

## COMUNICAÇÃO CIENTÍFICA

# NÚMERO DE ANTERAS POR FLOR, GRÃOS DE PÓLEN POR ANTERA E CAPACIDADE GERMINATIVA DO PÓLEN DE DIFERENTES CULTIVARES DE MACIEIRAS<sup>1</sup>

CELSE LOPES DE ALBUQUERQUE JUNIOR<sup>2</sup>, FREDERICO DENARDI<sup>3</sup>,  
ADRIANA CIBELE DE MESQUITA DANTAS<sup>4</sup>, RUBENS ONOFRE NODARI<sup>5</sup>

**RESUMO** - O objetivo deste trabalho foi avaliar o número de anteras por flor, grãos de pólen por antera e capacidade germinativa do pólen de diferentes cultivares de macieiras. O trabalho foi executado no Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal da Universidade Federal de Santa Catarina, e as coletas a campo foram realizadas na Epagri/Estação Experimental de Caçador-SC, em outubro de 2005. Foram utilizadas as seguintes cultivares comerciais de macieira desenvolvidas no Brasil: Primícia, Princesa, Fred Hough, Catarina, Baronesa, Lisgala, Suprema, Condessa, Daiane, Duquesa, Imperatriz e Joaquina. As cultivares de macieira Condessa, Princesa, Eva, Duquesa, Imperatriz, Gala, Fred Hough, Daiane, Baronesa e Suprema produzem pólen em quantidade suficiente e com boa capacidade germinativa. A cv. Condessa, embora apresente alta capacidade germinativa de pólen, produz menos anteras e grãos de pólen por antera que as demais. A cv. Princesa é a que apresenta o melhor perfil como polinizadora, por conjugar número de anteras/flor, número de grãos de pólen/antera e capacidade germinativa do pólen mais satisfatórios.

**Termos para Indexação:** *Malus domestica*, polinização, frutificação efetiva.

## NUMBER OF ANTHEAS PER FLOWER, POLLEN GRAINS PER ANTHET AND POLLEN GERMINATION CAPACITY OF DIFFERENT CULTIVARS OF APPLE TREES

**ABSTRACT** - The objective of this study was to evaluate the number of anthers per flower, the number of pollen grains per anther and the pollen germination capacity of different cultivars of apple trees. The study was performed at the Physiology and Plant Genetics Laboratory of Federal University of Santa Catarina. The field collecting was performed at Epagri / Caçador Experimental Station, in the State of Santa Catarina during October, 2005. It was used the following apple cultivars developed in Brazil: Primícia, Princesa, Fred Hough, Catarina, Baronesa, Lisgala, Suprema, Condessa, Daiane, Duquesa, Imperatriz and Joaquina. It was concluded that the apple cultivars Condessa, Princesa, Eva, Duquesa, Imperatriz, Gala, Fred Hough, Daiane, Baronesa and Suprema produce pollen grains of satisfactory quantity and of good germination capacity. The cv. Condessa, although having high pollen germination capacity, produces fewer anthers and less pollen grain per anther than the others. Princesa is the cultivar of best pattern as pollinizer, once it combines number of anthers/flower, number of pollen grains/anther and pollen germination capacity in a better satisfactory level.

**Index terms:** *Malus domestica*, pollination, fruit set.

<sup>1</sup>(Trabalho 225-09). Recebido em: 30-09-2009. Aceito para publicação em: 26-07-2010.

<sup>2</sup>Prof. Msc, UNISUL - Universidade do Sul de Santa Catarina, Tubarão-SC - E-mail: celso.albuquerque@unisul.br

<sup>3</sup>Eng. Agr. Msc. Epagri – Estação Experimental de Caçador, Caçador-SC - E-mail: denardi@epagri.sc.gov.br

<sup>4</sup>Prof. Dra, UERGS – Universidade Estadual do Rio Grande do Sul, Bento Gonçalves-RS - E-mail: acmdantas@yahoo.com.br

<sup>5</sup>Prof. Dr., UFSC - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis-SC - E-mail: nodari@cca.ufsc.br

A cultura da macieira é destaque na economia catarinense. O Estado vem mantendo-se como maior produtor brasileiro há vários anos (ICEPA, 2009). As boas perspectivas de desenvolvimento e consolidação da cultura da macieira como importante alternativa socioeconômica para Santa Catarina, de um lado, e a falta de cultivares adaptadas ao clima local, de outro, foram os principais norteadores para se dar início, em 1973, a um programa de melhoramento genético da Epagri (Empresa de Pesquisa Agropecuária e Extensão Rural de Santa Catarina). Este programa de melhoramento tem como objetivos principais desenvolver e avaliar cultivares bem adaptadas ao clima local, resistentes às principais doenças e pragas existentes no Estado de Santa Catarina (DENARDI; HOUGH, 1987).

A macieira, caracterizada como espécie alógama, necessita de polinização cruzada como garantia para se obterem boas produções anuais. Essa frutífera possui como fator impeditivo da autofecundação o mecanismo de autoincompatibilidade gametofítica sob controle dos alelos *S* (*SI*). Caracterizado como um sistema muito comum entre espécies vegetais, encontra-se na macieira sob controle de um único loco, denominado *S* (LUNDOQVIST, 1964; de NETTANCOURT, 2001; ALBUQUERQUE JUNIOR, 2005). Essa incompatibilidade é de caráter genético, e expressa-se sempre que o pólen e o estigma apresentam o mesmo alelo-*S* (BROOThAERTS, 2004).

Polinização é o evento-chave na reprodução de plantas, agindo no estímulo ao crescimento e desenvolvimento do ovário (DONG et al., 1998). É a transferência do grão de pólen da antera para o estigma. Segundo Jensen (1973), o grão de pólen, uma vez depositado sobre o estigma de uma flor, germina em poucas horas, formando o tubo polínico. Havendo compatibilidade gametofítica entre o estigma e o tubo polínico, em poucas horas, este prossegue através dos tecidos do estigma e estilete, até atingir o óvulo, caracterizando então a fecundação.

Dentre outros, os dados sobre o desenvolvimento fisiológico e a viabilidade germinativa dos grãos de pólen são fundamentais para estudos da biologia reprodutiva e para o estabelecimento de combinações certas entre parentais em programas de melhoramento genético da macieira. Knowlton (1935) observou grande variação na produção de pólen por antera entre cultivares de macieira. Petri (1976) constatou que o número de grãos de pólen por antera em diversas cultivares de macieira, na região produtora de Fraiburgo - SC, manteve-se entre dois e três mil. Estes valores foram considerados muito baixos, quando comparados com os obtidos nos Estados Unidos e Japão, onde oscilam entre cinco e

dez mil grãos de pólen por antera.

Segundo Luchi (2002), o número de anteras na flor de macieira varia de 9 a 20, decrescendo com o aumento da poliploidia, sendo que flores diploides geralmente apresentam 18,5 anteras, triploides 16,9 e tetraploides 13,8.

O objetivo deste trabalho foi avaliar o número de anteras por flor, grãos de pólen por antera e capacidade germinativa do pólen de diferentes cultivares de macieiras.

O trabalho foi executado em dois locais. A parte laboratorial foi desenvolvida no Laboratório de Fisiologia do Desenvolvimento e Genética Vegetal (LFDGV), do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC, em Florianópolis. A parte experimental, que consistiu em coletas a campo, foi realizada na Epagri / Estação Experimental de Caçador-SC, em outubro de 2005. Foram utilizadas as seguintes cultivares comerciais de macieira, obtidas pelo programa de melhoramento genético da Epagri: Primícia, Princesa, Fred Hough, Catarina, Baronesa, Lisgala, Suprema, Condessa, Daiane, Duquesa, Imperatriz e Joaquina.

Seguindo metodologia proposta por Kearns e Inouye (1993), foram coletadas quatro flores de cada cultivar e, em seguida, contado o número de estames e anteras de cada flor. Após, foram coletadas, de forma aleatória, cinco anteras de cada flor, as quais foram armazenadas individualmente, em tubos Eppendorf, contendo uma solução de 1.000  $\mu$ L de ácido láctico. Posteriormente, foi colocada uma amostra da solução (1,5  $\mu$ L) com os grãos de pólen liberados em uma lâmina de leitura e contados com auxílio de microscópio óptico (100x).

A quantidade de grãos de pólen em cada antera (*N*) foi calculada multiplicando-se a média do número de grãos de pólen de cada amostra (*X*) pelo volume do ácido láctico da solução (1.000  $\mu$ L) e dividindo este valor pelo produto entre o volume de ácido láctico da amostra (1,5  $\mu$ L) e o número de anteras de cada tubo (5). Para calcular o número de grãos de pólen produzido por flor, foi efetuada a multiplicação da estimativa média de grãos de pólen por antera pelo número de anteras por flor. Os dados foram submetidos à análise de variância, e a comparação entre médias, através do teste de Duncan, a 5% (BEIGUELMAN, 2002).

Para a determinação da taxa de germinação de pólen, foram utilizadas as cultivares Baronesa, Condessa, Daiane, Duquesa, Eva, Fred Hough, Gala, Imperatriz, Princesa e Suprema. Flores foram coletadas no estágio de balão rosado (fase de antese). Em seguida, as anteras foram retiradas, utilizando-se de um estilete, e colocadas para secar em estufa sob

temperatura  $20 \pm 5^\circ\text{C}$ , até a completa deiscência (liberação do pólen). O pólen seco foi então armazenado em tubos de vidro (10 mL), vedados com algodão e armazenados em dessecador mantido a  $4^\circ\text{C}$  até sua utilização, aproximadamente duas semanas após. A viabilidade germinativa dos grãos de pólen, realizada antes dos cruzamentos feitos no campo, foi verificada através de teste de germinação *in vitro*, em placas de Petri contendo meio de cultura composto de  $10 \text{ g.L}^{-1}$  de agar, suplementados com  $100 \text{ g.L}^{-1}$  de sacarose (Merk) e  $0,04 \text{ g.L}^{-1}$  de ácido bórico (NUNES, 2001). O pólen foi aspergido sobre o meio de cultura com auxílio de pincel de pele de camelo, procurando-se uniformizar sua distribuição na superfície do meio de cultura. As placas foram então tampadas hermeticamente e mantidas em incubadora (B.O.D.) a  $25^\circ\text{C}$ . Após duas horas da inoculação, foi procedida a leitura da germinação com auxílio de microscópio binocular, considerando-se germinados os grãos de pólen cujo tubo polínico tinha comprimento de, pelo menos, o diâmetro do próprio grão de pólen. Para efeito de contagem, foram considerados cinco campos de leitura, totalizando ao menos 250 grãos de pólen, ou 50 grãos de pólen por campo de leitura.

O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado, sendo composto pelas dez diferentes origens de pólen (tratamentos) e cinco repetições por tratamento. Os dados foram submetidos à análise de variância (teste F), e a comparação entre médias, feita através do teste de Duncan, a 5% (BEIGUELMAN, 2002).

O número médio de anteras por flor variou de 16,3 a 20 nas diferentes cultivares avaliadas (Tabela 1). As cultivares Baronesa, Suprema e Imperatriz revelaram o maior número de anteras por flor, com média de 20. Já a cultivar Condessa foi a que revelou o menor número médio de anteras por flor (16,3). É importante salientar que nem sempre o maior número de anteras é indicativo de maior quantidade de grãos de pólen por flor. A quantidade de anteras formadas em uma flor pode variar de um ano para o outro, pois as condições ambientais têm grande influência na formação desse tipo de órgão floral (PETRI, 1976).

Quanto ao número de grãos de pólen por antera, embora não diferiram estatisticamente entre as cultivares Suprema, Princesa e Daiane, as cultivares Imperatriz e Lisgala destacaram-se, com médias de 5.185 e 5.166 (Tabela 2), totalizando 103.700 e 101.770 grãos de pólen por flor, respectivamente. Esses valores estão bem acima dos encontrados por Pasqual e Petri (1980), que avaliaram o número de grãos de pólen por antera de 17 cultivares da época, como a Golden Delicious, Gala, Fuji, Starkinson, Blakjon, PX 1033, Granny Smith, Willie Sharp e Del-

con. Os autores encontraram números que variaram de 696 a 4.318 para as cultivares Delcon e PX 1033, respectivamente. As maiores quantidades de grãos de pólen por antera encontradas nas cultivares desenvolvidas no Sul do Brasil, em relação às cultivares importadas e aqui cultivadas (PASQUAL; PETRI, 1980), podem ter relação com a melhor adaptação climática daquelas cultivares nas condições onde se efetuou este estudo. As cultivares estudadas por aqueles autores não têm boa adaptação no Sul do Brasil (PETRI et al., 1996).

No estudo de germinação de pólen, quando se avaliaram apenas as cultivares utilizadas como polinizadoras comerciais (DENARDI, et al., 2005), os resultados obtidos mostraram que todas as cultivares estudadas produzem pólen com boa capacidade germinativa. A taxa média de germinação foi maior que 59% em todas as cultivares (Tabela 3), situando-se bem acima dos 30% citados por diversos autores como suficiente para assegurar boa fertilização e boa frutificação efetiva (KEULEMANS ET AL., 1994; MACDANIEL; HEINICKE, 1929; KNOWLTON, 1935).

Por outro lado, a análise de variância mostrou diferenças significativas na taxa de germinação do pólen entre as cultivares estudadas. O teste Duncan, a 5%, permitiu separar as cultivares em dois grupos distintos. Os grãos de pólen da 'Princesa' e da 'Condessa', com 73,2% e 72,0% de germinação, respectivamente, germinaram em taxas significativamente maiores que o pólen das demais cultivares, cuja germinação variou de 64,8% na 'Eva' a 59,6% na Suprema (Tabela 3).

As cultivares Princesa e Duquesa já vêm sendo utilizadas como polinizadoras das cultivares comerciais que apresentam baixo requerimento de frio hibernal no Sul do Brasil, como a Condessa e a Eva. As cultivares Baronesa e Fred Hough são utilizadas como polinizadoras da cv. Imperatriz para climas de invernos amenos, mediante quebra de dormência artificial (DENARDI et al., 2005). Para climas mais frios, no meio-oeste catarinense, essas duas cultivares vêm apresentando boa eficiência como polinizadoras das cultivares Gala e Suprema (DENARDI; CAMILO, 1997). A cv. Baronesa é recomendada pela pesquisa como polinizadora da cv. Fuji, e as cultivares Fred Hough e Imperatriz, como polinizadoras da cv. Gala (DENARDI et al., 2005). Neste estudo, todas elas mostraram boa capacidade germinativa do pólen, variando de 59,6% na 'Suprema' a 73,2% na 'Princesa', demonstrando bom potencial como polinizadoras.

De acordo com os dados obtidos, conclui-se que as cultivares de macieira Condessa, Princesa,

Eva, Duquesa, Imperatriz, Gala, Fred Hough, Daiane, Baronesa e Suprema produzem pólen em quantidade satisfatória e com boa capacidade germinativa.

A cv. Condessa, embora apresente alta capacidade germinativa de pólen, produz menos anteras

e menos grãos de pólen por antera que as demais.

A cv. Princesa é a que apresenta o melhor perfil como polinizadora, por conjugar número de anteras/flor, número de grãos de pólen/antera e capacidade germinativa do pólen em níveis muito satisfatórios.

**TABELA 1-** Número de anteras por flor obtido em Caçador-SC, em diferentes cultivares de macieira, durante a primavera de 2005.

CULTIVAR	Nº de anteras por flor		
	Mínimo	Máximo	Média
Baronesa	20	20	20,0 0 a
Suprema	20	20	20,0 0 a
Imperatriz	20	20	20,0 0 a
Lisgala	19	20	19,8 ± 2,50 a b
Joaquina	19	20	19,3 ± 2,50 a b
Princesa	17	20	19,0 ± 7,07 a b
Fred Hough	18	20	19,0 ± 4,08 a b
Daiane	19	19	19,0 0 a b
Catarina	18	20	19,0 ± 5,77 a b
Primícia	16	20	18,8 ± 9,46 a b
Duquesa	17	19	18,0 ± 4,08 b
Condessa	14	20	16,3 ± 13,15 c

CV (%) = 6,02

Médias seguidas por letras distintas diferem entre si, pelo teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade. Acompanha desvio-padrão da média.

**TABELA 2 -** Número médio de grãos de pólen por antera, número médio de anteras por flor e número de grãos de pólen por flor, obtidos em 2005 de cultivares de macieira desenvolvidas no Brasil.

Cultivar	Grãos de pólen/ antera	Anteras/flor	Grãos de pólen/flor
Imperatriz	5.185 a	20,0	103.700
Lisgala	5.166 a	19,7	101.770
Suprema	4.999 a	20,0	99.980
Princesa	4.934 a	19,0	93.746
Daiane	4.884 a b	19,0	92.796
Catarina	4.624 b c	19,0	87.856
Joaquina	4.422 c d	19,2	84.902
Primícia	4.255 d e	18,7	79.568
Baronesa	4.130 d e	20,0	82.600
Fred Hough	3.980 e	19,0	75.620
Condessa	3.431 f	16,3	55.925
Duquesa	2.981 g	18,0	53.658

CV (%) = 4,63

As médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, segundo o teste de Duncan, ao nível de 5% de probabilidade.

**TABELA 3** - Porcentagem de germinação de grãos de pólen *in vitro*, obtida em 2005 de nove cultivares de macieira desenvolvidas no Sul do Brasil.

Cultivar polinizadora	Porcentagem de germinação do pólen
Princesa	73,2 ± 7,43 a
Condessa	72,0 ± 6,32 a
Eva	64,8 ± 6,87 b
Baronesa	64,0 ± 5,48 b
Fred Hough	63,2 ± 4,82 b
Imperatriz	61,2 ± 6,57 b
Daiane	61,2 ± 4,82 b
Duquesa	60,0 ± 3,16 b
Gala	60,0 ± 4,00 b
Suprema	59,6 ± 5,18 b
CV (%) =	8,77

Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Duncan ( $P \leq 0,05$ ). Acompanha desvio-padrão da média.

## REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE JUNIOR, C. L. **Caracterização molecular e morfofisiológica da incompatibilidade alélica entre cultivares de macieira**. 2005. 80f. Dissertação (Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2005.
- BEIGUELMAN, B. **Curso prático de bioestatística**. 5. ed. Ribeirão Preto: Fundação de Pesquisas Científicas de Ribeirão Preto, 2002. 274p.
- BROOHTAERTS, W. Update on and review of the incompatibility (S-) genotypes of apple cultivars. **HortScience**, Alexandria, v. 39, p. 943-947, 2004.
- DENARDI, F.; CAMILO, A.P. Novas cultivares de macieira: proposta de nova composição de pomares com polinizadoras/produtoras. **Agropecuária Catarinense**, Florianópolis, v.10, n.2., p. 25-30, 1997.
- DENARDI, F.; HOUGH, L.F. Apple breeding in Brasil. **HortScience**, Mount Vernon, v.22., p.1231-1233., 1987.
- DENARDI, F.; PEREIRA, A.J.; BONETI, J.I.S. Maçã. In: EPAGRI. **Avaliação de cultivares para o Estado de Santa Catarina 2005/2006**. Florianópolis, 2005. p.159 (Boletim Técnico, 127).
- DONG, Y.H.; KVARNHEDEN, A.; YAO, J.L.; SUTHERLAND, P.W.; ATKINSON, R.G.; MORRIS, B.A.; GARDNER, R.C. Identification of pollination-induced genes from the ovary of apple (*Malus domestica*). **Sexual Plant Reproduction**, Berlin, v.11, p.277-283, 1998.
- ICEPA. **Síntese anual da agricultura de Santa Catarina**. Disponível em: <[http://cepa.epagri.sc.gov.br/Publicacoes/sintese\\_2008/Sintese\\_2008.pdf](http://cepa.epagri.sc.gov.br/Publicacoes/sintese_2008/Sintese_2008.pdf)>. Acesso em: 12 maio 2009.
- JENSEN, W.A. Fertilization in flowering plants. **BioScience**, Washington, v.23, p.21-27, 1973.
- KEARNS, C. A.; INOUE, D. W. **Techniques for pollination biologists**. Colorado: University Press of Colorado, 1993. 630 p.
- KEULEMANS, J.; EYSEN, R.; COLDA, G. Improvement of seed set and seed germination in apple. In: SCHMIDT, H.; KELLERHALS, M. **Progress in temperate fruit breeding**. Dordrecht: Netherlands Kluwer Academic, 1994. p. 225-228.
- KNOWLTON, H.E. The relative abundance of pollen production by varieties of apples. **Proceedings of the American Society for Horticultural Science**, St. Joseph, v.32, p.7-9, 1935.
- LUCHI, V.L. Botânica e Fisiologia. In: EPAGRI (Org.). **A Cultura da macieira**. Florianópolis, 2002. p. 59-102.

- LUNDQVIST, A. The nature of the two-loci incompatibility system in grasses. II. Interaction between the loci in relation to pseudo-compatibility in *Festuca pratensis* Huds. **Hereditas**, Sweden, v.52, p. 221-234, 1964.
- MACDANIELS, L.H.; HEINICKE, J. Pollination and other factors affecting the set of fruit, with special reference to the apple. **Agricultural Experiment Station Bulletin**, New York, v.497, p.31, 1929.
- NETTANCOURT, D.de. **Incompatibility and incongruity in wild and cultivated plants**. 2. ed. Berlin: Springer-Verlag, 2001. p.322.
- NUNES, J.C.O.; DANTAS, A.C.M.; PEDROTTI, E.L.; ORTH, A.I.; GERRA, M.P. Germinação de pólen *in vitro* e receptividade do estigma em macieira cvs. Fuji e Golden Delicious. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.23, p.35-39,2001.
- PASQUAL, M.; PETRI, J.L. **Compatibilidade de pólen entre diversas cultivares de macieira**. Florianópolis: EMPASC, 1980. p.30 (Comunicado Técnico, 38)
- PETRI, J.L. Número de grãos de pólen por antera em diversas cultivares de macieira (*Malus Sylvestris*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 3., 1976, Campinas. **Anais...** Campinas: SBF, 1976. p. 467-471.
- PETRI, J.L.; PALLADINI, L.A.; SHUCK, E.; DUCROQUET, J.P.H.J.; MATOS, C.S.; POLA, A.C. **Dormência e indução da brotação de fruteiras de clima temperado**. Florianópolis: EPAGRI, 1996. 110p. (Boletim Técnico, 75).