



XX Congresso Brasileiro de Fruticultura  
54th Annual Meeting of the Interamerican Society for Tropical Horticulture  
12 e 17 de Outubro de 2008 - Centro de Convenções – Vitória/ES

## TEMPO DE INCUBAÇÃO NA GERMINAÇÃO *in vitro* DE GRÃOS DE PÓLEN DE CULTIVARES COPA E SELEÇÕES DE PEREIRA

Ciane Xavier Gonçalves<sup>1</sup>; Andrea de Rossi Rufato<sup>2</sup>; Márcia Wulff Schuch<sup>2</sup>; Juliana Degenhardt<sup>3</sup>

<sup>1</sup>Bióloga - Mestre em Fruticultura de Clima Temperado/UFPel e-mail: [anexg@hotmail.com](mailto:anexg@hotmail.com) - Bolsista Capes; <sup>2</sup>Profª. Drª. Departamento de Fitotecnia/UFPel; <sup>3</sup>Drª. Pesquisadora Embrapa Clima Temperado - Melhoramento Genético Vegetal e Biotecnologia de Plantas

### INTRODUÇÃO

A análise de viabilidade do grão de pólen visa à determinação de sua capacidade de germinação e fertilização, proporcionando informações para estimar a viabilidade do pólen em curto espaço de tempo (NASSAR, 1991). Em programas de melhoramento genético, a germinação *in vitro* é o método mais utilizado para os testes de viabilidade de pólen (MARCELLÁN e CAMADRO, 1996). Esse método é influenciado por diferentes fatores, como por exemplo, diferenças entre espécies quanto às condições exigidas para a germinação do pólen, envolvendo, os componentes do meio de cultura, a temperatura e o tempo de incubação. A viabilidade do pólen também é influenciada pelo estágio de desenvolvimento da flor no momento da coleta do pólen, e pelas condições de armazenamento (STANLEY e LINSKENS, 1974). Geralmente quando o pólen apresenta menos de 30% de germinação resulta em um pegamento de frutos bastante reduzido (HAUAGGE e BRUCKNER, 2002).

Este experimento foi desenvolvido com o objetivo de determinar o período (horas) mais adequado de incubação para a germinação de grãos de pólen *in vitro* de 13 genótipos de pereira.

### MATERIAL E MÉTODOS

Este experimento foi desenvolvido no Laboratório de Micropropagação, pertencente ao Departamento de Fitotecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da UFPel, e no Laboratório de Melhoramento Vegetal, pertencente a Embrapa Clima Temperado, ambos em Pelotas, RS. Foram utilizadas amostras de pólen de 13 genótipos (14 amostras), provenientes da Embrapa Uva e Vinho - Vacaria, RS e da Embrapa Clima Temperado –



Pelotas, RS (Tabelas 1 e 2). As amostras foram incubadas em BOD a 25°C, em ausência de luz. Foram testados três tempos de incubação (2, 4 e 6 horas).

As flores em estágio de balão foram coletadas no campo, durante a primavera (Tabelas 1 e 2). A coleta dos botões florais foi feita manualmente ou utilizando-se uma tesoura pequena; os botões florais foram armazenados em sacos de papel, até a chegada no laboratório, para posteriormente ser feita a remoção das anteras.

Em laboratório, com a fricção das flores em uma peneira fina de náilon, as anteras foram removidas dos botões florais e, em seguida, foram colocadas para secar em bandejas de papel, por aproximadamente 30 horas, à temperatura entre 20 e 25°C, até que o pólen estivesse totalmente seco. Após, o pólen e as anteras secas foram armazenados em frascos de vidro etiquetados e tampados com algodão, os quais foram colocados em dessecador mantido em freezer à temperatura de -18°C.

O meio de cultura, descrito por Medeiros (1979), constitui-se de sacarose (100 g L<sup>-1</sup>) e ágar (10 g L<sup>-1</sup>). O volume foi completado com água destilada e após a diluição da sacarose, o meio foi geleificado com ágar e aquecido em forno de microondas durante 4 minutos. Após o preparo do meio de germinação este foi distribuído em lâminas de vidro, próprias para observação em microscópio óptico, adaptadas com dois anéis de PVC, fixados para evitar o escoamento do material. Foram colocadas quatro gotas de meio de cultura, em cada anel. Com a finalidade de distribuir homogêneo os grãos de pólen, fez-se necessária a observação em lupa e o uso de um pincel (n°5). Em seguida, as lâminas foram colocadas em placas de Petri que continham duas folhas de papel absorvente umedecido no fundo, simulando uma câmara úmida. As lâminas foram colocadas em incubadora tipo BOD, variando o tempo de incubação.

A avaliação da percentagem de grãos de pólen germinados foi feita através da observação em microscópio óptico binocular (10x100). Foram considerados germinados os grãos de pólen que apresentavam o comprimento do tubo polínico igual ou superior ao diâmetro do próprio grão de pólen. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado com quatro repetições (de 100 grãos de pólen cada) por amostra, sendo que as provenientes de Vacaria/RS e Pelotas/RS foram avaliadas separadamente. As médias foram submetidas à análise da variância através do teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na Tabela 1, observou-se que as amostras C1 (Abbé Fétel) e C5 (Forelle) apresentaram maior índice de germinação dos grãos de pólen *in vitro* quando incubadas durante quatro e seis horas. E comparando-se as amostras, verificou-se-se que indiferentemente do tempo de incubação testado, a amostra C5 apresentou maior percentagem de germinação, fator bastante negativo para a amostra C1, pois os níveis bastante baixos de grãos de pólen viáveis podem representar um problema em pomares com apenas duas cultivares. Souza (1999), ao avaliar a percentagem germinação de grãos de pólen *in vitro* de oito cultivares de pereira, dentre elas a cultivar Hosui, durante três horas a  $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$  em incubadora tipo BOD obteve percentagem intermediária de germinação com 41,27%.

TABELA 1 - Cultivares copa e seleções de pereira, provenientes de Vacaria, incubadas durante 2, 4 e 6 horas a  $25^{\circ}\text{C}$  em BOD. FAEM/UFPel, Embrapa Clima Temperado, Pelotas, 2007.

	Genótipos	Data coleta	Amostra	Tempo(horas)		
				2	4	6
Cultivares	Abate Fétel	10/09/2006	C1	16,00 B b	30,25 B a	26,00 B a
	Forelle	Sem data	C5	38,25 A b	45,00 A a	41,75 A a
CV (%)				9.21		

\*Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro.

Na Tabela 2, com relação à amostra C3 observou-se que seu índice de germinação variou entre 30,75 e 39,25%, diferindo dos resultados encontrados por Souza (1999), que testando a germinação de grãos de pólen da cultivar Carrick obteve 53,17%. No entanto, é necessário ressaltar que o pólen avaliado nesse estudo foi coletado em 2003 e que essa mesma amostra apresentou percentagem de germinação de 65% em 2004, um ano após seu armazenamento (RASEIRA<sup>1</sup>). Também com relação à amostra C6, verificou-se que média de percentagem de germinação variou entre 31,75 e 39,75, tais resultados diferem dos encontrados por Souza (1999), que testando a germinação de grãos de pólen *in vitro* de cultivares de pereira, dentre elas a cultivar Kieffer, a  $25^{\circ}\text{C}\pm 2^{\circ}\text{C}$ , durante três horas em incubadora tipo BOD, pois obteve uma percentagem de germinação relativamente alta (58,52%).

Para as amostras C4 (Cascatense) e S3 (Pyrus 01), observou-se que as maiores percentagens de germinação foram encontradas quando os grãos de pólen foram incubados

<sup>1</sup> RASEIRA, M. do C.B. EMBRAPA/CPACT, Pelotas/RS. 2004. Comunicação pessoal

durante duas e quatro horas. Importante salientar que a amostra C4, foi coletada no ano de 1999 e que três anos após sua coleta, a germinação foi de 58% (RASEIRA<sup>2</sup>). E que apresentou resultados semelhantes aos obtidos por Souza (1999) que estudando a germinação de grãos de pólen *in vitro* de pereira, obteve 45,66% de germinação para a cultivar Cascatense.

TABELA 2 - Cultivares copa e seleções de pereira, provenientes de Pelotas, incubadas durante 2, 4 e 6 horas a 25°C em BOD. FAEM/UFPel, Embrapa Clima Temperado, Pelotas, 2007.

	Genótipos	Data coleta	Amostra	Tempo (horas)		
				2	4	6
<b>Cultivares</b>	Abate Fétel	13/09/2006	C2	33,75 C a	28,00 FG a	30,25 C a
	Cacatense	06/10/2003	C3	32,50 C b	44,00 ABCD c	35,75 C b
	Carrick	09/08/1999	C4	30,75 C a	39,25 BCDEF a	34,75 C a
	Kieffer	03/11/2006	C6	39,75 BC a	31,75 EF a	36,50 BC a
	Packham's 01	Sem data	C7	57,75 A a	50,00 AB a	56,00 A a
<b>Seleções</b>	Santa Maria	Sem data	C8	33,75 C a	18,00 G b	33,50 C a
	Século XX	Sem data	C9	51,25 AB a	49,25 ABC a	54,50 A a
	Coelho Borges	14/10/2003	S1	29,75 C a	35,75 DEF a	33,75 C a
	Monte Bonito	14/09/2006	S2	62,75 A a	55,50 A a	60,00 A a
	Pyrus 01	19/08/1999	S3	29,50 C ab	37,75 CDEF a	28,50 C b
	Seleção 5.98	03/11/2006	S4	31,00 C a	27,75 FG a	26,50 C a
	Seleção 9.93	30/09/2004	S5	38,00 C b	43,00 BCDE ab	48,50 AB a
<b>CV (%)</b>				<b>13,11</b>		

\*Médias seguidas de mesma letra maiúscula na coluna e minúscula na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade de erro.

## CONCLUSÕES

Houve diferença na percentagem de germinação de grãos de pólen para as amostras C1 e C2 de Abbé Fétel, dependendo do local de coleta.

O tempo de incubação não influenciou a percentagem de germinação de grãos de pólen *in vitro* dos genótipos Abbé Fétel (C2), Carrick (C4), Kieffer (C6), Packham's 01 (C7), Século XX (C9), Coelho Borges (S1) e Seleção 5.98 (S4).

<sup>2</sup> RASEIRA, M. do C.B. EMBRAPA/CPACT, Pelotas/RS. 2002. Comunicação pessoal



## AGRADECIMENTOS

A CAPES e ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos e equipamentos para execução dos experimentos.

## REFERÊNCIAS

- HAUAGGE, R.; BRUCKNER, C. H. Macieira. *In: Melhoramento de fruteiras de clima temperado*. Viçosa: UFV, 2002. p. 27-88.
- MARCELLÁN, O.N.; CAMADRO, E.L. The viability of asparagus pollen after storage at low temperatures. *Scientia Horticulturae*, Amsterdam, n.67, p.101-104, 1996.
- MEDEIROS, A. R. M. Efeito da temperatura controlada na germinação dos grãos de pólen e crescimento do tubo polínico em pessegueiro (*Prunus persica* (L.) Batsch). *In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA*. 5., Pelotas, 1979. *Anais...* Pelotas, Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1979. v.2, p. 407-416.
- NASSAR, N. M. A. *Melhoramento genético de plantas frutíferas e mandioca*. Brasília: E. Thesaurus, 1991. 98p.
- SOUZA, C. M. de. *Incompatibilidade Gametofítica em cultivares de pereira (*Pyrus spp*)*. Pelotas: Universidade Federal de Pelotas, 1999. 44f. Tese (Doutorado em Agronomia), 1999.
- STANLEY, R. G.; LINSKENS, H.F. *Pollen: biology, biochemistry, management*. Berlin: Heidelberg, 1974. 307p.