da do armazenado por 2 e 3 meses, não diferindo da do armazenado por 1 mês. A germinação média do pólen armazenado por 1 mês diferiu, significativamente (a 1% de probabilidade) da de 2 meses e 3 meses, o mesmo ocorrendo entre 2 e 3 meses.

A germinação média do pólen na solução com 20% de concentração em sacarose, em função do tempo de armazenagem foi:

Tempo de armazenagem (meses)	% de germinação
recém-colhido	59,5
1	46,8
2	26,4
3	10,2

Para a solução com concentração 25% de sacarose, a germinação média do pólen recém-colhido diferiu significativamente ao nível de 1% de probabilidade da do armazenado por 1, 2 e 3 meses. A germinação média do pólen armazenado por 1 mês não diferiu da do armazenado por 2 meses, diferindo significativamente porém, ao nível de 1 % de probabilidade da do armazenado por 3 meses. A germinação média do pólen armazenado por 2 e 3 meses não diferiu significativamente.

A germinação média do pólen na solução com concentração de 25% em sacarose, em função do tempo de armazenagem foi:

Tempo de armazenagem (meses)	% de germinação
recém-colhido	84,8
1	25,0
2	14,4
3	5,4

Para a solução com concentração 30% de sacarose, a germinação média do pólen recém-colhido diferiu significativamente ao nível de 1% de probabilidade, da dos demais tempos de armazenagem, o mesmo ocorrendo com 1 mês de armazenagem. Entre 2 e 3 meses de armazenagem não houve diferença significativa entre a germinação média do pólen.

A germinação média do pólen, na solução com concentração de 30% em sacarose, em função do tempo de armazenagem foi:

Tempo de armazenagem (meses)	% de germinação
recém-colhido	54,1
1	33,9
2	9,5
3	8,2

Para a solução com concentração de 30% de sacarose, a germinação média do pólen recém-colhido diferiu significativamente, a 1% de probabilidade da dos demais tempos de armazenagem. A germinação média do pólen, armazenado por 1 mês, não diferiu da de 2 meses, diferindo significativamente, a 1% de probabilidade, da do armazenado por 3 meses. A germinação média do pólen armazenado por 2 meses diferiu significativamente a 5% de probabilidade da do armazenamento por 3 meses.

A germinação média do pólen na solução com concentração 40% em sacarose, em função do tempo de armazenagem foi:

Tempo de armazenagem (meses)	% de germinação
recém-colhido	43,2
1	33,3
2	19,7
3	6,5

4.2. Germinação dos grãos de pólen de *E. robusta*, *E. camaldulensis* e *E. tereticornis*, armazenados a 4°C, em função do tempo de armazenagem e da concentração de sacarose da solução

QUADRO N.º2 - Porcentagem de germinação (transformada em dos grãos de pólen das espécies ***E. robusta***, ***E. camaldulensis***, e ***E. tereticornis***, armazenados a uma temperatura de 4°C, em função do tempo de armazenagem e da concentração de sacarose da solução.

Concentração	<i>E. robusta</i> (*)				<i>E. camaldulensis</i>				<i>E. tereticornis</i>			
	T ₀	t ₁	T ₂	t ₃	T ₀	t ₁	t ₂	t ₃	T ₀	t ₁	t ₂	T ₃
20%	52,44	42,17	47,56	47,74	43,84	45,96	40,32	16,18	60,97	41,30	25,68	21,97
	46,70	39,26	49,29	49,70	28,06	42,28	29,56	17,76	70,86	52,86	25,08	17,24
25%	67,08	56,61	43,09	23,69	64,66	26,78	8,42	17,66	69,54	46,36	20,86	20,23
	59,39	47,56	32,89	32,58	68,20	37,25	13,94	20,77	73,45	46,42	30,70	20,50
30%	39,50	35,74	24,16	7,77	26,42	30,43	15,15	10,64	74,94	32,77	25,75	22,56
	36,89	41,48	22,22	16,50	36,11	26,85	0,50	11,89	72,45	41,65	19,31	15,39
40%	43,21	43,78	36,83	49,52	56,92	41,24	23,92	21,38	36,53	43,61	18,16	24,85
	30,43	46,07	34,77	47,79	41,13	35,93	26,92	10,81	38,20	41,48	19,50	24,16

(*) t₀ = pólen recém colhido.
t₁ = pólen armazenado durante 1 mês.
t₂ = pólen armazenado durante 2 meses.
t₃ = pólen armazenado durante 3 meses.

A análise da variância dos dados de germinação dos grãos de pólen armazenados a 4°C, relacionados no Quadro n.º 2 revelou:

As espécies ***E. robusta***, ***E. camaldulensis*** e ***E. tereticornis*** diferiram significativamente entre si, ao nível de 1% de probabilidade, independentemente do tempo de armazenagem e da concentração da solução. Após a aplicação do Teste de Tukey na análise dos contrastes das médias de germinação, constatou-se que: a germinação média do pólen de ***E. robusta*** diferiu significativamente ao nível de 5% de probabilidade do ***E. tereticornis*** e ao nível de 1% de probabilidade do ***E. camaldulensis***. Entre o ***E. tereticornis*** e o ***E. camaldulensis*** houve diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade para as médias de germinação.

As germinações médias foram: ***E. robusta*** - 42,1%, ***E. tereticornis*** - 36,8% e ***E. camaldulensis*** - 24,0%.

Houve diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade, no comportamento da germinação do pólen em função da concentração de sacarose da solução. Após a análise do contraste das médias pelo Teste de Tukey, constatou-se que houve diferença altamente significativa, ao nível de 1% de probabilidade, entre as germinações médias encontradas para a solução com 20% de concentração em sacarose e aquelas de 30% , o mesmo

ocorrendo entre as de 20% e 40%, 25% e 30%, 25% e 40% e 30% e 40% .Não houve diferença significativa entre as concentrações de 20% e 25%.

As porcentagens médias de germinação em função das concentrações em sacarose foram:

Concentração de sacarose (%)	% média de germinação
20	40,9
25	40,5
40	32,7
30	23,0

Houve diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade no comportamento da germinação do pólen em função do tempo de armazenagem. Após a análise dos contrastes das médias pelo Teste de Tukey, constatou-se que, para as três espécies, a germinação média do pólen recém-colhido diferiu significativamente ao nível de 1% de probabilidade, daqueles armazenados a 4°C por períodos de 1 mês, 2 meses e 3 meses. A germinação do pólen armazenado por um período de 1 mês diferiu significativamente a 1% de probabilidade, dos armazenados por 2 meses e 3 meses. Não houve diferença significativa entre as médias de germinação do pólen armazenado por 2 e 3 meses.

As germinações médias em função do tempo de armazenagem foram:

Tempo de armazenagem (meses)	% de germinação
recém-colhido	61,4
1	43,2
2	19,8
3	16,2

Houve diferença altamente significativa, ao nível de 1% de probabilidade, no comportamento da germinação em função das concentrações para as três espécies.

Para o **E. robusta**, a germinação média encontrada para a solução de 20% de sacarose, não diferiu daquelas encontradas para 25% e 40%, diferindo significativamente da de 30% , ao nível de 1% de probabilidade. A germinação encontrada para a solução com 25% de sacarose não diferiu da de 40% , diferindo significativamente, a 1% de probabilidade, da de 30%, o mesmo ocorrendo entre 40% e 30%.

A germinação média encontrada para o **E. robusta**, independentemente do tempo de armazenagem, em função da concentração de sacarose foi:

Concentração de sacarose (%)	% média de germinação
20	53,0
25	50,6
40	44,0
30	22,1

Para o **E. camaldulensis**, a germinação média encontrada para a solução de 20% de sacarose não diferiu daquelas encontradas para 25% e 40%, diferindo significativamente da de 30%, ao nível de 1% de probabilidade. A germinação encontrada para a solução com 40% de sacarose não diferiu da de 25% , diferindo significativamente, a 1% de probabilidade, da de 30% , o mesmo ocorrendo entre 25% e 30% .

A germinação média encontrada para o **E. camaldulensis**, independentemente do tempo de armazenagem, em função da concentração de sacarose foi:

Concentração de sacarose (%)	% média de germinação
20	29,7
40	28,5
25	28,4
30	11,4

Para o **E. tereticornis**, a germinação média encontrada para a solução de 25% de sacarose não diferiu daquelas encontradas para 20% e 30%, diferindo significativamente da de 40%, ao nível de 1% de probabilidade. A germinação encontrada para a solução com 20% não diferiu da de 30%, diferindo significativamente, a 1% de probabilidade, da de 40%. A germinação média encontrada para a solução de 30% do sacarose diferiu significativamente, a 5% de probabilidade, daquela encontrada para a de 40%.

A germinação média encontrada para o **E. tereticornis**, independentemente do tempo de armazenagem, em função da concentração de sacarose foi:

Concentração de sacarose (%)	% média de germinação
25	43,0
20	40,5
30	38,1
40	26,2

Houve diferença significativamente, ao nível de 1% de probabilidade, no comportamento da germinação do pólen das espécies dentro das soluções com concentrações de 20%, 25% e 30% de sacarose.

Na solução com 20% de sacarose, a germinação média do pólen do **E. robusta** diferiu significativamente, ao nível de 1% de probabilidade, da do **E. tereticornis** e da do **E. camaldulensis**. A germinação média do **E. tereticornis** diferiu significativamente, a 5% de probabilidade, da do **E. camaldulensis**.

A germinação média do pólen para as três espécies, independentemente do tempo de armazenagem, para a solução com concentração de 20% de sacarose foi:

Espécie	% de germinação
E. robusta	53,0
E. tereticornis	40,5
E. camaldulensis	29,7

Na solução com 25% de sacarose, a germinação média do pólen de **E. robusta** não diferiu da do **E. tereticornis**, diferindo, porém, significativamente, a 1% de probabilidade, do **E. camaldulensis**, o mesmo ocorrendo entre o **E. tereticornis** e **E. camaldulensis**.

A germinação média do pólen para as três espécies, independentemente do tempo de armazenagem, para a solução com concentração de 25% de sacarose foi:

Espécie	% de germinação
E. robusta	50,6
E. tereticornis	43,0
E. camaldulensis	28,4

Na solução com 30% de sacarose, a germinação média do pólen de **E. tereticornis** diferiu significativamente, a 1% de probabilidade, daquelas das outras espécies. Entre **E. robusta** e **E. camaldulensis** houve diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade, para as germinações médias.

A germinação média do pólen para as três espécies, independentemente do tempo de armazenagem, para a solução com concentração de 30% de sacarose foi:

Espécie	% de germinação
E. tereticornis	38,1
E. robusta	22,1
E. camaldulensis	11,4

Na solução com 40% de sacarose, a germinação média do pólen de **E. robusta** diferiu significativamente a 1% de probabilidade daquelas de **E. camaldulensis** e **E. tereticornis**. Estas últimas não diferiram entre si.

A germinação média do pólen para as três espécies, independentemente do tempo de armazenagem, para a solução com concentração de 40% de sacarose foi:

Espécie	% de germinação
E. robusta	44,0
E. camaldulensis	28,5
E. tereticornis	26,2

A germinação média do pólen variou significativamente, ao nível de 1% de probabilidade, em função do tempo de armazenagem para as três espécies.

Para o **E. robusta**, a germinação média do pólen recém-colhido diferiu significativamente, a 1% de probabilidade, da do armazenado por 2 e 3 meses. A germinação média do pólen armazenado por 1 mês diferiu, ao nível de 1% de probabilidade, da do armazenado por 2 e 3 meses. As germinações médias do pólen recém-colhido e 1 mês, não diferiram significativamente, bem como as de 2 e 3 meses.

A germinação média do pólen de **E. robusta**, em função do tempo de armazenagem, a 4°C foi:

Tempo de armazenagem (meses)	% de germinação
recém-colhido	53,4
1	48,4
2	35,3
3	31,9

Para o **E. camaldulensis**, a germinação média do pólen recém-colhido diferiu significativamente, a 1% de probabilidade, da do armazenado por 1, 2 e 3 meses. A germinação média do pólen armazenado por 1 mês diferiu significativamente, ao nível de 1% de probabilidade, da do armazenado por 2 e 3 meses; as de 2 meses e 3 meses não diferiram significativamente.

A germinação média do pólen de **E. camaldulensis**, em função do tempo de armazenagem, a 4°C foi:

Tempo de armazenagem (meses)	% de germinação
recém-colhido	51,2
1	34,3
2	11,5
3	7,5

Para o **E. tereticornis**, a germinação média do pólen recém-colhido diferiu significativamente, a 1% de probabilidade, da do armazenado por 1, 2 e 3 meses. A germinação média do pólen armazenado por 1 mês diferiu significativamente, ao nível de 1% de probabilidade, da do armazenado por 2 e 3 meses; as de 2 meses e 3 meses não diferiram significativamente.

A germinação média do pólen de **E. tereticornis**, em função do tempo de armazenagem, a 4°C foi:

Tempo de armazenagem (meses)	% de germinação
recém-colhido	78,1
1	47,1
2	15,4
3	12,7

A germinação média do pólen das espécies variou significativamente, ao nível de 1% de probabilidade, para o material recém-colhido, bem como para o armazenado por 1 mês, 2 meses e 3 meses.

A germinação média do pólen recém-colhido de **E. tereticornis** diferiu significativamente, ao nível de 1% de probabilidade, da do **E. robusta** e **E. camaldulensis**; o **E. robusta** e o **E. camaldulensis** não diferiram significativamente.

A germinação média encontrada para o pólen recém-colhido foi:

Espécie	% de germinação
E. tereticornis	78,1
E. robusta	53,4
E. camaldulensis	51,2

Para o pólen armazenado por 1 mês, a germinação média do pólen de **E. tereticornis** e de **E. robusta** não diferiram significativamente, porém ambas diferiram significativamente, a 1% de probabilidade, da germinação média de **E. camaldulensis**.

A germinação média encontrada para o pólen armazenado por 1 mês, a 4°C foi:

Espécie	% de germinação
E. robusta	48,4
E. tereticornis	47,1
E. camaldulensis	34,3

Para o pólen armazenado por 2 e 3 meses, a germinação média do pólen de **E. robusta** diferiu significativamente, a 1% de probabilidade, das outras espécies que não diferiram entre si.

A germinação média encontrada para o pólen armazenado por 2 meses, a 4°C foi:

Espécie	% de germinação
E. robusta	35,3
E. tereticornis	15,4
E. camaldulensis	11,5

A germinação média encontrada para o pólen armazenado por 3 meses a 4°C foi:

Espécie	% de germinação
E. robusta	31,9
E. tereticornis	12,7
E. camaldulensis	7,5

A germinação média do pólen, independentemente da espécie, variou significativamente ao nível de 1% de probabilidade, em função da concentração, para o pólen recém-colhido e armazenado por 1, 2 e 3 meses.

Para o pólen recém-colhido a germinação média do pólen encontrada para a solução de 25% de sacarose, diferiu significativamente, a 1% de probabilidade, das de 20, 30 e 40%. A germinação média do pólen encontrada para a solução com 20% de sacarose, não diferiu da com 30% , diferindo significativamente, porém, a 1% de probabilidade, da com 40%. Entre as soluções com 30 % e 40 % , houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade, para as germinações médias.

A germinação média encontrada para o pólen recém-colhido em função da concentração de sacarose da solução foi:

Concentração de sacarose da solução (%)	% média de germinação
25	84,8
20	59,5
30	54,7
40	43,2

Para o pólen armazenado por um período de 1 mês, a germinação média do pólen encontrada para a solução com 20% de sacarose, não diferiu das com 25% e 40% de sacarose, diferindo significativamente, a 1% de probabilidade, da com 30% de sacarose. A germinação média encontrada para a solução com 25% de sacarose, não diferiu da com 40% , diferindo significativamente, a 1% de probabilidade, da com 30 % de sacarose. Entre

as soluções com 40% e 30% de sacarose, houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade, para as germinações médias.

A germinação média encontrada para o pólen armazenado por 1 mês, a 4°C, em função da concentração de sacarose da solução foi:

Concentração de sacarose da solução (%)	% média de germinação
20	48,2
25	47,4
40	44,8
30	32,6

Para o pólen armazenado por um período de 2 meses, a germinação média encontrada para a solução com 20% de sacarose diferiu significativamente, ao nível de 1% de probabilidade, da com 25, 30 e 40%. A germinação média encontrada para a solução com 40 % de sacarose. não diferiu da com 25 % de sacarose, diferindo significativamente, porém, ao nível de 1% de probabilidade, da com 30% de sacarose. Entre as soluções com 25% e 30% de sacarose houve diferença significativa ao nível de 5% de probabilidade, para as médias de germinação.

A germinação média encontrada para o pólen armazenado por 2 meses, a 4°C. em função da concentração de sacarose da solução foi:

Concentração de sacarose da solução (%)	% média de germinação
20	35,0
40	20,1
25	17,8
30	9,4

Para o pólen armazenado por um período de 3 meses, a germinação média encontrada para a solução com 40% de sacarose, não diferiu da com 20% de sacarose, diferindo significativamente, ao nível de 5% de probabilidade, da com 25% e ao nível de 1% de probabilidade, da com 30% de sacarose. A germinação média encontrada para a solução com 20% de sacarose não diferiu da com 25% de sacarose, diferindo significativamente, ao nível de 1% de probabilidade, da com 30% de sacarose, o mesmo ocorrendo entre 25% e 30% de sacarose.

A germinação média encontrada para o pólen armazenado por 3 meses, a 4°C, em função da concentração de sacarose da solução foi:

Concentração de sacarose da solução (%)	% média de germinação
40	24,6
20	22,7
25	14,7
30	6,0

No tocante ao comportamento da germinação em função do tempo de armazenagem, dentro das diferentes concentrações de sacarose das soluções, constatou-se que houve significância para todas as concentrações utilizadas. A análise dos contrastes pelo Teste de Tukey revelou:

Para a solução com concentração de 20% em sacarose, a germinação média do pólen recém-colhido diferiu significativamente, ao nível da do armazenado por 2 e 3 meses não diferindo da do armazenado por 1 mês. A germinação média do pólen armazenado por 1 mês diferiu significativamente, a 5% de probabilidade, da de 2 meses e, a 1% de probabilidade, da de 3 meses. Entre 2 meses e 3 meses, as germinações médias diferiram significativamente, a 5 % de probabilidade.

A germinação média do pólen na solução com 20% de concentração em sacarose, em função do tempo de armazenagem foi:

Tempo de armazenagem (meses)	% de germinação
recém-colhido	59,5
1	42,2
2	35,0
3	22,7

Para a solução com concentração de 25% em sacarose, a germinação média do pólen recém-colhido diferiu significativamente, ao nível de 1% de probabilidade, da do armazenado por 1, 2 e 3 meses, o mesmo acontecendo com o pólen armazenado por 1 e 2 meses, e 1 e 3 meses. As germinações médias do pólen armazenado por 2 meses e 3 meses não diferiram significativamente.

A germinação média do pólen na solução com 25% de concentração em sacarose, em função do tempo de armazenagem foi:

Tempo de armazenagem (meses)	% de germinação
recém-colhido	84,8
1	47,4
2	17,8
3	14,7

Para a solução com concentração de 30% em sacarose, a germinação média do pólen recém colhido diferiu significativamente, ao nível de 1% de probabilidade, da do armazenado por 1, 2 e 3 meses, o mesmo ocorrendo com o pólen armazenado por 1 mês e 2 meses, e 1 mês e 3 meses. As germinações médias do pólen armazenado por 2 e 3 meses não diferiram significativamente.

A germinação média do pólen na solução com 30% de concentração em sacarose, em função do tempo de armazenagem foi:

Tempo de armazenagem (meses)	% de germinação
recém-colhido	54,7
1	32,6
2	9,4
3	6,0

Para a solução com concentração de 40% em sacarose, a germinação média do pólen recém-colhido não diferiu da do armazenado por 1 mês, diferindo significativamente, a 1% de probabilidade, da do armazenado por 2 e 3 meses, o mesmo ocorrendo com o pólen armazenado por 1 mês. Entre 2 e 3 meses de armazenagem não houve diferença significativa para as médias de germinação.

A germinação média do pólen na solução com 40% de concentração em sacarose, em função do tempo de armazenagem foi:

Tempo de armazenagem (meses)	% de germinação
recém-colhido	44,8
1	43,2
2	24,6
3	20,2

4.3 Germinação dos grãos de pólen de *E. resinifera* armazenados a -10°C, em função da concentração de sacarose da solução e do tempo de armazenagem.

QUADRO N.º3 - Porcentagens de germinação (transformada em $\arcsin \sqrt{P/100}$) dos grãos de pólen da espécie *E. resinifera*, armazenadas as temperaturas de -10°C e 4°C, em função do tempo de armazenagem e da concentração de sacarose da solução.

Tempo de Armazenagem	Temperatura de -10°C			Temperatura de 4°C		
	Recém-Colhido	1 mês	2 meses	Recém-Colhido	1 mês	2 meses
20%	40,14	23,84	25,15	40,14	33,65	37,61
	42,80	24,47	12,18	42,80	50,28	34,95
25%	50,51	23,69	17,76	50,51	42,46	43,04
	49,23	39,79	21,89	49,23	50,45	50,28
30%	61,44	8,63	13,68	61,44	27,70	0,50
	62,67	7,99	11,89	62,67	34,77	16,29
40%	83,01	23,05	15,62	83,01	62,32	28,06
	90,50	30,50	16,29	90,50	52,03	44,35

A Análise da Variância dos dados de germinação dos grãos de pólen armazenados a -10°C e a 4°C, relacionados no Quadro n.º 3, revelou:

Houve diferença altamente significativa (ao nível de 1% de probabilidade), no comportamento da germinação do pólen em função da concentração de sacarose da solução. Após a análise do contraste das médias pelo Teste de Tukey, constatou-se que houve diferença significativa entre as germinações médias encontradas para a solução de 40% de sacarose e aquelas de 25%, 20% e 30%. A germinação média encontrada para solução de 25% de sacarose diferiu significativamente, a 5% de probabilidade, daquela de 20% de sacarose e, a 1% de probabilidade, daquela de 30% de sacarose. Entre as soluções de 20% e 30% de sacarose não houve diferença significativa para as germinações médias.

As porcentagens médias de germinação em função das concentrações foram:

Concentração de sacarose (%)	% média de germinação
40	61,4
25	42,6
20	31,3
30	26,2

Houve diferença altamente significativa (ao nível de 1% de probabilidade), no comportamento da germinação do pólen, em função do tempo de armazenagem. Após a análise dos contrastes das médias pelo Teste de Tukey, constatou-se que a germinação do pólen recém-colhido de *E. resinifera*, diferiu significativamente, a 1% de probabilidade, daquelas armazenadas por período de 1 e 2 meses, independente da temperatura de

armazenagem. A germinação média do pólen armazenado por um período de 1 mês, diferiu significativamente, a 1% de probabilidade, daquela do armazenado por 2 meses.

A germinação média em função do tempo de armazenagem foi:

Tempo de armazenagem (meses)	% de germinação
recém-colhido	75,1
1	33,7
2	17,0

Houve diferença altamente significativa (ao nível de 1% de probabilidade), no comportamento da germinação do pólen em função da temperatura de armazenagem. Após a análise dos contrastes das médias pelo Teste de Tukey, constatou-se que a germinação do pólen armazenado a 49G diferiu significativamente, a 1% de probabilidade, daquela do armazenado a -10°C.

A germinação média em função da temperatura de armazenagem foi:

Tempo de armazenagem	% de germinação
4oC	50,7
-10oC	30,0

Houve diferença altamente significativa, ao nível de 1% de probabilidade, no comportamento da germinação do pólen, em função das concentrações de sacarose das soluções, nos tempos de armazenagens estudados. A análise dos contrastes das médias pelo Teste de Tukey revelou:

Para o pólen recém-colhido, a germinação média do pólen encontrada para a solução com 40% de sacarose, diferiu significativamente, ao nível de 1 % de probabilidade, da de 30, 25 e 20%. A germinação média do pólen encontrada para a solução com 30% de sacarose diferiu significativamente, a 5% de probabilidade, da de 25% e, a 1% de probabilidade, da de 20% de sacarose. Entre as soluções com 25 e 20% de concentração em sacarose não houve diferença significativa para as germinações médias.

A germinação média encontrada para o pólen recém-colhido, em função da concentração de sacarose da solução foi:

Concentração de sacarose da solução (%)	% média de germinação
40	99,8
30	78,0
25	58,5
20	43,9

Para o pólen armazenado por um período de 1 mês, a germinação média do pólen encontrada para a solução com 40% de sacarose, diferiu significativamente, ao nível de 1% de probabilidade, da de 30% de sacarose, não diferindo das de 25% e 20%, o mesmo ocorrendo entre 25% e 20% de sacarose. A germinação média do pólen encontrada para a solução com 25% de sacarose, diferiu significativamente, a 1% de probabilidade da de 20% de sacarose. Entre as soluções de 20% e 30% de sacarose, houve diferença significativa a 5% de probabilidade nos contrastes das médias de germinação.

A germinação média encontrada para o pólen armazenado por 1 mês, em função da concentração de sacarose da solução foi:

Concentração de sacarose da solução (%)	% média de germinação
40	44,7
25	39,8
20	29,8
30	11,4

Para o pólen armazenado por um período de 2 meses, a germinação média do pólen encontrada para a solução com 25% de sacarose, diferiu significativamente, ao nível de 1% de probabilidade, daquelas das demais concentrações, que não diferiram significativamente entre si.

A germinação média encontrada para o pólen armazenado por 2 meses, em função da concentração de sacarose da solução foi:

Concentração de sacarose da solução (%)	% média de germinação
25	30,1
20	9,0
40	7,7
30	3,4

Houve diferença altamente significativa, ao nível de 1% de probabilidade, no comportamento da germinação do pólen, em função do tempo de armazenagem nas soluções de concentrações estudadas. A análise dos contrastes pelo Teste de Tukey revelou:

Para a solução com concentração de 20% em sacarose, a germinação média do pólen recém-colhido não diferiu da do armazenado por 1 mês, diferindo, porém, significativamente, a 1% de probabilidade, da do armazenado por 2 meses, o mesmo ocorrendo entre o armazenado por 1 e 2 meses.

A germinação média do pólen na solução com 20% de concentração em sacarose, em função do tempo de armazenagem foi:

Tempo de armazenagem (meses)	% de germinação
recém-colhido	43,9
1	29,8
2	9,0

Para a solução com concentração de 25% em sacarose, a germinação média do pólen recém-colhido, diferiu significativamente, ao nível de 5% de probabilidade, da do armazenado por 2 meses. Entre 1 e 2 meses de armazenagem não houve diferença significativa.

A germinação média do pólen na solução com 25% de concentração em sacarose, em função do tempo de armazenagem foi:

Tempo de armazenagem (meses)	% de germinação
recém-colhido	58,5
1	39,8
2	30,1

Para a solução com concentração de 30% em sacarose, a germinação média do pólen recém-colhido diferiu significativamente, ao nível de 1% de probabilidade,

da do armazenado por 1 e 2 meses, cujas médias não diferiram significativamente entre si.

A germinação média do pólen na solução com 30% de concentração em sacarose, em função do tempo de armazenagem foi:

Tempo de armazenagem (meses)	% de germinação
recém-colhido	78,0
1	11,4
2	3,4

Para a solução com concentração de 40% em sacarose, a germinação média do pólen recém-colhido diferiu significativamente, ao nível de 1% de probabilidade, das dos armazenados por 1 e 2 meses, o mesmo ocorrendo entre 1 e 2 meses de armazenagem.

A germinação média do pólen na solução com 40% de concentração em sacarose, em função do tempo de armazenagem foi:

Tempo de armazenagem (meses)	% de germinação
recém-colhido	99,8
1	47,7
2	7,7

Houve diferença significativa, ao nível de 1% de probabilidade. no comportamento da germinação do pólen em função das concentrações de sacarose para as duas temperaturas de armazenagem estudadas.

Para a temperatura de -10°C , a germinação média encontrada para a solução de 40% .diferiu significativamente, a 5% de probabilidade. da de 25%, diferindo significativamente, a 1% de probabilidade, das de 20% e 30 % de sacarose. Não houve diferença significativa entre as germinações médias obtidas com as soluções de concentração 25, 20 e 30% de sacarose.

A germinação média do pólen armazenado a -10°C , em função das concentrações de sacarose foi:

Concentração de sacarose da solução (%)	% média de germinação
40	46,8
25	31,0
20	22,2
30	21,6

Para a temperatura de 4°C , a germinação média encontrada para a solução de 40% de sacarose, diferiu significativamente, a 1% de probabilidade, das de 25% , 20 e 30% de sacarose. A germinação média para a solução de 25% de sacarose não diferiu significativamente da de 20% , porém diferiu a 1% de probabilidade, da de 30% .Entre as soluções de 20 e 30% de sacarose não houve diferença significativa para as germinações médias.

A germinação média do pólen armazenado a 4°C , em função das concentrações de sacarose foi:

Concentração de sacarose da solução (%)	% média de germinação
40	75,1
25	54,6
20	41,2
30	31,1

Houve diferença significativa ao nível de 1% de probabilidade, no comportamento da germinação do pólen em função da temperatura de armazenagem, para as concentrações de 20, 25 e 40% em sacarose. Em todas estas concentrações de sacarose, a germinação média encontrada para a temperatura de 4°C foi significativamente superior, ao nível de 1% de probabilidade, daquela encontrada para a temperatura de -10°C.

A germinação média do pólen para a concentração de 20% de sacarose, em função das temperaturas de armazenagem foi: 4°C = 41,2 e -10°C = 22,2.

A germinação média do pólen para a concentração de 25% de sacarose, em função das temperaturas de armazenagem foi: 4°C = 54,6 e -10°C = 31,0.

A germinação média do pólen para a concentração de 40% de sacarose, em função das temperaturas de armazenagem foi: 4°C = 75,1 e -10°C = 46,8.

Houve diferença altamente significativa, ao nível de 1% de probabilidade, no comportamento da germinação do pólen em função dos tempos de armazenagem, nas temperaturas de armazenagem estudadas. A análise dos contrastes das médias pelo Teste de Tukey, revelou:

Para a temperatura de -10°C, a germinação média do pólen recém-colhido, diferiu significativamente, a 1% de probabilidade, da do armazenado por 1 e 2 meses. A germinação média do pólen armazenado por 1 e 2 meses não diferiu significativamente entre si.

A germinação média do pólen, armazenado a 4°C, em função do tempo de armazenagem foi:

Tempo de armazenagem (meses)	% de germinação
recém-colhido	82,2
1	15,0
2	8,4

Para a temperatura de 4°C, a germinação média do pólen recém-colhido, diferiu significativamente, a 1% de probabilidade, da do armazenado por 1 e 2 meses, o mesmo ocorrendo entre o pólen armazenado por 1 mês e 2 meses.

A germinação média do pólen, armazenado a -10°C, em função do tempo de armazenagem foi:

Tempo de armazenagem (meses)	% de germinação
recém-colhido	82,2
1	48,6
2	27,9

Houve diferença altamente significativa, ao nível de 1% de probabilidade, no comportamento da germinação do pólen, em função da temperatura de armazenagem, nos tempos de armazenagem estudados. A análise dos contrastes das médias pelo Teste de Tukey revelou que, tanto para o período de 1 mês como 2 meses de armazenagem, a

germinação média do pólen encontrada para a temperatura de 4°C diferiu significativamente, a 1% de probabilidade, da encontrada para a temperatura de -10°C.

A germinação média do pólen em função da temperatura de armazenagem para o período de 1 mês de armazenagem foi: 4°C = 48,6 e -10°C = 15,0.

A germinação média do pólen em função da temperatura de armazenagem para o período de 2 meses de armazenagem foi: 4°C = 27,9 e -10°C = 8,4.

5. RESUMO E CONCLUSÕES

Com base no estudo das espécies:

E. robusta, **E. tereticornis**, **E. camaldulensis** e **E. resinifera**, cujo pólen foi armazenado às temperaturas de 4°C e -10°C, por períodos que variaram desde recém-colhido até 3 meses, os autores chegaram às seguintes conclusões:

1) Para as espécies **E. tereticornis**, **E. robusta** e **E. camaldulensis**, houve alta variação na germinação do grão de pólen recém-colhido. **E. tereticornis** -78,1%, **E. robusta** -53,4% e **E. camaldulensis** -51,2%.

Armazenagem a -10°C

2) A armazenagem a -10°C, por períodos de 1, 2 e 3 meses, influenciou significativamente na germinação do pólen, encontrando-se os seguintes resultados para as espécies estudadas:

Espécie	Recém-colhido	Pólen		
		Armazenado por		
		1 mês	2 meses	3 meses
E. tereticornis	78,1%	41,9%	19,7%	7,1%
E. robusta	53,4%	32,9%	19,1%	8,3%
E. camaldulensis	51,2%	29,6%	12,5%	7,2%

3) A armazenagem a -10°C influenciou negativamente na conservação do pólen, demonstrando que há uma tendência para a quebra drástica do poder germinativo do pólen, igualando-se todas as espécies ao fim do período de 3 meses.

4) Para o **E. tereticornis**, as soluções com concentração de 20 e 25% de sacarose e 5% de gelatina, foram as que melhor germinação apresentaram durante todas as fases do experimento.

5) Para o **E. tereticornis**, **E. robusta** e **E. camaldulensis**, nos diferentes períodos de armazenagem, a germinação decresceu em função do aumento da concentração de sacarose. As melhores germinações para as três espécies foram encontradas para as soluções de concentração 20 e 25% em sacarose.

6) As germinações médias variaram significativamente em função do tempo de armazenagem e da concentração da solução:

Concentração de sacarose da solução		20%	25%	30%	40%
Pólen armazenado					
Recém-colhido		59,5%	84,8%	54,1%	43,2%
1 mês		46,8%	24,9%	33,9%	33,3%
2 meses		26,4%	14,4%	9,5%	19,7%
3 meses		10,2%	10,2%	8,2%	6,5%

Armazenagem a 4oC

1) Para as três espécies, independentemente do período de armazenagem e da concentração de sacarose da solução germinadora, a germinação do pólen apresentou alta variabilidade. As porcentagens médias de germinação encontradas em função das espécies, para todas as fases do trabalho foram: **E. robusta** - 42,4%, **E. tereticornis** - 36,8% e **E. camaldulensis** - 24,0%.

2) A armazenagem a 4°C, por períodos de 1, 2 e 3 meses, influenciou significativamente na germinação do pólen, encontrando-se os seguintes resultados para as espécies estudadas:

Pólen				
Espécie	Recém-colhido	Armazenado por		
		1 mês	2 meses	3 meses
E. tereticornis	78,1%	47,1%	15,4%	12,7%
E. robusta	53,4%	48,4%	35,3%	31,9%
E. camaldulensis	51,2%	34,3%	11,5%	7,5%

3) A armazenagem a 4oC influenciou negativamente na conservação do pólen, demonstrando que há uma tendência para quebra drástica do poder germinativo, idêntica a observada para a armazenagem a -10oC, excetuando-se a espécie **E. robusta**.

4) O comportamento da germinação do pólen em função da concentração de sacarose da solução germinadora variou com respeito a espécies, independentemente do tempo de armazenagem, sendo que para o **E. robusta** as concentrações das soluções que melhor germinação apresentaram foram as de 20 e 25% , para o **E. camaldulensis** 20, 25 e 40% e para o **E. tereticornis** 20, 25 e 30%.

5) As germinações médias variaram significativamente em função do tempo de armazenagem e da concentração da solução:

Concentração de sacarose da solução		20%	25%	30%	40%
Pólen armazenado					
Recém-colhido		59,5%	84,8%	54,1%	43,2%
1 mês		48,2%	47,4%	32,6%	44,8%
2 meses		35,0%	17,8%	9,4%	20,1%
3 meses		22,7%	14,7%	6,0%	24,6%

E. resinifera

1) Houve diferença altamente significativa no comportamento da germinação do pólen, em função da temperatura de armazenagem. As porcentagens médias de germinação em função da temperatura de armazenagem foram: 4.°C = 50.7% e -10°C = 30.0%.

2) Houve diferença altamente significativa no comportamento da germinação do pólen em função do tempo de armazenagem. As porcentagens médias de germinação encontradas foram: recém-colhido = 75,1 %, 1 mês = 33,7% e 2 meses = 17,0%.

3) As germinações médias variaram significativamente em função do tempo de armazenagem e da concentração em sacarose da solução germinadora.

Concentração de sacarose da solução	20%	25%	30%	40%
Pólen armazenado				
Recém-colhido	43,9%	58,5%	78,0%	99,8%
1 mês	29,8%	39,8%	11,4%	44,7%
2 meses	9,0%	30,1%	3,4%	7,7%

4) Para as duas temperaturas estudadas, a solução de 40% de sacarose foi a que maior germinação propiciou, independentemente do tempo de armazenagem.

5) Tanto a armazenagem a 4°C quanto a -10°C influíram negativamente na conservação do pólen, podendo-se observar, no entanto, que a armazenagem a -10°C provocou uma queda mais drástica na germinação do pólen do que a armazenagem a 4°C.

6. RESUMO

O presente trabalho teve como objetivo estudar a colheita e conservação do pólen de algumas espécies de eucaliptos: **E. camaldulensis** Delinh, **E. resinifera** Smith, **E. robusta** Smith e **E. tereticornis**.

O armazenamento do pólen se deu às temperaturas de 4°C e -10°C. Os períodos de armazenamento variaram desde o pólen recém-colhido até 3 meses após a colheita, encontrando-se variações significativas na germinação de pólen das diferentes espécies, quanto à temperatura e período de armazenamento. Utilizou-se solução com diferentes concentrações de sacarose, para armazenamento do pólen e os resultados obtidos mostraram variações quanto à viabilidade do pólen nas diferentes concentrações de sacarose.

7. BIBLIOGRAFIA

AMENGIRAL, R. C. 1954. El Genero Eucalyptus en Australia. Informe Symposium sobre un viaje de Estudios - Ministério de Agricultura y Cria - Direction Florestal - Venezuela. 147 p

BARNER, H. & H. CHRISTIANSEN, The Formation of Pollen, the Pollination Mechanism, and the Determination of the Most Favorable Time for Controlled Pollination in **Pseudotsuga menziessii** (1962) - Silvae Genetica 11, Caderno 4 (89-124) 1962.

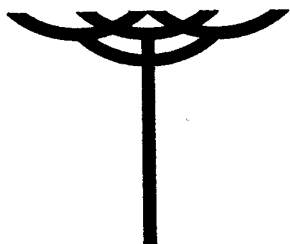
BODEN, R. W. 1958. Handling and storage of pollen in Eucalyptus breeding. Australian Forestry 12 (2): 73-81.

- CHRISTIANSEN, H. 1969. On the germination of Pollen of Larix and Pseudotsuga on Artificial Substrate and on Viability Tests of Pollen of Coniferous Forest Trees-*Silvae Genetica* 18:4 (97-144).
- CHRISTIANSEN, H. 1969. On the pollen Grain and the Fertilization Mechanism of **Pseudotsuga menziesii** (Mirbel) -Franco var. *viridis* Schiver. -*Silvae Genetica* 18,4 (97-144).
- COZZO, De (1955) - *Eucalyptus y Eucaliptotecnia* - Libreria El Ateneo Editorial - Buenos Aires - Argentina (393 p.).
- DECKER, J.S. 1936. *Aspectos Biológicos da Flora Brasileira*. Casa Editora Rotermund & Co. - São Leopoldo - Rio Grande do Sul. 640 p.
- FREITAS, E. R. 1971. Relatório de Bolsa de Iniciação Científica - FAPESP - São Paulo (não publicado) .
- GABRIELLI, A. C. et al. 1965. Conservação do Pólen de diversas espécies de *Eucalyptus* para fim de cruzamento. *Revista de Agricultura* Volume XL. Junho 1965. n.º 2. 51-57.
- JETT, J.B. 1969. *Techniques of Pollen Handling* - FAO. North Carolina State, Forest Tree Improvement Training Centre - Lecture Notes (239-243p.). June 30 - July 25 - 1969.
- KRUG, C. A. & A. S. ALVES. 1949. *Eucalyptus improvement* - Part I *Journal of Heredity* 40(5): 133-50.
- LINHARDT, Y. B. & W. J. LIBBY, 1966. Successful controlled pollination on detached cuttings of coast redwood - *Silvae Genética* 16, Caderno 5-6 (149-92). 1967.
- PENFOLD, A. R. & J. L. WILLYS, 1961. *The Eucalyptus*-Interscience Publishers Inc. New York e London Hill Books Limited - London (551 p).

**EXISTEM CHAPAS DURAS
MAIS FORTES E MENOS FORTES.**



DURATEX
 **É MAIS.**



Papel e Celulose Catarinense S.A.

Papel e Celulose Catarinense S.A., uma indústria integrada de celulose e de papel, planejada e operada exclusivamente para produção de papéis kraft, produto de alta resistência fabricado de matéria-prima de fibra longa. Situada no Planalto Catarinense, utiliza-se essencialmente de pinheiros nativos e de «Pinus» oriundos de reflorestamento. São 1.000 metros cúbicos, por dia, de pinho, sob a forma de toras e sobras de serrarias.

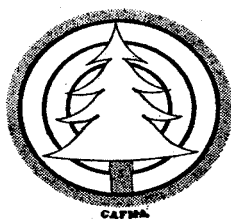
Objetivando o seu contínuo e crescente abastecimento de matérias-primas fibrosas, a Empresa executa não só reflorestamentos próprios, como também, registrada no IBDF sob o n.º 46, elabora, planeja e executa reflorestamentos para terceiros, com recursos atenuantes do imposto de renda.

PAPEL E CELULOSE CATARINENSE S.A.

R. Líbero Badaró, 471 — São Paulo — Fones: 32-2392 — 37-8284
— Vendas: 34-3471 — Telex: 021-197 — Teleg Celucat. — S. Paulo
Fábrica: Distrito de Correia Pinto, Município de Lages — Estado de
Santa Catarina

AGUDOS - LENÇÓIS PAULISTA - (SP)

**ZONA PRIORITARIA
PARA REFLORESTAMENTO**



Para: **Elaboração**

Execução

Administração de Projetos Florestais

procure a

Cia. Agro - Florestal Monte Alegre

F A Z E N D A M O N T E A L E G R E

CAIXA POSTAL, 50 — FONES: 251 e 300

A G U D O S — ESTADO DE SÃO PAULO

(Viveiros próprios — Mais de 10 anos de experiência)