

GERMINAÇÃO 'IN VITRO' DE GRÃOS DE PÓLEN DE FLORES DE ABOBOREIRA 'PIRAMOITA' CONSERVADAS SOB DIFERENTES FORMAS.

Valdemir Antônio Laura^{1,2}
Antonio Ismael Inácio Cardoso³
Andréa Luiza Cunha-Laura⁴
Sílvio Favero²

¹Embrapa Gado de Corte, Campo Grande (MS), e-mail: valdemir@cnpqc.embrapa.br;
²UNIDERP, Campo Grande (MS) - Prof. do Mestrado em Produção e Gestão Agroindustrial;
³UNESP-FCA-DPV-Horticultura - Prof. Adjunto, C. Postal 237, 13603-970, Botucatu-SP.
e-mail: ismaeldh@fca.unesp.br;
⁴UFMS-DBI, Campo Grande (MS) - Prof. Assistente.

RESUMO

Na produção de híbridos de aboboreiras, mesmo programando-se a semeadura dos progenitores, o florescimento pode não coincidir e, a defasagem de uns poucos dias pode provocar perdas significativas de alguns cruzamentos. Com este trabalho, objetivou-se avaliar, '*in vitro*', a germinação de grãos de pólen de flores de aboboreira 'Piramoita' conservadas sob diferentes formas. O experimento foi conduzido em Campo Grande (MS), de agosto a dezembro de 2001. Colheu-se flores masculinas recém-abertas, padronizou-se o comprimento dos pedúnculos (± 10 cm) e mergulhou-os (± 3 cm basais) em béqueres contendo os tratamentos (substâncias-diluições: água, sulfato de alumínio 25 mgL⁻¹ e 50 mgL⁻¹, sacarose 25 gL⁻¹, 50 gL⁻¹ e 75 gL⁻¹). As flores foram armazenadas por um ou dois dias, em temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) ou em geladeira ($\pm 8^{\circ}\text{C}$) e, avaliou-se a germinação dos grãos de pólen '*in vitro*'. Com base nos resultados, conclui-se que: flores conservadas em sulfato de alumínio 50 mgL⁻¹ apresentaram a maior germinação dos grãos de pólen; houve queda acentuada na germinação dos grãos de pólen, de um para dois dias de armazenamento das flores e que, não foi possível conservar flores em temperatura ambiente. Em geladeira, a conservação das flores por um dia apresentou, em geral, os melhores resultados.

Palavras-chave: *Cucurbita*, conservação de flores, híbrido, produção de sementes

ABSTRACT

'IN VITRO' POLLEN GERMINATION FROM STAMINATE FLOWERS OF SUMMER SQUASH 'PIRAMOITA' STORED UNDER DIFFERENT FORMS.

In the production of hybrid seed of summer squash, flowering may not coincide, even when programming the sowing of the parentals and, the delay of a few days may result in significant losses of some crossings. In this work, our aim was to evaluate the pollen germination '*in vitro*', from staminate flowers of summer squash cultivar Piramoita storage under different forms. The experiment was carried out in Campo Grande (MS), from August to December, 2001. Recently-open staminate flowers were harvested, stalks were standardized lengthwise (± 10 cm) and dipped (± 3 cm basal) in beakers containing treatments (the substance-dilutions: water, aluminum sulfate 25 mgL⁻¹ and 50 mgL⁻¹, sucrose 25 gL⁻¹, 50 gL⁻¹ and 75 gL⁻¹). Flowers were stored for one or two days, at room temperature ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) or in the refrigerator ($\pm 8^{\circ}\text{C}$) and, was evaluated pollen germination '*in vitro*'. After analyzing the results, we concluded that for the pollen germination '*in vitro*', the aluminum sulfate 50 mgL⁻¹ promoted the highest germination percentage; there was a marked decrease in the germination of the pollen from one to two days of storage of the flowers. It was not possible to store flowers at room temperature

Keywords: *Cucurbita*, flower storage, hybrids, seed production,

Dentre as culturas oleráceas tipicamente tropicais, as cucurbitáceas ocupam lugar de destaque, sendo seus produtos de ampla aceitação popular (Filgueira, 2000). A utilização de sementes híbridas em diversas espécies dessa família é largamente difundida e o custo destas é relativamente baixo. Para a produção de híbridos é necessário que se disponibilize, quando da abertura das flores femininas, de flores masculinas (ou grãos de pólen conservados) para polinizá-las. Muitas vezes, mesmo programando-se a semeadura de ambos os progenitores, pode não ocorrer a coincidência do florescimento, levando-se então a perda das flores femininas e/ou masculinas, por defasagem de apenas um ou poucos dias. Em programas de melhoramento genético a defasagem de apenas uns poucos dias pode provocar perdas significativas de alguns cruzamentos.

Uma das possíveis formas de disponibilizar grãos de pólen para os cruzamentos, seria sua conservação, utilizada para várias espécies, mas inviável para cucurbitáceas. Uma das alternativas para não se perder as flores femininas (em menor número) seria conservar flores masculinas, muito mais abundantes, para posterior cruzamento. Em muitas espécies vegetais, a conservação de flores é possível, inclusive por muitos dias, em especial naquelas melhoradas para produção de flores de corte.

Acredita-se que a utilização de uma solução de manutenção, com sacarose ou o emprego de soluções com íons minerais, assim como em flores de corte, conserve flores masculinas de aboboreira e mantenha viáveis os grãos de pólen, por pelo menos dois dias, para que as mesmas possam ser utilizadas em cruzamentos, pois a sincronização do florescimento dos progenitores, que é de extrema importância, muitas vezes não ocorre.

Na produção de sementes híbridas de aboboreira e, principalmente no melhoramento genético, a sincronização do florescimento dos progenitores é de extrema importância.

Outra alternativa ainda, para a escassez de flores masculinas, seria o armazenamento de grãos de pólen, sendo que essa viabilidade, entre diferentes espécies, varia de alguns minutos até alguns anos, dependendo principalmente da espécie vegetal e das condições ambientais abióticas (Barnabas e Kovacs, 1994). Pacini et al. (1997) observaram que para *C. pepo*, todos os grãos de pólen estavam inviáveis 48 horas após a antese, sendo que em apenas 24 horas apresentavam aproximadamente 15% de viabilidade quando comparado aos 90% iniciais.

Uma outra alternativa, para otimizar os cruzamentos seria a conservação de flores masculinas para disponibilizá-las para as flores femininas que venham abrir nos dias seguintes. A possibilidade de conservação de flores masculinas, por curtos períodos de tempo e a baixo custo é, sem dúvida, uma das possíveis formas de mantê-las disponíveis para fecundação das flores femininas, na eventualidade de baixa quantidade de flores masculinas durante a antese das flores femininas.

A vida de armazenamento das flores pode ser prolongada (desde dias até meses) através da inibição dos processos de senescência, pela aplicação de tratamentos químicos ou através da utilização de baixas temperaturas (Castro e Honório, 1992). A maneira mais efetiva e conhecida para reduzir os processos fisiológicos da flor cortada é a diminuição da sua temperatura (Sarria, 1997), que reduz o calor vital gerado na respiração e ao mesmo tempo evita perda de água.

A estimativa da viabilidade polínica é recomendada em programas de melhoramento que utilizam a hibridação artificial, especialmente aqueles que precisam conservar o grão de pólen para uso posterior (Dutra et al., 2000).

Portanto, neste trabalho, objetivou-se estabelecer uma metodologia de conservação de flores masculinas de aboboreira 'Piramoita' e disponibilização de grãos de pólen para a finalidade de cruzamentos, tanto aplicáveis no melhoramento como na produção comercial de sementes híbridas.

MATERIAL E MÉTODOS

As plantas foram cultivadas no *Campus* III da Universidade para o Desenvolvimento do Estado e da Região do Pantanal – UNIDERP, situado em Campo Grande (MS) e o experimento de viabilidade dos grãos de

pólen (germinação '*in vitro*') foi conduzido no Laboratório de Pesquisa do Departamento de Biologia (LP-DBI) da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul (UFMS), Campo Grande (MS).

No início da manhã (06h30-07h30), aproximadamente 250 flores masculinas recém-abertas foram cuidadosamente colhidas e levadas ao Laboratório de Fisiologia Vegetal da UNIDERP. Os pedúnculos foram cortados com um estilete, para padronização do comprimento (± 10 cm) e imediatamente mergulhados (± 3 cm basais) em béqueres de 500 mL contendo as substâncias-diluições, ou seja, os tratamentos (água, sulfato de alumínio 25 mg L⁻¹, sulfato de alumínio 50 mg L⁻¹, sacarose 25 g L⁻¹, sacarose 50 g L⁻¹, sacarose 75 g L⁻¹). Para avaliar o efeito do local de armazenamento das flores, metade das flores colhidas foram mantidas em temperatura ambiente, no laboratório ($\pm 25^{\circ}\text{C}$) e a outra metade em geladeira ($\pm 8^{\circ}\text{C}$), por um ou dois dias. Entretanto, após 24 horas de armazenamento, todas as flores mantidas em temperatura ambiente estavam totalmente deterioradas impossibilitando sua utilização. Portanto, na impossibilidade de conservar as flores em temperatura ambiente, todas as flores utilizadas no experimento foram aquelas armazenadas em geladeira.

O pólen de flores de todos os tratamentos foi colocado para germinar '*in vitro*' em meio contendo 100 mg de ácido bórico, 300 mg de nitrato de cálcio, 170 g de sacarose, 7 g de ágar-ágar, para 1 L de água (Sari-Gorla *et al.*, 1995). O meio foi vertido em placas de Petri e colocado para solidificar em geladeira por 12 horas. Os grãos de pólen das anteras foram espanados (com um pincel) sobre o meio (uma antera por placa de Petri) e mantidos em temperatura ambiente (LP-DBI da UFMS – temperatura média de 25°C) por quatro horas. Após esse período, as placas foram observadas sob estereomicroscópio (40 X), para avaliação da germinação dos grãos de pólen. Em cada placa foram contados os grãos de pólen germinados e não germinados em 12 campos. Os dados de quatro campos foram somados e transformados em porcentagem de germinação, representando uma repetição, totalizando-se três repetições.

O delineamento experimental adotado foi inteiramente casualizado (DIC) com 12 tratamentos em esquema fatorial. Foram dois fatores: substâncias-diluições (seis níveis) e tempo de armazenamento das flores (um ou dois dias). Foi realizada a análise de variância da porcentagem de germinação dos grãos de pólen '*in vitro*' e as médias dos tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade, utilizando-se os softwares Estat versão 2.0 e Minitab for Windows versão 12.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

A germinação dos grãos de pólen '*in vitro*' sempre foi inferior aos dois dias de armazenamento comparando com um dia de armazenamento das flores (Tabela 1), evidenciando que a viabilidade dos grãos de pólen da cultivar 'Piramoita' é muito curta, decrescendo rapidamente, ratificando dados de Pacini *et al.* (1997), que trabalharam com grãos de pólen de *C. pepo*.

Para as flores armazenadas por apenas um dia, a melhor substância-diluição foi sulfato de alumínio 50 mg L⁻¹ (Tabela 1), estatisticamente superior aos demais tratamentos. Ainda, para um dia de armazenamento, a melhor concentração de sacarose, foi 50 g L⁻¹, estatisticamente superior a sacarose 25 g L⁻¹, embora não tenha diferido do armazenamento em água e de sacarose 75 g L⁻¹.

TABELA 1 Germinação de grãos de pólen '*in vitro*' (%) de flores de aboboreira 'Piramoita' em função das diferentes substâncias-diluições e tempo de armazenamento das flores masculinas, em geladeira. Campo Grande, MS, 2001.

Substância-diluição	Tempo de Armazenamento					
	1 Dia			2 Dias		
Água	31,3675	a	BC	9,6794	b	B
Sulfato de Alumínio 25 mg L ⁻¹	31,2362	a	BC	11,5843	b	AB
Sulfato de Alumínio 50 mg L ⁻¹	42,6221	a	A	17,7195	b	A
Sacarose 25 g L ⁻¹	24,0419	a	C	12,2983	b	AB
Sacarose 50 g L ⁻¹	34,5320	a	B	10,3890	b	AB
Sacarose 75 g L ⁻¹	27,4962	a	BC	17,6154	b	A

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas linhas (DMS = 5,1536), e maiúscula nas colunas (DMS = 7,7127) não diferem entre si pelo teste de Tukey (5%). CV = 13,56%.

Entre as concentrações de sulfato de alumínio, as flores conservadas na concentração de 25 mgL⁻¹ não diferiram estatisticamente das flores conservadas em água; a concentração de 50 mgL⁻¹ foi superior estatisticamente a ambas (água e 25 mgL⁻¹); evidenciando o efeito benéfico da presença de sulfato de alumínio na maior concentração.

Já para dois dias de armazenamento, os valores médios de germinação dos grãos de pólen, entre as substâncias-diluições, foram numericamente muito mais próximos, sendo que apenas os tratamentos sulfato de alumínio 50 mgL⁻¹ e sacarose 75 gL⁻¹ (superiores) diferiram do pior tratamento (flores mantidas em água). Nesse caso, pode-se inferir que o efeito do período de armazenamento foi mais intenso não ocorrendo um efeito superior de nenhuma substância-diluição que amenizasse ou reduzisse, mais intensamente, a velocidade de perda de viabilidade dos grãos de pólen. Entretanto, as maiores concentrações (sulfato de alumínio 50 mgL⁻¹ e sacarose 75 gL⁻¹), foram as que proporcionaram maior germinação dos grãos de pólen, evidenciando um efeito benéfico do soluto adicionado (sulfato de alumínio ou sacarose); talvez, se fossem testadas soluções mais concentradas, de ambas as substâncias, pudesse ocorrer a manutenção mais alta da viabilidade dos grãos de pólen.

Ainda assim, os valores apresentados após dois de armazenamento das flores (9,7-17,7%) são diferentes daqueles encontrados por Pacini *et al.* (1997) para *C. pepo* (12-14% de grãos de pólen viáveis um dia após a antese e, nenhum grão de pólen viável 48 horas após a antese), evidenciando, apesar de pequeno, um efeito positivo dos tratamentos na conservação dos grãos de pólen.

Portanto, conclui-se que o objetivo inicial do trabalho foi atingido, pois flores armazenadas em geladeira, durante dois dias, apresentaram germinação de grãos de pólen entre 9,6 e 17,7%, o que possibilita o emprego desta metodologia em programas de melhoramento, especialmente no caso de autofecundação.

LITERATURA CITADA

- BARNABAS, B.; KOVACS, G. Storage of pollen. *Novenytermeles*, v. 43, n. 5, p.447-456, 1994.
- CASTRO, C. E. F.; HONÓRIO, S. L. Colheita e conservação de flores. In: CASTRO, C. E. F. (coord.). *Manual de Floricultura*. Maringá. Editora da Universidade Estadual de Maringá, 1992. p. 37-43.
- DUTRA, G. A. P.; SOUZA, M. M. de; RODRIGUES, R.; SUDRÉ, C. P.; PEREIRA, T. N. S. Viabilidade em grãos de pólen frescos e armazenados em acessos de pimenta. *Horticultura Brasileira*, v. 18, suplemento julho, p. 729-730, 2000.
- FILGUEIRA, F. A. R. *Novo Manual de Olericultura: Agrotecnologia moderna na produção e comercialização de hortaliças*. Viçosa: UFV, 2000. 402 p.
- PACINI, E.; FRANCHI, G. G.; LISCI, M.; NEPI, M. Pollen viability related to type of pollination in six angiosperm species. *Annals of Botany*, v. 80, p. 83-87, 1997.
- SARI-GORLA, M.; MULCAHY, D. L.; VILA, M.; RIGOLA, D. Pollen-pistil interactions in maize: effects on genetic variation of pollen traits. *Theoretical and Applied Genetics*, v. 91, p. 936-940, 1995.
- SARRIA, S. D. *Uso de refrigeração em pós-colheita de flores de corte*. Texto de palestra proferida na XI Semana de Estudos Agropecuários e Florestais de Botucatu, outubro, 1997. 28 p.