

## ESTABELECIMENTO DE MEIO DE CULTURA E QUANTIFICAÇÃO DA GERMINAÇÃO DE GRÃOS DE PÓLEN DE CULTIVARES DE MARMELEIROS<sup>1</sup>

CAROLINA RUIZ ZAMBON<sup>2</sup>, LUIZ FERNANDO DE OLIVEIRA DA SILVA<sup>5</sup>, RAFAEL PIO<sup>3</sup>, MADELEINE ALVES DE FIGUEIREDO<sup>4</sup>, KELLY NASCIMENTO SILVA<sup>4</sup>

**RESUMO** – Visando a dar suporte aos trabalhos de melhoramento genético do marmeleiro (*Cydonia oblonga* Mill.), voltados para a seleção de cultivares altamente produtivas, aptas a serem cultivadas em regiões subtropicais e produtoras de doces de qualidade superior, objetivou-se ajustar o meio de cultura básico para a germinação de grãos de pólen de diferentes cultivares dessa espécie e quantificar o número de estames, número de grãos de pólen por antera e por flor. O pólen utilizado foi da cultivar Portugal, obtido de anteras provenientes de flores em estágio de balão. Em seguida, com auxílio de um pincel, os grãos de pólen foram espalhados sobre a superfície de placas de Petri, contendo 20 mL de meio de cultura, de acordo com os seguintes experimentos: 1) concentrações de ágar (4; 6; 8 e 10 g L<sup>-1</sup>) e valores de pH (3,5; 4,5; 5,5 e 6,5); 2) concentrações de sacarose (0; 30; 60 e 90 g L<sup>-1</sup>); 3) concentrações de nitrato de cálcio (0; 200; 400 e 800 mg L<sup>-1</sup>); 4) concentrações de ácido bórico (0; 400; 800 e 1.200 mg L<sup>-1</sup>); e 5) tempo de emissão do tubo polínico (0; 1; 2; 3; 4; 5 e 6 horas após a inoculação), os quais foram montados de forma sequencial. Após, avaliou-se a taxa de germinação dos grãos de pólen das 27 cultivares (Alaranjado, Alongado, Apple, BA29, Bereckzy, Champion, Cheldow, Constantinopla, CTS 207, Dangers, De Patras, De Vranja, Dulot, Fuller, Mendoza INTA 37, Kiakami, Lajeado, Meeck Profilic, Meliforme, Pineapple, Portugal, Provence, Radaelli, Rea's Mamouth, Smyrna, Van Deman e Zuquerineta), além do número de estames, número de grãos de pólen por antera e por flor. Realizando-se as leituras da porcentagem de germinação após cinco horas de incubação, concluiu-se que o meio de cultura para a germinação de grãos de pólen do marmeleiro deve ser acrescido de 68 g L<sup>-1</sup> de sacarose e 366 mg L<sup>-1</sup> de ácido bórico, sendo o pH aferido para 5,8 e o meio solidificado com 10 g L<sup>-1</sup> de ágar. Foram constatadas diferenças entre as cultivares quanto à quantidade de grãos de pólen e à capacidade germinativa dos mesmos, que variou de 37,83% a 82,23% entre as cultivares. Os grãos de pólen da cultivar Alaranjado apresentaram maior porcentagem de germinação, além da maior quantidade de grãos de pólen por flor.

**Termos para Indexação:** *Cydonia oblonga* Mill., melhoramento genético, taxa de germinação.

## ESTABLISHMENT OF GROWTH MEDIUM AND QUANTIFICATION OF GERMINATION OF POLLEN GRAINS OF QUINCE TREE CULTIVARS

**ABSTRACT** – To support breeding programs of quince tree (*Cydonia oblonga* Mill.), on the selection of highly productive cultivars, cultivation in subtropical area in Brazil and producers of top quality sweets, the objective of this research was to adjust the growth medium basic to pollen grain germination of this species and quantify the number of stamens, the number of pollen grains per anther and per flower. The pollen used was obtained from anthers of flowers in flask stage of cultivar Portugal. Then, using a brush, the pollen grains were spread on the surface of Petri dishes containing 20 mL of culture medium in accordance with the following experiments: 1) Agar concentrations (4, 6, 8 and 10 g L<sup>-1</sup>) and pH values (3.5; 4.5; 5.5 and 6.5); 2) sucrose concentrations (0, 30, 60 and 90 g L<sup>-1</sup>); 3) calcium nitrate concentrations (0, 200, 400 and 800 mg L<sup>-1</sup>); 4) boric acid concentrations (0, 400, 800 and 1200 mg L<sup>-1</sup>); and emission time of the pollen tube (0, 1, 2, 3, 4, 5 and 6 hours after inoculation), which had been mounted of sequential form. After, the germination rate of pollen grains of 27 quince cultivars (Alaranjado, Alongado, Apple, BA29, Bereckzy, Champion, Cheldow, Constantinopla, CTS 207, Dangers, De Patras, De Vranja, Dulot, Fuller, Mendoza INTA 37, Kiakami, Lajeado, Meeck Profilic, Meliforme, Pineapple, Portugal, Provence, Radaelli, Rea's Mamouth, Smyrna, Van Deman and Zuquerineta) was evaluated, and also the number of stamens, the number of pollen grains per anther and per flower. The readings germination percentage should be performed after five hours of incubation and the culture medium to pollen grain germination of quince should be added with 68 g L<sup>-1</sup> of sucrose and 366 mg L<sup>-1</sup> of boric acid, being the pH measured to 5.8 and the medium solidified with 10 g L<sup>-1</sup> of agar. Differences were observed among cultivars germination capacity and the amount of pollen grains, ranging from 37.83% to 82.23% among cultivars, and amount of pollen grains. The pollen grain from the Alaranjado cultivar showed higher germination percentage, and the largest amount of pollen grains per flower.

**Index terms:** *Cydonia oblonga* Mill., breeding programs, germination rate.

<sup>1</sup>(Trabalho 095-13). Recebido em: 01-03-2013. Aceito para publicação em: 14-02-2014.

<sup>2</sup>Bióloga, Dep. de Agricultura, UFLA, Lavras-MG. E-mail: carol-rzambon@hotmail.com

<sup>3</sup>Eng. Agr., D.Sc., Dep. de Agricultura, UFLA, Lavras-MG. Bolsista Produtividade em Pesquisa CNPq. E-mail: rafaelpio@dag.ufla.br

<sup>4</sup>Eng. Agr., Dep. de Agricultura, UFLA, Lavras-MG. E-mails: madeleine\_dede@yahoo.com.br ; kelly\_1614@yahoo.com.br

<sup>5</sup>Eng. Agr., M.Sc., Dep. de Agricultura, UFLA, Lavras-MG. PqC. EPAMIG. E-mail: luizfernando.agronomia@gmail.com

## INTRODUÇÃO

A rusticidade comparada às demais frutíferas de clima temperado e a possibilidade de cultivo em praticamente todas as áreas que apresentam inverno ameno, tornam o marmeleiro (*Cydonia oblonga* Mill.) uma opção de cultivo interessante para muitos produtores que se dedicam à fruticultura (PIO et al., 2009; VANIN et al., 2010). Os marmelos são muito usados na culinária para fabricação de marmeladas, compotas e geleias (ALVARENGA et al., 2008; PEREIRA et al., 2011), alternativas promissoras para a agricultura familiar em regiões turísticas, na transformação da polpa em doces e da escassez de marmeladas caseiras no mercado.

Atualmente, no Estado de Minas Gerais, concentra-se a maior área cultivada com marmelos no Brasil (FACHINELLO et al., 2011). Apesar de ser uma frutífera de clima temperado e requerer certa quantidade de frio durante o período de dormência (entre 200 e 450 horas de frio), marmeleiros vêm sendo cultivados comercialmente em outros estados brasileiros, tais como Bahia e Goiás (BETTIOL NETO et al., 2011).

Apesar do interesse pelo cultivo de marmelos em regiões subtropicais e tropicais, somente a cultivar Portugal vem sendo explorada comercialmente nestes locais (PIO et al., 2008). Existem outras cultivares com potencial produtivo similar ao 'Portugal', como 'Smyrna', 'Mendoza INTA-37', 'Fuller' e 'Provence' em regiões subtropicais (BETTIOL NETO et al., 2011) e até mesmo em regiões mais frias, dentre elas 'Lageado' e a 'De Patras' (FIORAVANÇO et al., 2006), possivelmente por serem cultivares que necessitam de maiores quantidade de frio. Não obstante a capacidade produtiva entre as cultivares, Alvarenga et al. (2008) verificaram que a qualidades dos doces produzidos a partir de frutos de diferentes cultivares de marmeleiro é variante.

Em vista do que foi exposto acima, nota-se que há necessidade de se intensificar o programa de melhoramento de marmeleiro no Brasil, voltado para a seleção de cultivares altamente produtivas e aptas a serem cultivadas em regiões subtropicais e produtoras de doces de qualidade superior. Além disso, podem-se selecionar cultivares a serem utilizadas como porta-enxertos para pereiras, a fim de propiciarem plantas de porte reduzido e maximizar plantios adensados (PIO et al., 2007; SEIFERT et al., 2009; PASA et al., 2011; MANICA-BERTO et al., 2013).

Buscando dar suporte aos programas de melhoramento, o conhecimento das características florais dos germoplasmas disponíveis é de grande

importância para a seleção dos progenitores a serem utilizados nas hibridações, como a viabilidade e a capacidade germinativa dos grãos de pólen.

A análise da fertilidade dos grãos de pólen dos progenitores coletados a campo é condição preliminar indispensável para os cruzamentos (CHAGAS et al., 2010). Bettiol Neto et al. (2011) verificaram que o período anual de floração das cultivares de marmeleiro é curto e, caso os grãos de pólen não estejam viáveis, podem inviabilizar as hibridações. Sabe-se que vários compostos orgânicos e inorgânicos interferem na germinação *in vitro*, dos quais o ágar, a sacarose, o cálcio e o boro são os mais importantes. Contudo, o pH do meio de cultura também influencia na germinação e na viabilidade dos grãos de pólen (CHAGAS et al., 2010). Nesse sentido, há necessidade em se estabelecer um meio de cultura que possa ser utilizado para o teste da capacidade germinativa dos grãos de pólen do marmeleiro. Como a quantidade de grãos por flor pode variar entre as cultivares dessa frutífera, acredita-se que os materiais que possuam maior quantidade de grãos em suas flores necessitem de menor número de botões florais para serem utilizados na extração do pólen a ser utilizado nas hibridações, em trabalhos de melhoramento genético.

Os objetivos do presente trabalho foram ajustar os componentes básicos do meio de cultura para verificar a capacidade germinativa dos grãos de pólen entre cultivares de marmeleiro e ainda quantificar o número de estames, o número de grãos de pólen por antera e por flor.

## MATERIAIS E MÉTODOS

O trabalho foi realizado entre os meses de agosto e setembro de 2012, utilizando 27 cultivares de marmeleiro, com três anos de idade, pertencentes à coleção da Universidade Federal de Lavras, UFLA. As cultivares utilizadas no experimento foram: Alaranjado, Alongado, Apple, BA29, Bereckzy, Champion, Cheldow, Constantinopla, CTS 207, Dangers, De Patras, De Vranja, Dulot, Fuller, Mendoza INTA 37, Kiakami, Lajeado, Meeck Proflic, Meliforme, Pineapple, Portugal, Provence, Radaelli, Rea's Mamouth, Smyrna, Van Deman e Zuquerineta.

Para o estabelecimento dos ensaios em meio de cultura, foi utilizada a cultivar Portugal, devido a seu florescimento precoce em relação às demais cultivares. Foram retiradas as anteras de 10 botões florais coletadas no final da tarde, utilizando-se de uma pinça. As anteras foram armazenadas em placas de Petri, destampadas à temperatura controlada

(27°C) por 12 horas na ausência de luz, para que ocorresse a antese, completa deiscência e liberação dos grãos de pólen (RAMOS et al., 2008).

Após a coleta dos grãos de pólen da cultivar Portugal, foram instalados os seguintes experimentos:

- Concentrações de ágar (4; 6; 8 e 10g L<sup>-1</sup>) e pH do meio: 3,5; 4,5; 5,5 e 6,5;
- Concentrações de sacarose (0; 30; 60 e 90 g L<sup>-1</sup>);
- Concentrações de nitrato de cálcio – Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (0; 200; 400 e 800 mg L<sup>-1</sup>);
- Concentrações de ácido bórico (0; 400; 800 e 1.200 mg L<sup>-1</sup>);
- Tempo de emissão do tubo polínico: 0; 1; 2; 3; 4; 5 e 6 horas após a inoculação.

A determinação do meio de cultura foi implantada de maneira sequencial (experimentos 1 ao 5), sempre utilizando o melhor resultado do experimento anterior para a montagem dos tratamentos subsequentes, conforme Chagas et al. (2010).

Com o auxílio de um pincel, o pólen foi passado na superfície da placa de Petri contendo 20 mL de meio de cultura, sempre procurando uniformizar sua distribuição ao longo da superfície do meio. Posteriormente, as placas foram tampadas e mantidas na ausência de luz, sendo que, quatro horas pós-inoculação, os grãos de pólen germinados ou não foram contados, com auxílio de um microscópio monocular com a objetiva de 10x, exceto no experimento de tempo de emissão do tubo polínico.

Durante a realização da contagem, foi considerado germinado o grão de pólen cujo comprimento do tubo polínico excedeu o dobro do próprio diâmetro (CHAGAS et al., 2010). Estes experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo cada repetição um quadrante da placa de Petri, e cada repetição foi constituída por cinco campos de visão.

Após o estabelecimento do meio de cultura básico para o marmeleiro, os grãos de pólen de cada uma das 27 cultivares foram submetidos à germinação *in vitro*, para avaliação de sua capacidade de germinação, segundo as recomendações de Pio et al. (2012). Esse experimento foi conduzido em delineamento inteiramente casualizado, composto por 27 tratamentos, representados pelas cultivares de marmeleiro, com quatro repetições, sendo cada repetição um quadrante da placa de Petri, e cada repetição foi constituída por cinco campos de visão.

Para o experimento de contagem do número de grãos de pólen por antera e por flor, foram coletados cinco botões florais de cada cultivar, sendo

contado o número de anteras por flor. Em seguida, separaram-se cinco anteras de forma aleatória, e cada conjunto de anteras foi então armazenado em tubos Eppendorf, destampados, à temperatura controlada (27°C) por 24 horas na ausência de luz, para a ocorrência da deiscência, e assim a liberação dos grãos de pólen (RAMOS et al., 2008). Passadas as 24 horas, foi acrescentada aos tubos uma solução de 1.000 µl de ácido láctico. Após 48 horas, uma amostra de 10 µl de cada Eppendorf foi colocada em uma lâmina de leitura (Neubauer), para a realização da contagem do número de grãos de pólen, com auxílio de microscópio óptico (objetiva de 100x). Esse experimento foi conduzido com cinco repetições, sendo cada repetição constituída por quatro leituras na lâmina de Neubauer.

A quantidade de grãos de pólen por antera foi calculada multiplicando-se a média do número de grãos de pólen de cada amostra pelo volume do ácido láctico da solução (1.000 µl) e dividindo-se este valor pelo produto entre o volume de ácido láctico da amostra (10 µl) e o número de anteras de cada tubo (cinco). O número de grãos de pólen por flor foi calculado pela multiplicação da estimativa média de grãos de pólen por antera pelo número médio de anteras por flor.

Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância, sendo as médias quantitativas submetidas à regressão linear ou quadrática, ao nível de 5% de probabilidade, e as médias qualitativas, avaliadas pelo teste de comparação de médias Scott & Knott. As análises foram realizadas pelo Programa Computacional Sistema para Análise de Variância – SISVAR (FERREIRA, 2011).

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Com relação ao estabelecimento do meio de cultura para a maximização da germinação dos grãos de pólen do marmeleiro, verificou-se que houve interação significativa entre as concentrações de ágar e o aferimento do pH do meio. Pela regressão quadrática (Figura 1A), visualiza-se que a maior concentração de ágar (10 g L<sup>-1</sup>) promoveu a maior germinação dos grãos de pólen. Pelo desdobramento da equação, o aferimento do pH para 5,9 no meio com 10 g L<sup>-1</sup> favoreceu em 62% a capacidade de germinação.

O aferimento do pH do meio para 3,5, independentemente da concentração de ágar adicionada ao meio de cultura, quase que anulou a germinação dos grãos de pólen de marmeleiro (Figura 1A). Uma possível explicação para a porcentagem de germinação mais alta ter ocorrido na concentração

de 10 g L<sup>-1</sup> de ágar, é que a alta concentração desse agente solidificante possibilitou maior consistência do meio de cultura, o que promoveu o equilíbrio do potencial osmótico do meio e, assim, favoreceu a germinação dos grãos de pólen. É um fator importante para o meio de cultura que o pH seja aferido adequadamente, pois influencia diretamente na solidificação do meio (CHAGAS et al., 2009).

Estudos realizados com outras frutíferas, pertencentes à família *Rosaceae*, apontam resultados semelhantes para o valor de pH na germinação de grãos de pólen. Chagas et al. (2009), em seu estudo com diferentes cultivares de *Prunus persica* (L.), obtiveram melhores resultados em meio com pH aferido para 5,5. Os mesmos autores, estudando a germinação de grãos de pólen de *Pyrus betulaefolia* e *Pyrus calleryana*, observaram que os valores de pH considerados ideais no meio de cultura, para a germinação do pólen dessas espécies, são de 5,2 e 5,8, respectivamente (CHAGAS et al., 2010).

Quanto à adição de sacarose ao meio de cultura, pode-se observar um aumento na porcentagem de germinação na medida em que se aumentou a concentração de sacarose do meio, sendo que a maior porcentagem de germinação dos grãos de pólen de marmeleiro (68%) foi observada na concentração de 68 g L<sup>-1</sup> de sacarose (Figura 1B).

A sacarose tem como finalidade o fornecimento de energia nos processos biossintéticos envolvidos no crescimento, na diferenciação e na morfogênese celular. Assim, a maior porcentagem de germinação com a elevação da concentração de sacarose poderia ser justificada pela maior oferta de energia, com favorecimento do crescimento do tubo polínico. Tais resultados também foram observados por Chagas et al. (2009), em seu estudo com *Prunus persica* (L.), onde foi constatado que as maiores porcentagens de germinação foram alcançadas com as maiores concentrações de sacarose adicionada ao meio de cultura.

Para a adição das diferentes concentrações de nitrato de cálcio [Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>] ao meio de cultura, pode-se observar que houve comprometimento da porcentagem de germinação polínica à medida que se aumentou a concentração de Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> adicionada ao meio, sendo obtidos maiores percentuais de germinação em sua ausência (61%) (Figura 1C). Esse resultado também corrobora os trabalhos realizados com outras frutíferas pertencentes à família *Rosaceae*, onde os melhores resultados de germinação foram alcançados na ausência de nitrato de cálcio do meio (CHAGAS et al., 2009; CHAGAS et al., 2010).

Com relação à adição de diferentes

concentrações de ácido bórico ao meio de cultura, os melhores resultados foram obtidos quando utilizados 366 mg L<sup>-1</sup>, alcançando 68% de germinação (Figura 1D). A adição desse elemento (B) no meio de cultura pode apresentar diferentes respostas, dependendo da espécie (DANTAS et al., 2005). O boro interage com a sacarose, formando um complexo ionizável açúcar-borato que reage com a membrana plasmática, promovendo maior crescimento do tubo polínico. Provavelmente, a adição de boro ao meio de cultura com posterior formação desse complexo tenha sido benéfica durante a germinação dos grãos de pólen de marmelo, aumentando seu percentual de germinação.

Quando avaliado o tempo de emissão do tubo polínico, pode-se observar que a germinação teve início uma hora pós-inoculação, com aumento na porcentagem de grãos de pólen que emitiram tubo polínico até 5,3 horas pós-inoculação (62% de germinação), sendo que, após esse período, houve uma estabilização na germinação dos polínios (massa de grãos de pólen aglomerados) no meio de cultura (Figura 1E).

Na avaliação da etapa seguinte, a análise estatística dos resultados obtidos demonstrou diferença significativa entre as cultivares. O teste de agrupamento de médias permitiu reunir as cultivares em quatro grupos, quanto à porcentagem de germinação dos grãos de pólen. A maior porcentagem de germinação foi obtida nas cultivares Alaranjado (77,62%), Champion (81,89%), Cheldow (82,23%), Dangers (80,33%), Fuller (78,50%) e Smyrna (79,55%) (Tabela 1), representando o grupo cuja porcentagem de germinação foi significativamente superior às demais cultivares, as quais apresentaram taxas de germinação que variaram de 69,44% a 37,83%.

Albuquerque Jr. et al. (2010) relataram, em trabalho realizado com a germinação de pólen de diferentes cultivares de macieira, que as taxas de germinação superiores a 30% são suficientes para assegurar boa fecundação e frutificação. Para o marmeleiro, ainda são necessários estudos para se determinar qual seria a taxa de germinação polínica mínima para uma boa fecundação e frutificação efetiva. Porém, são recomendadas como espécies polinizadoras cultivares com alta germinação polínica.

Durante o experimento de contagem de estames por flor, constatou-se variação entre os diferentes materiais estudados, onde as cultivares Alaranjado (27,4), Apple (25), Champion (23,8), Dulot (23,2), Fuller (23,6), Lajeado (26,6), Meeck Prolific (26,6), Meliforme (25), Provence (22,4), Radaelli (23) e Van Deman (25) foram as que



apresentaram os maiores números de antera por flor em relação às demais cultivares (Tabela 1). Outros trabalhos com frutíferas da família *Rosaceae* demonstraram que o número de estames por flor pode apresentar variação entre diferentes cultivares (ALBUQUERQUE JR. et al., 2010). Contudo, um maior número de anteras não é indicativo de maior quantidade de pólen por flor (STANTON et al., 2007; ALBUQUERQUE JR. et al., 2010).

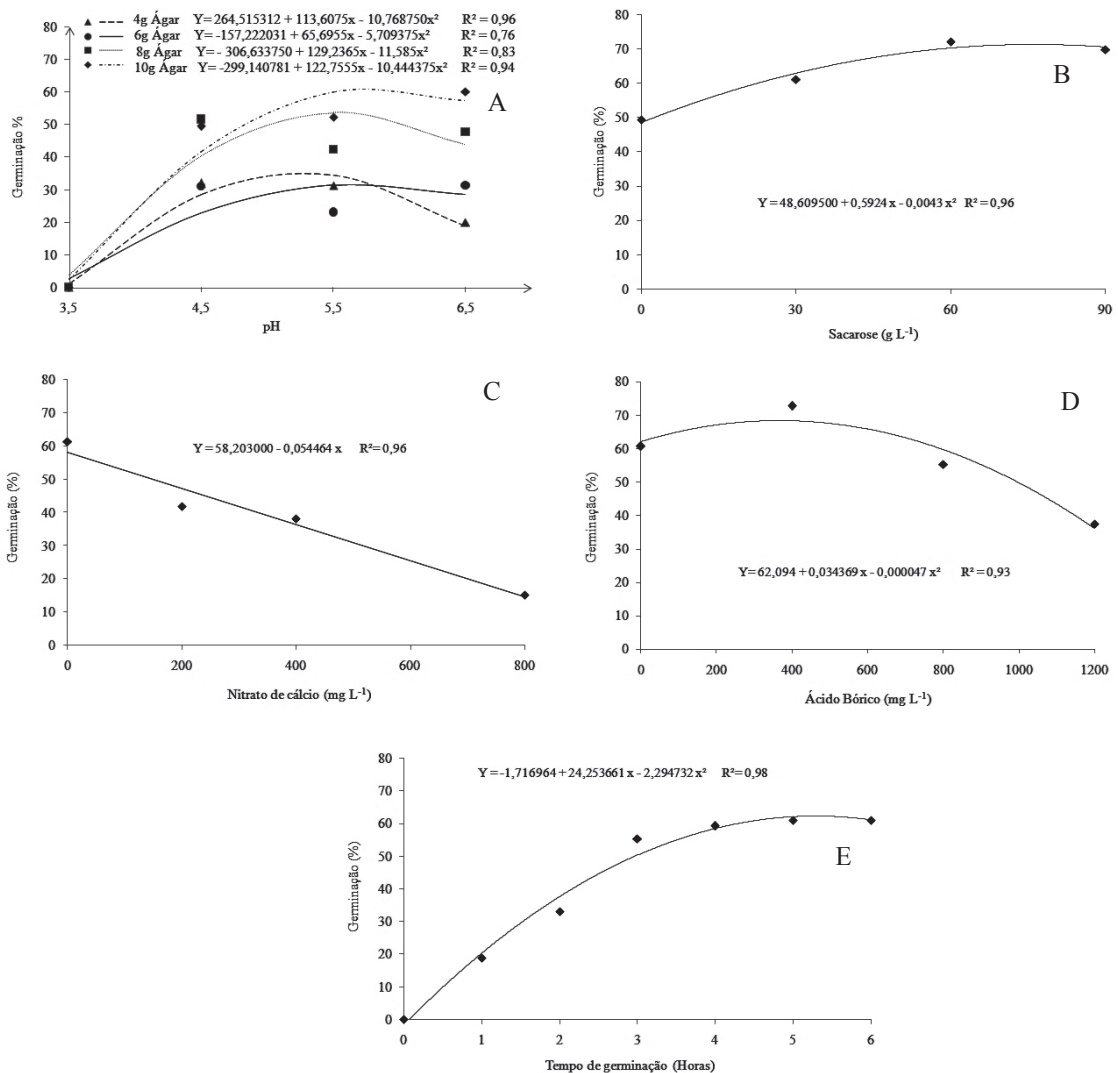
Na quantificação do número de grãos de pólen por antera, o teste de agrupamento de médias separou as cultivares em dois grupos. Porém, quando se avaliou a quantidade de grãos de

pólen por flor, a análise de variância demonstrou diferença significativa entre as cultivares estudadas, permitindo separá-las em três grupos distintos (Tabela 1). As cultivares Alaranjado (12.190,50), Meeck Prolific (11.468,25) e Van Deman (10.511,00) apresentaram as maiores quantidades de pólen por flor. Como a quantidade de grãos de pólen por flor dessas cultivares de marmeleiro foi superior, há necessidade de menor número de botões florais para serem utilizados na extração dos grãos de pólen a serem usados nas hibridações, nos trabalhos de melhoramento genético.

**TABELA 1**-Germinação média, número de anteras por flor, número de pólen por antera e número de pólen por flor de diferentes cultivares de marmeleiro. UFLA, Lavras-MG, 2013.

Cultivar	Germinação (%)	Número de anteras por flor	Número de pólen por antera	Número de pólen por flor
Alaranjado	77,62 a	27,40 a	451,50 a	12.190,50 a
Alongado	63,92 b	17,60 c	342,50 a	6.165,00 b
Apple	42,29 d	25,00 a	277,75 b	6.943,75 c
BA29	65,12 b	19,80 b	424,00 a	8.480,00 b
Bereckzy	55,98 c	21,00 b	362,75 a	7.980,50 b
Champion	81,89 a	23,80 a	352,50 a	8.460,00 b
Cheldow	82,23 a	16,20 c	372,00 a	5.952,00 c
Constantinopla	39,39 d	19,40 b	255,00 b	4.845,00 c
CTS 207	57,03 c	16,80 c	312,25 b	5.308,25 c
Dangers	80,33 a	21,60 b	251,25 b	5.527,50 c
De Patras	43,88 d	19,80 b	282,25 b	5.645,00 c
De Vranja	62,77 b	20,00 b	294,75 b	5.895,00 c
Dulot	58,86 c	23,20 a	243,75 b	5.606,25 c
Fuller	78,50 a	23,60 a	381,50 a	9.156,00 b
Mendoza INTA 37	52,29 c	15,80 c	331,75 a	4.976,25 c
Kiakami	42,92 d	20,40 b	336,50 a	6.730,00 c
Lajeado	53,71 c	26,60 a	349,50 a	8.737,50 b
Meeck Proflic	60,72 c	26,60 a	424,75 a	11.468,25 a
Meliforme	47,50 d	25,00 a	233,50 b	5.837,50 c
Pineapple	55,79 c	21,40 b	338,25 a	7.103,25 c
Portugal	65,72 b	16,60 c	411,00 a	6.987,00 c
Provence	69,44 b	22,40 a	383,50 a	8.437,00 b
Radaelli	58,65 c	23,00 a	360,50 a	8.291,50 b
ReasMamouth	40,57 d	21,00 b	280,25 b	5.885,25 c
Smyrna	79,55 a	17,00 c	148,50 b	2.524,50 c
Van Deman	48,06 d	25,00 a	457,00 a	10.511,00 a
Zuquerineta	37,83 d	19,60 b	366,00 a	7.320,00 c
CV (%)	12,15	16,69	33,73	33,28

Médias seguidas de mesma letra nas colunas não diferem entre si, pelo teste de Scott-Knott, a 5% de probabilidade.



**FIGURA 1-** Porcentagem de germinação *in vitro* de grãos de pólen de marmelo ‘Portugal’ submetidos a diferentes pHs e concentrações de ágar ( $\text{g L}^{-1}$ ) no meio de cultura (A); diferentes concentrações de sacarose ( $\text{g L}^{-1}$ ) (B); diferentes concentrações de nitrato de cálcio ( $\text{mg L}^{-1}$ ) (C); diferentes concentrações de ácido bórico ( $\text{mg L}^{-1}$ ) (D), e diferentes tempos de incubação para a germinação do grão de pólen (E). UFLA, Lavras-MG, 2013.

## CONCLUSÕES

As leituras da porcentagem de germinação de grãos de pólen de marmeleiro devem ser realizadas após cinco horas de incubação. O meio de cultura deve ser acrescido de 68 g L<sup>-1</sup> de sacarose e 366 mg L<sup>-1</sup> de ácido bórico, sendo o pH aferido para 5,8, e o meio, solidificado com 10 g L<sup>-1</sup> de ágar. Os grão de pólen da cultivar Alaranjado apresentaram maior porcentagem de germinação, além da maior quantidade de grãos de pólen por flor.

## AGRADECIMENTOS

À Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais – FAPEMIG, e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPQ, pelo apoio financeiro na execução deste trabalho.

## REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE JR., C.L.J.; DENARDI, F.; DANTAS, A.C.M.; NODARI, R.O. Número de anteras por flor, grãos de pólen por antera e capacidade germinativa do pólen de diferentes cultivares de macieiras. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.32, n.4, p.1255-1260, 2010.
- ALVARENGA, A.A.; ABRAHÃO, E.; PIO, R.; ASSIS, F.A.; OLIVEIRA, N.C. Comparação entre doces produzidos a partir de frutos de diferentes espécies e cultivares de marmeleiro (*Cydonia oblonga* Miller e *Chaenomeles sinensis* Koehne). **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.32, n.1, p.302-307, 2008.
- BETTIOL NETO, J.E.; PIO, R.; SANCHES, J.; CHAGAS, E.A.; CIA, P.; CHAGAS, P.C.; ANTONIALI, S. Produção e atributos de qualidade de cultivares de marmeleiro na região paulista. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.33, n.3, p.1035-1042, 2011.
- CHAGAS, E.A.; PIO, R.; CHAGAS, P.C.; PASQUAL, M.; BETTIOL NETO, J.E. Composição do meio de cultura e condições ambientais para germinação de grãos de pólen de porta-enxertos de pereira. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.40, n.2, p.261-266, 2010.
- CHAGAS, E.A.; BARBOSA, W.; PIO, R.; CAMPO DALL'ORTO, F.A.; TIZATO, L.H.G.; SAITO, A.; CHAGAS, P.C.; SCARPARE, J.A.F. Germinação *in vitro* de grãos de pólen de *Prunus persica* (L.) *Batsch Vulgaris*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v.25, n.5, p.8-14, 2009.
- DANTAS, A.C.M.; PEIXOTO, M.L.; NODARI, R.O.; GUERRA, M.P. Viabilidade do pólen e desenvolvimento do tubo polínico em macieira (*Malus* spp.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.27, n.3, p.356-359, 2005.
- FACHINELLO, J.C.; PASA, M.S.; SCHMTIZ, J.D.; BETEMPS, D.L. Situação e perspectivas da fruticultura de clima temperado no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.33, p.109-120, 2011. Edição especial
- FERREIRA, D.F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.35, n.6, p.1039-1042, 2011.
- FIORAVANÇO, J.C.; SIMONETTO, P.R.; GRELLMANN, E.O. Comportamento fenológico e produtivo de marmeleiros em Veranópolis-RS. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.30, n.1, p.15-20, 2006.
- MANICA-BERTO, R.; PEGORARO, C.; MISTURA, C.C.; BRESOLIN, P.S.; RUFATO, A.R.; FACHINELLO, J.C. Similaridade genética entre cultivares de marmeleiro avaliadas por marcadores AFLP. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.48, n.5, p.568-571, 2013.
- PEREIRA, G.G.; ALVARENGA, A.A.; ABRAHÃO, E.; PINHEIRO, A.C.M.; OLIVEIRA, A.F.; PIO, R. Avaliação sensorial de geleia de marmelo 'Japonês' em diferentes concentrações de sólidos solúveis totais. **Brazilian Journal of Food Technology**, Campinas, v.14, n.3, p.226-231, 2011.
- PIO, R.; CHAGAS, E.A.; BARBOSA, W.; SIGNORINI, G.; DEL AGUILA, J.S. Teste de porta-enxertos intergenéricos para marmeleiros em condições de viveiro. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.33, n.2, p.521-526, 2009.

- PIO, R.; CHAGAS, E.A.; BARBOSA, W.; SIGNORINI, G.; ENTELMANN, F.A.; FIORAVANÇO, J.C.; FACHINELLO, J.C.; BIANCHI, V.J. Desenvolvimento de 31 cultivares de marmeleiro enxertadas no porta-enxerto 'Japonês'. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.30, n.2, p.466-470, 2008.
- PIO, R.; DALL'ORTO, F.A.C.; ALVARENGA, A.A.; ABRAHÃO, E.; CHAGAS, E.A.; SIGNORINI, G. Propagação do marmeleiro 'Japonês' por estaquia e alporquia realizadas em diferentes épocas. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.31, n.2, p.570-574, 2007.
- PIO, R.; PASQUAL, M.; CHAGAS, E.A.; BARBOSA, W.; CHAGAS, P.C.; TIZATO, L.H.G.; BETTIOL NETO, J.E.; NEVES, A.A.; CARVALHO, A.S.; SCARPARE FILHO, J.A. Cryopreservation of peach and nectarine pollen grains. **Acta Horticulturae**, The Hague, v.962, p.269-275, 2012.
- PASA, M.S.; FACHINELLO, J.C.; SCHMITZ, J.D.; SOUZA, A.L.K.; HERTER, F.G. Hábito de frutificação e produção de pereiras sobre diferentes porta-enxertos. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.46, n.9, p.998-1005, 2011.
- RAMOS, J.D.; PASQUAL, M.; SALLES, L.A.; CHAGAS, E.A.; PIO, R. Receptividade do estigma e ajuste de protocolo para germinação *in vitro* de grãos de pólen de citros. **Interciência**, Catanduva, v.33, n.1, p.51-55, 2008.
- SEIFERT, K.E.; PIO, R.; CELANT, V.M.; CHAGAS, E.A. Mudanças de pera produzidas por dupla enxertia em marmeleiro utilizando o porta-enxerto 'Japonês'. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v.44, n.12, p.1631-1635, 2009.
- STANTON, M.A.; SCHEERENS, J.C.; FUNT, R.C.; CLARK, J.R. Floral competence of primocane-fruited blackberries prime-jan and prime-jim grown at three temperature regimens. **HortScience**, Alexandria, v.42, n.3, p.508-513, 2007.
- VANIN, J.P.; PIO, R.; CHAGAS, E.A.; BARBOSA, W.; DALASTRA, I.M.; ENTELMANN, F.A. Adubação na produção de plântulas do marmeleiro Japonês. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v.34, n.3, p.545-550, 2010.