

## Germinación y almacenamiento del polen de pejibaye (*Bactris gasipaes* H.B.K., Palmae)\*

Ires P. de A. Miranda y Charles R. Clement.

Instituto Nacional de Pesquisas de Amazônia – INPA/Ministerio da Ciência e Tecnologia – MCT, Cx. Postal 478, 69.011 Manaus, AM, Brasil.

(Rec. 7-IX-1988. Acep. 3-IV-1989)

**Abstract:** The pejibaye is in the process of being improved by modern agrogenetic techniques and the breeding programs need reliable methods for manipulating and storing pollen for making controlled crosses. Several tests were run on pollen from two landraces: (1) germination in a glucose solution, with and without boron; (2) germination of fresh pollen in a solution of glucose, saccharose, lactose or galactose; (3) drying in oven, desecator jar and open air; (4) drying time and silica gel quantity in desecator jar; (5) germination of dried pollen in a solution of glucose, saccharose, lactose or galactose; (6) storage at room temperature ( $\approx 25^{\circ}$  C), refrigerator ( $8^{\circ}$  C) and freezer ( $-8^{\circ}$  C) of dried pollen in vacuum sealed vials. Sacarose at 2.5%, with boron at 0.01%, gave best germination results; drying for 14 hours over 100 g silica gel in 5 liter desecator jars gave best results, storage in freezer gave 40% viability after six months.

**Key words:** *Bactris*, germination, pollen.

El pejibaye (*Bactris gasipaes* H.B.K., Palmae) es una especie que tiene potencial económico y es objeto de estudios intensivos en América tropical como fruto para consumo humano, ración animal, aceite, harina para panificación y para palmito (Clement & Mora Urpí 1987). Mora Urpí & Solís (1980) estudiaron la biología floral y recomendaron la investigación del polen, especialmente la manipulación y almacenamiento, como requisitos básicos para iniciar un programa de mejoramiento genético.

Hay muchos trabajos sobre germinación y conservación de polen en el cocotero (*Cocos nucifera* L.) (Whitehead 1963, 1965), la palma aceitera (*Eleais guineensis* Jacq.) (Benard & Noiret 1970), y la areca (*Areca catechu* L.) (Raghavan & Baruah 1956) mostrando que los niveles y tipos de azúcares pueden variar, con la presencia de otros elementos, en especial, el boro (Vasil 1960, Stanley & Liskens 1974), en un medio de cultivo para germinación. Reed (1979) presentó un esquema general para la manipulación y almacenamiento del polen de algu-

nas palmeras. Mora Urpí & Solís (1980) recomendaron utilizar 5% de glucosa en solución para germinar el polen de pejibaye de algunas poblaciones de Costa Rica.

El presente estudio tiene por objeto determinar una metodología adecuada para manejar el polen de pejibaye, específicamente el grado de secado y un medio efectivo para la germinación.

### MATERIAL Y METODOS

Se utilizó polen proveniente de muestras de las poblaciones de Benjamin Constant (raza Putumayo), Janauacá y Manaus (raza Pará) mantenidas *ex situ* en el Colegio Federal Agrotécnico de Manaus, siguiendo la técnica sugerida por Mora Urpí (1980). Parte del polen se usó en pruebas de germinación inmediata para comprobar su viabilidad; la otra se colocó en un frasco desecador de 5 litros, con sílica gel, para su secado.

Inicialmente se probó la influencia de las concentraciones de glucosa (2, 2.5, 3, 5, 7.5, 10, 11 y 12.5%), con y sin presencia de boro (0.01%), en la germinación del polen, para pro-

\* Financiado por el convenio Polamazonia/INPA y por el CNPq/INPA.

bar la sugerencia de Mora Urpí & Solís (1980). Los resultados se analizaron empleando regresión curvilínea.

Todos los medios líquidos de cultivo fueron colocados en autoclave a 120°C durante 15 minutos. Unas gotas de estos medios fueron colocadas en una lámina concava para microscopio, en la cual se sembró el pólén. Las láminas se colocaron en placas de petri, con papel de filtro humedecido con agua destilada, con el fin de mantener la humedad para los granos de polen (Whitehead 1963), y se incubaron en una cámara con luz incandescente por 2 horas, a temperatura de 35° C. Se consideraron germinados aquellos granos en que emergió el tubo polínico y se contaron 500, con un objetivo de 10x.

Para manipular mejor el polen, éste debe mantenerse seco (Reed 1979). Se determinó el tiempo de secado (14, 24, 72 horas) en función de la cantidad de sílica gel (50, 100, 200, 400 g) en un frasco desecador de 5 litros, y el efecto de secado en medios con glucosa y sacarosa. Además, se evaluó la pérdida de peso del polen, sometido a tres ambientes: estufa (35° C), sílica gel (26–30°C) y ambiente (26–30°C). La mayor parte del estudio se realizó con frascos desecadores y sílica gel, por la facilidad de transporte y manipulación rutinaria del polen.

Se probaron algunas concentraciones (1.5, 2, 2.5, 3 e 3.5%) de diferentes azúcares utilizados en otras especies: sacarosa (Whitehead 1963), glucosa (Benard & Noiret 1970), lactosa y galactosa (Vasil 1960), con ácido bórico a 0.01%.

Para el estudio de almacenamiento se usaron muestras de 0.05 g en las pruebas de viabilidad. Luego se secaron durante 14 horas en sílica gel y se transfirieron a ampollas de 5 ml selladas al vacío, durante 15 minutos, en un Primer 141 2 VC, con presión residual cercana a los 20 cm de Hg. La humedad relativa se expresó en presión de vapor (PV), según List (1968). Las ampollas se almacenaron por diferentes períodos de tiempo y ambientes: congelador (–8° C, PV = 3.0 mb), refrigerador (8° C, PV = 8.0 mb) y ambiente (≈25° C, PV = 16.0 mb). Después del almacenamiento se realizaron pruebas de germinación en un medio de 2.5% de sacarosa con 0.01% de ácido bórico.

## RESULTADOS Y DISCUSION

La Figura 1 presenta los resultados (promedio de 3 muestras) de las concentraciones de glucosa

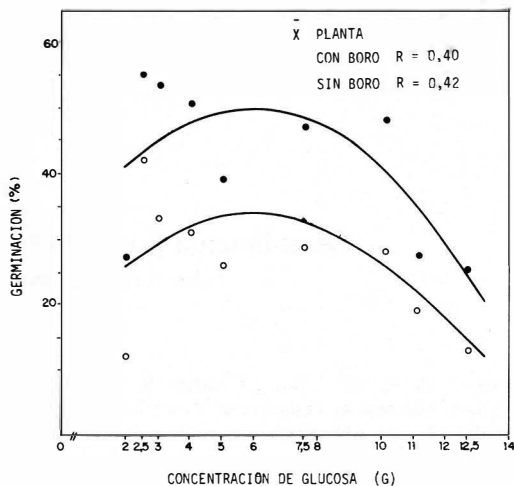


Fig. 1. Influencia de la concentración de glucosa (g/l) y ácido bórico en la germinación del polen de *Bactris gasipaes*.

y boro probadas, demostrando claramente el efecto benéfico del boro. Así como aumentó el porcentaje de germinación del polen de palma aceitera (S.C. Oil, com. per.), el uso del boro aumentó la germinación en pejobaye, en un valor promedio de 15%. Además, las diferentes concentraciones presentaron respuestas distintas al boro.

Obsérvese mejor porcentaje de germinación en la concentración de 2.5%, con y sin adición de boro. El aumento del porcentaje de germinación entre los 7.5 y 10% de glucosa después de la caída verificada entre los 4 y 5% fue una observación no esperada. Aunque la regresión curvilínea sea la mejor forma de explicar estos resultados, los bajos coeficientes de determinación ( $r^2 = 0.40$  y  $0.42$ , con y sin boro, respectivamente) dan una explicación no muy clara de la covariancia. La bimodalidad de la curva indica que existe una variación dentro de la especie, que permite a genotipos diferentes responder a diferentes concentraciones de azúcares. Además, esto puede explicar los distintos resultados encontrados por Mora Urpí & Solís (1980). Esta variación de comportamiento frente a las distintas concentraciones merece más estudio.

La función específica de los diferentes azúcares en la germinación de polen todavía no está suficientemente clara. En la Figura 2 se presentan los resultados de un ensayo con glucosa, sacarosa, lactosa y galactosa. Con relación a la siembra inmediata del polen, la sacarosa a 2.5%

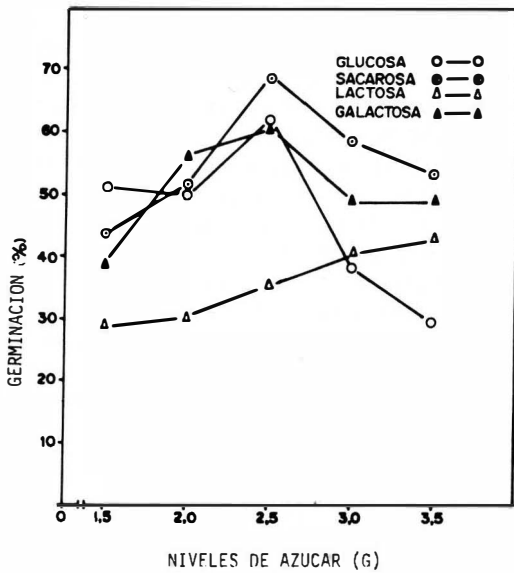


Fig. 2. Efecto de los diferentes niveles de azúcares en la germinación del polen de *Bactris gasipaes* en siembra inmediata.

presentó un mejor resultado que los otros azúcares y se alcanzó casi un 70% de germinación. El hecho de que el pejibaye responda bien a medios con diferentes azúcares demuestra que es una especie que acepta cierta amplitud en condiciones de germinación, respecto a la concentración y al tipo de azúcar.

La Figura 3 presenta los resultados del ensayo realizado para determinar la pérdida de peso del polen sometido a secado en tres ambientes. En estufa a 35° C, la humedad del polen se redujo alrededor de 9% en 10 horas, lo cual se consideró muy rápido. El secado en sílica gel durante 24 horas se consideró adecuado en términos de rapidez y reducción de humedad ( $\approx 6\%$ ), similar al recomendado por Rognon & Nuce de Lamothe (1978) para el cocotero. El secado a temperatura ambiente no fue aconsejable en este ensayo, debido al tiempo que toma y la probable pérdida de viabilidad.

Rognon & Nuce de Lamothe (1978) observaron que el polen de cocotero contiene hasta 12% de agua después de ser retirado de la inflorescencia, siendo este perjudicial al almacenamiento del polen por períodos largos. En palma aceitera, se observó que la germinación es mejor después de un período corto de secado (Benard & Noiret 1970). La Figura 4 presenta los resultados del ensayo para determinar la mejor cantidad de

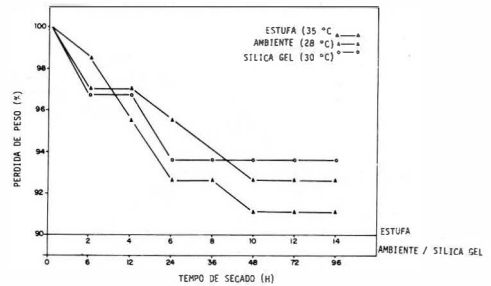


Fig. 3. Porcentaje de reducción del peso del polen de *Bactris gasipaes* sometido a secado en estufa (35° C), frasco desecador con sílica gel ( $\approx 25^\circ\text{C}$ ) y ambiente ( $\approx 28^\circ\text{C}$ ).

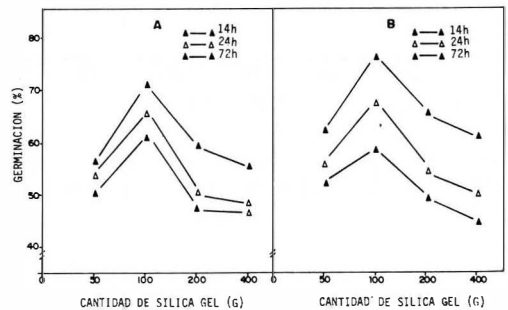


Fig. 4. Efecto de la cantidad de sílica gel y el tiempo de secado sobre la germinación del polen de *Bactris gasipaes* en 2.5% de sacarosa (A) y en 2.5% de glucosa (B).

sílica gel y el tiempo necesario. Se observó que 100 g de sílica gel, en un frasco desecador de 5 litros, durante 14 horas fue la combinación mas adecuada para el secado del polen de pejibaye, tanto cuando es probado en glucosa como en sacarosa. La razón por la cual se condujo este ensayo usando un período de 14 horas es que el polen fue liberado de la inflorescencia entre las 17:00 y 18:00 horas, acondicionándolo después en el frasco, donde permaneció hasta las 8:00 horas del día siguiente.

Una mayor cantidad de sílica gel podría causar un secado excesivo o demasiado rápido del polen; ambos factores pueden ser perjudiciales para su viabilidad. Este período relativamente corto no afecta la viabilidad del polen, como Rognon & Nuce de Lamothe (1978) también constataron. Whitehead (1963) observó que el secado prolongado reduce la viabilidad del polen en cocotero, en una forma similar a la que se observó en este trabajo.

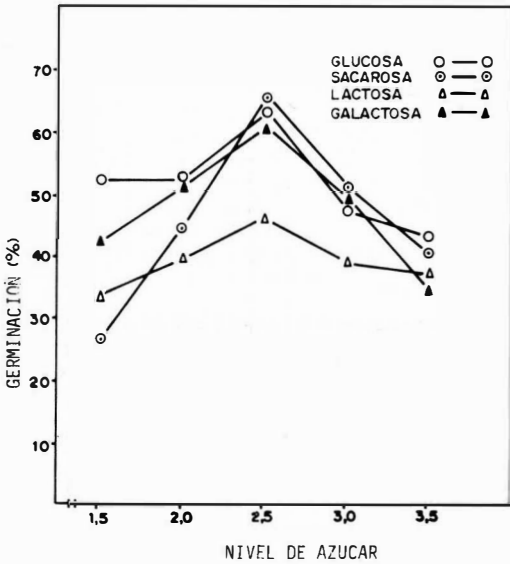


Fig. 5. Efecto de los diferentes niveles de azúcares en la germinación del polen de *Bactris gasipaes* después de secado 14 horas.

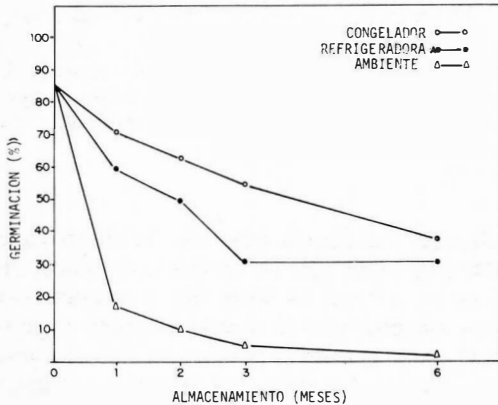


Fig. 6. Efecto de almacenamiento en ambiente ( $\approx 25^{\circ}\text{C}$ ), refrigeradora ( $8^{\circ}\text{C}$ ) y congelador ( $-8^{\circ}\text{C}$ ) en la viabilidad de polen de *Bactris gasipaes* durante 6 meses.

Después de obtenidos los resultados de secado, se repitió el ensayo de medios de germinación para determinar la reacción del polen seco a éstos. En la Figura 5 se observa que la sacarosa mantuvo su posición como el mejor azúcar (65%), aunque la glucosa (63%) y la galactosa (60%) presentaron resultados casi iguales.

La conservación de polen requiere condiciones de humedad y temperatura específicas para cada especie, con un posible efecto benéfico de

la aplicación parcial de vacío. Después de una serie de ensayos preliminares, se definió que 14 horas de secado en sílica gel, junto con la aplicación parcial de vacío, fue el tratamiento más adecuado para el pejibaye.

La muestra de polen usada en el experimento presentó un alto porcentaje de germinación inicial (85%). Después de almacenado por 1 mes a temperatura ambiente ( $\approx 25^{\circ}\text{C}$ ), éste presentó una pérdida acentuada en su viabilidad, de casi 70%, llegando hasta 17% (Figura 6). Las pruebas sucesivas mostraron pérdidas graduales de viabilidad y llegaron hasta 3% después de 6 meses. Este último resultado fue inesperado, pues en otras palmeras el polen no se mantiene viable a temperatura ambiente después de 6 meses de almacenamiento (Briole 1964).

En refrigerador ( $8^{\circ}\text{C}$ ) la pérdida de viabilidad fue menor, alcanzó un 59% después de un mes y mantuvo un 30% hasta los 6 meses. El mantenimiento de la viabilidad entre 3 y 6 meses fue sorprendente, pues no existe concordancia con los resultados obtenidos en cocotero y palma aceitera (Benard & Noiret 1970, Whitehead 1963).

Los mejores resultados se obtuvieron con almacenamiento en congelador ( $-8^{\circ}\text{C}$ ). En la Figura 6 se indica que la pérdida de viabilidad en ese ambiente fue gradual, decreciendo de 85% a 71% después de 1 mes y a 39% después de 6 meses. Por lo tanto, en este ensayo el ambiente más adecuado para el almacenamiento a largo plazo es aquel con una temperatura de  $-8^{\circ}\text{C}$ . Benard & Noiret (1970) observaron que el polen de palma aceitera se conservó mejor a  $-10^{\circ}\text{C}$ , con técnicas de preparación muy similares a las usadas en este caso, de forma que éstos resultados pueden ser considerados plenamente satisfactorios.

## CONCLUSIONES

El medio de cultivo adecuado para la germinación de polen del pejibaye es líquido, con una concentración de 2.5% de sacarosa y 0.01% de ácido bórico. El secado del polen en un frasco desecador con 100g de sílica gel por un período de 14 horas es simple, práctico y puede ser utilizado en cualquier situación. El secado, seguido de una aplicación de vacío y acondicionamiento a temperatura de  $-8^{\circ}\text{C}$ , con humedad relativa alrededor de 3 mb, puede mantener  $\approx 40\%$  de viabilidad durante 6 meses, es, por lo tanto, el método más adecuado para almacenar

polen de pejibaye. Estudios futuros deberían determinar los parámetros específicos para cada población de pejibaye.

### AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Wanders B. Chavez F., del INPA, por la traducción del portugués al español y a dos revisores anónimos de la Revista de Biología Tropical.

### RESUMEN

El pejibaye está siendo mejorado con técnicas agro-genéticas modernas, y los programas de mejoramiento necesitan métodos confiables para manipular y almacenar polen para realizar cruces controlados. Diversas pruebas fueron hechas con polen de dos razas: (1) germinación en medio líquido con glucosa, con y sin boro; (2) germinación de polen fresco en medio líquido con glucosa, sacarosa, lactosa, galactosa; (3) secado en estufa, frasco desecador y ambiente; (4) tiempo de secado y cantidad de sílica gel en frasco desecador; (5) germinación de polen seco en medio líquido con glucosa, sacarosa, lactosa, galactosa; (6) almacenamiento en temperatura ambiente ( $\approx 25^{\circ}\text{C}$ ), refrigeradora ( $8^{\circ}\text{C}$ ) y congelador ( $-8^{\circ}\text{C}$ ) de polen seco en ampollas selladas al vacío. Los mejores resultados de germinación se obtuvieron con sacarosa a 2.5% y ácido bórico a 0.01%; secado durante 14 horas sobre 100 g sílica gel en frasco desecador de 5 l; y de almacenamiento en congelador, dando  $\approx 40\%$  de viabilidad después de 6 meses.

### REFERENCIAS

- Arnaud, F. 1979. Assisted pollination on Oil Palm plantations, harvesting and treatment of pollen. *Oleagineux* 34(4): 175-179.
- Benard, G. & J.M. Noiret. 1970. Le pollen de palmier a huile. Recolte, preparation, conditionnement et utilisation pour la fecondation artificielle. *Oleagineux* 25(2): 67-73.
- Briole, C.E. 1964. Pratique de la fecundation dirigée du cocotier. *Oleagineux* 19(3): 149-158.
- Clement, C.R. & J. Mora Urpí. 1987. The pejibaye palm (*Bactris gasipaes*, Arecaceae); multi-use potencial for the lowland humid tropics. *Econ. Bot.* 41(2): 302-311.
- List, R.J. 1968. Smithsonian Meteorological Tables, 6th Revised. Vol. 114. Smithsonian Institution Press, Washington. 527 p.
- Mora Urpí, J. 1980. Consideraciones preliminares sobre el desarrollo de una técnica de polinización controlada en pejibaye (*Bactris gasipaes* H.B.K.). *Agron. Costarr.* 4(1): 119-121.
- Mora Urpí, J. & E.M. Solís. 1980. Polinización en *Bactris gasipaes* H.B.K. *Rev. Biol. Trop.* 28(1): 153-174.
- Raghavan, V. & H.K. Baruah. 1956. On factors influencing fruitset and sterility in arecanut (*Areca catechu* Linn.). II. Germination of pollen grains and growth of pollen tubes under the influence of certain auxins, vitamins and trace elements. *Orton* 7(2): 77-88.
- Reed, W.R. 1979. Live storage of palm pollen. *Principes* 23(1): 33-35.
- Rognon, F. & M. de Nucé de Lamothe. 1978. Recolte et conditionnement du pollen pour la pollinisation des champs semenciers de cocotiers. *Oleagineux* 33(1): 17-21.
- Stanley, R.G. & H.F. Linskens. 1974. Pollen: Biology, Biochemistry and Management. Springer-Verlag, Berlin. 307 p.
- Vasil, I.K. 1960. Studies on pollen germination of certain Cucurbitaceae. *Amer. Journ. Bot.* 47: 239-247.
- Whitehead, R.A. 1963. The processing of coconut pollen. *Euphytica* 12: 167-177.
- Whitehead, R.A. 1965. Freeze-drying and room temperature storage of coconut pollen. *Econ. Bot.* 19(3):267-275.