

● AGRONOMIA

CARACTERIZAÇÃO DOS ASPECTOS FLORAIS DE CULTIVARES DE PEREIRA (*Pyrus sp.*) E MARMELEIRO (*Cydonia oblonga Mill*)

Cláudia Simone Madruga Lima¹, Andrea De Rossi Rufato², José Carlos Fachinello³,
Suélen Braga Andrade⁴, Giulian Rubira Gautério⁵

RESUMO: O objetivo, neste trabalho, foi avaliar as características morfológicas das flores, produção e germinação *in vitro* de grãos de pólen de pereira e marmeleiro. Flores em estágio de pré-floração foram coletadas nos anos de 2009 e 2010, sendo realizadas avaliações de massa fresca e seca, comprimento do pistilo, produção de grãos de pólen por antera e germinação de grãos de pólen *in vitro* em quatro cultivares de cada espécie, por dois ciclos vegetativos. A maior massa seca, fresca e comprimento de pistilo foram obtidos no ano de 2009 nas pereiras cultivar (cv) Packhams Triumph e cv. William's, e nos genótipos de marmeleiro cv. Portugal, cv De Patras e cv Lageado A pereira cv Clapp's Favorite apresentou maior produção de pólen por antera e o menor percentual de grãos de pólen germinados nos dois anos de avaliação. A cv Portugal produziu a maior quantidade de pólen por antera em ambos anos de avaliação. Para as cultivares de marmeleiro não houve diferença no percentual de grãos de pólen germinados entre os anos de 2010 e 2009, exceto, para a cv Portugal. Conclui-se que, em anos com maior número de horas de frio abaixo de 7,2°C, as cultivares de pereira e marmeleiro apresentaram flores aptas ao uso para hibridações.

Palavras-chave: Floração. Qualidade do pólen. *Pyrus communis*. *Pyrus serotina*.

CHARACTERIZATION OF THE FLORAL ASPECTS OF PEA (*Pyrus sp.*) AND QUINCE GENOTYPES (*Cydonia oblonga Mill*)

ABSTRACT: The study aimed to evaluate the morphological characteristics of flowers, production and *in vitro* germination of pollen grains of pear and quince genotypes. Flowers on the pre-flowering stage were collected in the years 2009 and 2010, performing assessments of fresh and dry weight, length of the pistil, production of pollen grains per anther and *in vitro* pollen germination in four genotypes of pear and four genotypes of quince during two vegetative cycles. The pear 'Clapp's Favorite' showed higher pollen production per anther and the lowest percentage of pollen grains germinated within the two years of evaluation. The cultivar 'Portugal' produced the greatest amount of pollen per anthers in both years. For quince cultivars there was no difference in the percentage of pollen grains germinated between the years 2010 and 2009, except for genotype 'Portugal'. It was concluded that in years with the highest number of chilling hours below 7.2°C, the genotypes of pear and quince presents flowers able to use for hybridizations.

Keywords: Flowering. Pollen quality. *Pyrus communi*. *Pyrus serotina*.

¹Professora Doutora, Universidade Federal da Fronteira Sul, Campus Laranjeiras do Sul, Laranjeiras do Sul/Pr, claudia.lima@uffs.edu.br
²Doutora, Pesquisadora, Embrapa Uva e Vinho, Estação Experimental de Fruticultura de Clima Temperado, Vacaria/RS, derossiandrea@yahoo.com.br
³Professor Doutor, Universidade Federal de Pelotas, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Departamento de Fitotecnia, Pelotas/RS, jfachi@ufpel.tche.br
⁴Mestra Instituto Federal Farroupilha, Alegrete/RS, suelenb.andrade@gmail.com
⁵Eng. Agrícola, Universidade Federal do Pampa, Alegrete/RS, giuliangauterio@unipampa.edu.br

INTRODUÇÃO

O marmeleiro (*Cydonia oblonga Mill.*), assim como as pereiras (*Pyrus sp.*), pertence à família das Rosáceas, subfamília *Pomoideae* e se caracteriza por apresentar flores com a mesma quantidade de sépalas, pétalas, estilete e pistilos, sendo no total de cinco por estrutura, e aproximadamente vinte estames. Seus frutos podem ser utilizados tanto na forma *in natura* como industrializados e as plantas podem ser usadas como porta-enxertos (DICKINSON e TALENT, 2007).

Frutíferas de clima temperado, como o marmeleiro e a pereira, necessitam de ter a sua dormência superada para que ocorram a brotação e o florescimento uniformes (RUFATO et al., 2011). A dormência pode exigir maior ou menor quantidade de unidades de frio, sendo que a temperatura pode interferir na formação das flores antes mesmo de iniciar o período de vernalização. O desenvolvimento da flor é lento até aproximadamente a metade do inverno, podendo ser acelerado quando o período de frio hibernal cessa (FAORO e ORTH, 2011a).

Nas rosáceas, as gemas floríferas se diferenciam antes do inverno, porém permanecem em repouso durante esta estação. Ao final do repouso e desenvolvimento das gemas, os verticilos florais são formados e ocorre a meiose do grão de pólen, caracterizando assim o final do desenvolvimento floral (ZHANG e HIRATSUKA, 2005). Posteriormente às etapas de desenvolvimento da flor, é necessário que o processo de polinização tanto natural como controlado seja eficiente para que ocorra a frutificação. Esse processo é dependente de fatores relacionados à cultura, como, por exemplo, estrutura e morfologia florais, horário de liberação do pólen, viabilidade e longevidade do pólen, período de receptividade do estigma, entre outros aspectos (SHARAFI, 2011a).

No Brasil, existem poucas regiões com quantidade de frio hibernal suficiente para o cultivo de pereiras (FAORO e ORTH, 2011 b), enquanto que, para o marmeleiro, embora não existam informações sobre sua exigência em frio, acredita-se que adapte-se a diferentes condições de clima e apresente baixa necessidade de frio hibernal (PIO et al., 2008). Desta maneira, torna-se necessário o conhecimento da morfologia floral destas plantas em regiões com menor quantidade de frio.

O conhecimento da estrutura floral das culturas agrônomicas, como, por exemplo, a morfologia de flores, estrutura polínica, quantidade, qualidade e viabilidade do pólen produzido, é uma base importante para o desenvolvimento de técnicas de melhoramento genético (PEREIRA et al., 2009, SOARES et al., 2011).

O progresso alcançado no melhoramento genético de plantas cultivadas se deve aos conhecimentos aprofundados sobre a biologia floral (COIMBRA et al., 2004), os quais possibilitam o direcionamento na tomada de decisões e a identificação de genótipos mais propícios para o cruzamento de espécies de interesse

(FAORO e ORTH, 2011a). De acordo com Rufato et al. (2011), o uso de flores em estágio de pré-floração é uma técnica comum em polinizações controladas nos programas de melhoramento de espécies frutíferas. Por isso, o conhecimento das características das flores, nesse estágio, é condição preliminar indispensável para iniciar as hibridações dirigidas, podendo inviabilizar os cruzamentos.

Assim, o objetivo, neste trabalho, foi avaliar as características morfológicas das flores, produção e germinação *in vitro* de grãos de pólen de pereira e marmeleiro utilizados no programa de melhoramento genético de porta-enxertos para a cultura da pereira.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido nos anos de 2009 e 2010, no laboratório de melhoramento genético do departamento de fitotecnia da Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel da Universidade Federal de Pelotas (RS/Brasil), e nos laboratórios da Embrapa Uva e Vinho, Estação Experimental de Fruticultura de Clima Temperado em Vacaria (RS/Brasil).

Como material vegetal, foram utilizadas flores em estágio de pré-floração sendo três genótipos de *Pyrus communis*, pereiras europeias (cultivares: Packhams Triumph, Clapp's Favorite e William's ou Bartlett) que exigem de 600 a 700 horas de frio, oriundos de um pomar comercial localizado em Vacaria (RS); um genótipo de *Pyrus serotina*, pereiras asiáticas (cultivar: Século XX ou também denominada Nijisseiki) que necessita de 900 a 1000 horas de frio e quatro genótipos de *Cydonia oblonga Mill.* (cultivares: De Patras, Lageado, Meliforme e Portugal) os quais não apresentam horas de frio referenciadas, pertencentes ao Centro Agropecuário da Palma (CAP) Pelotas (RS).

A região de Pelotas (RS) apresenta variações bruscas de temperatura no inverno, com precipitação média anual de 1.367mm, temperaturas mínima e máxima anual de -3°C e 39,6°C, respectivamente, e temperatura média anual de 17,8°C. O acúmulo médio de temperaturas inferiores ou iguais a 7,2°C é de 550 horas frio (H.F.). No ano de 2009, ocorreu acúmulo de 670 H.F. e em 2010, 450 H.F. O município de Vacaria, por sua vez, apresenta clima temperado úmido com temperatura média anual de 15,5°C, temperaturas mínimas e máximas de -4°C e 34°C, respectivamente. A precipitação média anual é de 1412 mm com cerca de 809 H.F. (VERISSIMO et al., 2004). O acúmulo de horas de frio abaixo ou iguais a 7,2°C em 2009 foi de 770 H.F. e em 2010 de 620 H.F. (FIOVARANÇO et al., 2010).

No município de Vacaria (RS), nos anos de 2009 e 2010, as temperaturas máximas foram de aproximadamente 21,16 °C e 22,30 °C, respectivamente. Já as temperaturas mínimas ficaram na faixa de 9,0 °C e 10,1°C em média para os dois anos de estudo. Os valores de temperatura média verificados no ano de 2009 foram de 14,75 °C e no ano 2010 de 16,00 °C (FIOVARANÇO et al., 2010). Em Pelotas (RS), as temperaturas máximas foram na faixa de 23,25 °C, em 2009,

e 25,00 °C, em 2010. Quanto às temperaturas mínimas foram em média de 11,30 °C e 12,66 °C, nos anos de 2009 e 2010, respectivamente. A temperatura média ficou em torno de 17,58 °C, em 2009, e de 18,9 °C, em 2010 (ESTAÇÃO AGROCLIMATOLÓGICA DE PELOTAS, 2010).

As pereiras 'Packhams Triumph', 'Clapp's Favorite' e 'William's' estavam enxertadas sobre o marmeleiro cv. Adams, com espaçamento de 0,60 m x 3,50 m, equivalendo a densidade de plantio de 4.761 plantas. ha⁻¹. O genótipo de *Pyrus serotina* estava enxertado sob o porta-enxerto *P. calleryana* e os marmeleiros eram pés-francos, os quais apresentavam densidade de plantio de 1666 plantas. ha⁻¹, com espaçamento de 4 m entre linhas e 1,5 m entre plantas. Todos os genótipos utilizados neste experimento estavam conduzidos no sistema de líder central.

A coleta das flores em estágio de pré-floração foi realizada nos meses de agosto setembro em ambos locais aleatoriamente utilizando-se uma tesoura pequena; as flores foram armazenadas em sacos de papel, acondicionadas em caixas térmicas e levadas para o laboratório, para serem realizadas as avaliações.

Para caracterização morfológica das flores, foram realizadas as avaliações de massa fresca dos botões realizada com auxílio de uma balança digital, sendo os resultados expressos em gramas; comprimento do pistilo, com auxílio de uma régua milimetrada e expresso em cm; e massa seca das flores após secagem em estufa com circulação forçada de ar por 48 horas a 65°C, até a obtenção de massa constante em gramas (CASTRO et al., 2012).

A estimativa da produção de pólen foi realizada por meio da contagem do número de grãos de pólen produzidos, por antera, seguindo-se metodologia apresentada por Carvalho (1989). Inicialmente foram destacadas anteras de 50 flores por unidade experimental, para cada genótipo. Dentre elas, separou-se aleatoriamente 20 anteras, que foram posteriormente acondicionadas em frasco, os quais foram mantidos abertos sob temperatura ambiente ($\pm 15^\circ\text{C}$) para permitir a deiscência das anteras e secagem do pólen. Observada a completa deiscência das anteras, adicionou-se 1 mL de ácido láctico a 85% em cada frasco, formando uma suspensão com os grãos de pólen. Após, retirou-se uma gota (1 μL) da suspensão de cada frasco e aplicou-se na placa de Neubauer, cobrindo-se imediatamente com uma lamínula. A placa foi posteriormente levada a um microscópio óptico para contagem do número de grãos de pólen por antera (g.p.a).

Foram preparadas três placas para cada unidade experimental e, para cada lâmina, realizaram-se duas contagens, obtendo-se a respectiva média para cada tratamento. O número de grãos de pólen produzidos por antera foi obtido pela seguinte equação: $N = a \times 1.000 / 0,1 \times 1 / 50$, sendo, N = número de grãos de pólen por antera; a = número médio de grãos de pólen entre as contagens do mesmo tratamento; 1.000 = volume de ácido láctico em (mm^3); 0,1 = volume da câmara da placa de Neubauer (mm^3); 50 = número de

anteras na suspensão (CARVALHO, 1989).

Para a avaliação da viabilidade de grãos de pólen, utilizou-se o meio de cultura descrito por Medeiros (1979), o qual se constituiu de sacarose (100 g L⁻¹) e solidificação com ágar (10 g L⁻¹). Após o preparo, distribuiu-se o meio de cultura em lâminas de vidro, próprias para observação em microscópio óptico, adaptadas com dois anéis de PVC, de diâmetro interno de 14 mm, fixados para evitar o escoamento do material. Com a utilização de um conta-gotas, foram colocadas quatro gotas de meio de cultura, em cada anel. Em seguida, alocou-se as lâminas em placas de Petri, contendo duas folhas de papel absorvente umedecido no fundo, simulando uma câmara úmida. Posteriormente, distribuiu-se as lâminas em incubadora tipo BOD com tempo de incubação de duas horas para a germinação dos grãos de pólen. A avaliação da porcentagem de grãos de pólen germinados realizou-se por meio da observação em microscópio óptico binocular (ampliação até 100x). Foram considerados germinados, os grãos de pólen que apresentavam o comprimento do tubo polínico igual ou superior ao diâmetro do próprio grão de pólen. A contagem dos campos de visão do microscópio realizou-se de acordo com a necessidade, até que se atingisse a soma de 100 grãos de pólen, entre germinados e não germinados.

O delineamento experimental foi em esquema bifatorial sendo um dos fatores o material utilizado (pereiras ou marmeleiros) e outro, anos de avaliação (2009 e 2010). Sendo realizadas três repetições por combinação. Para os aspectos morfológicos, cada repetição constitui-se por 50 flores em estágio de pré-floração. Para estimativa e viabilidade de grãos de pólen, a representação foi feita por meio de três lâminas de avaliação. Utilizou-se o programa estatístico Winstat (MACHADO e CONCEIÇÃO, 2007) e comparação de médias pelo teste de Tukey a 5% de probabilidade de erro. Para análise de variância os dados expressos em porcentagem, foram transformados em $\arcsen\sqrt{x/100}$.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Para massa fresca das flores dos genótipos de pereira, observa-se que as cv. Packhams Triumph e William's apresentaram a mesma massa, no ano de 2009, não diferindo estatisticamente. Estes genótipos agregaram menor massa no ano de 2010 comparativamente a 2009. Contudo, entre os genótipos de pereira avaliados as cultivares Packhams Triumph e William's foram as que apresentaram maior massa tanto fresca como seca para os dois anos avaliados.

Em 2009, cv. Clapps Favorite foi a cultivar de pereira que apresentou menor massa fresca, já em 2010, a cv. Século XX foi o menor resultado de massa obtido. Para todos os genótipos analisados, a massa fresca das flores foi significativamente superior em 2009 (Tabela 01).

Tabela 1 • Massa fresca, massa seca e comprimento do pistilo de flores em estágio de prefloração, de genótipos de pereira e marmeleiro nos anos de 2009 e 2010.

Cultivar	Massa fresca das flores (g)		Massa seca das flores (g)		Comprimento do pistilo (cm)	
	2009	2010	2009	2010	2009	2010
Século XX *	1,71 Ba	1,16 Cb	0,40 Ba	0,20 Cb	1,10Aa	0,90 ABb
Packhams Triumph**	2,33 Aa	2,11 Ab	0,49 Aa	0,37 Ab	1,40Aa	1,19 Ab
Clapp's Favorite**	1,67 Ca	1,53 Bb	0,35Ca	0,29 Bb	1,16Aa	1,03 ABb
William's**	2,33 Aa	2,11 Ab	0,49 Aa	0,37 Ab	1,39 Aa	0,70 Bb
C.V. (%)	0,55		4,45		1,85	
De Patras*	5,20Aa	4,98Bb	0,98Ba	0,85Bb	1,40Aa	0,95Bb
Lageado*	5,35Aa	4,88Bb	1,08Aa	0,90Ab	1,30Aa	1,10Ab
Meliforme*	4,10Ba	3,90 Cb	0,75Ba	0,56Cb	1,60Aa	1,20Ab
Portugal*	5,50 Aa	5,15Aa	1,05Aa	0,90Ab	1,25Aa	1,10Ab
C.V. (%)	0,87		2,18		1,77	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância.

*Local de coleta: Pelotas, horas de frio (H.F.) ano de 2009: 670 e no ano de 2010: 450 H.F.

**Local de coleta: Vacaria, ano de 2009: 770 H.F. no ano de 2010: 620 H.F.

Castro et al. (2012), ao avaliarem as flores de pereiras das cultivares Clapp's Favorite, Packhams Triumph e William's em São Francisco de Paula (RS), também verificaram que a cultivar Clapp's Favorite apresentou maior massa fresca (2,58 g) no ano de 2009, com redução no ano de 2010 (1,83 g). No caso da cv. Packhams Triumph, observaram redução da massa fresca de 2009 para 2010, corroborando os resultados aqui apresentados. Para a cv. William's, os autores verificaram o inverso, flores com maior massa somente no de 2010.

Os cultivares de marmeleiro também apresentaram maior massa fresca no ano de 2009, sendo que apenas para 'Portugal' não se observou diferença significativa na massa fresca entre os anos avaliados. Em 2009, as cultivares De Patras, Lageado e Portugal não diferiram estatisticamente. A cv. Meliforme apresentou menor massa fresca das flores nos dois anos de estudo. A maior diferença numérica na massa fresca foi verificada na cv. Lageado que, em 2009, continha 5,35 g e em 2010, 4,88 g (Tabela 01). Conforme Pio et al. (2004), dentre as frutíferas de clima temperado, o marmeleiro é o que possui menor exigência em frio hibernal. Acredita-se que há cultivares que exigem aproximadamente 100 horas e outras que exigem em torno de 450 horas de frio abaixo ou iguais a 7,2°C. Entretanto, observa-se, neste trabalho, que, apesar da baixa necessidade de frio hibernal dos genótipos de marmeleiro, no ano com maior acúmulo de horas de frio (2009) houve favorecimento da formação de flores com maior massa fresca.

Em todos os genótipos avaliados, a massa seca das flores foi significativamente maior em 2009 do que em 2010, similar ao encontrado para massa fresca. Em ambos os anos, as cultivares de pereira Packhams Triumph e William's apresentaram maior massa seca das flores, sem diferirem significativamente entre elas. No ano de 2010, entre os genótipos de pereira avaliados, a cv. Século XX apresentou flores com massa seca inferior aos demais genótipos, no valor de 0,20 g. No caso dos genótipos de marmeleiro, valores superiores de massa seca foram obtidos com as cultivares Lageado

e Portugal, para os dois anos de avaliação.

Apesar da diferença estatística entre os genótipos para massa fresca e seca das flores, os valores obtidos não são discrepantes entre os anos. Teoricamente as exigências em frio teriam sido satisfeitas para os genótipos de marmeleiro e as cultivares de pereira Clapp's Favorite, Packhams Triumph e William's nos dois anos de avaliação. Contudo, no ano em que ocorreu maior acúmulo de horas de frio, abaixo ou igual a 7,2°C, os genótipos apresentaram maior massa. Os resultados obtidos para o ano de 2010 podem ser uma resposta da planta às altas temperaturas durante o verão e o outono, ou às frequentes oscilações de temperatura durante o período de dormência, fato comum nas regiões de Pelotas e Vacaria (VERISSIMO et al., 2004).

De acordo com Carvalho e Zanette (2004), havendo menor quantidade e qualidade de frio (constância das temperaturas durante o inverno), a taxa respiratória no inverno mantém-se elevada e a planta consome grande parte das substâncias de reserva (amido) sem aumentar os sólidos solúveis nas gemas, resultando em menor quantidade de reserva para as gemas se desenvolverem e brotarem normalmente. Assim, nestas condições, a planta não entra em dormência profunda (endodormência) e continua seu desenvolvimento morfológico, gerando maior desgaste fisiológico, o qual a planta não está preparada, pois em seu processo evolutivo não sofreu seleção genética para se adequar às condições climáticas mais quentes.

Acredita-se que esse efeito tenha ocorrido na cultivar de pereira Século XX utilizada neste estudo, pois este material necessita de aproximadamente 1000 H.F. e em nenhum dos anos de estudo ocorreu a quantidade necessária de horas de frio para satisfazer suas necessidades. Para os demais genótipos de pereira e marmeleiro avaliados, conjectura-se que, após atender suas exigências de frio, ocorreria o adequado acúmulo de reservas, sendo este mais pronunciado nos anos com maior número de horas de frio, o que culminaria em botões florais com maior massa.

Pistilos com maior comprimento foram registrados para as cultivares Packhams Triumph e William's no ano de 2009, porém não diferiram estatisticamente entre elas. Apesar de não diferir significativamente dos demais genótipos, a pereira cv. Século XX apresentou menor comprimento do pistilo no primeiro ano de avaliação. Na comparação entre os anos avaliados, observa-se que, para todos os genótipos, o comprimento do pistilo foi maior em 2009 do que em 2010, sendo que, neste último ano, a cv. William's apresentou pistilos de menor dimensão. Valores inferiores aos obtidos neste trabalho foram verificados por Castro et al., (2012), que obtiveram pistilos de pereiras cv. Clapp's Favorite, Packhams Triumph e William's com comprimento variando de 0,89 a 1,23 cm em 2009 e de 0,88 a 1,04 cm em 2010.

Os resultados obtidos para comprimento de pistilo são superiores aos descritos por Faoro (2009), em que pereiras cv. Nijisseiki (Século XX), nas condições edafoclimáticas de Caçador e São Joaquim (SC), nos anos de 2006 e 2007, as flores produziram pistilos com valores médios de comprimento de 0,70 cm em 2006 e de 0,86 cm em 2007, nas duas regiões de estudo.

Os genótipos de marmeleiro apresentaram pistilos com comprimentos na faixa de 1,25 a 1,60 cm, no ano de 2009. Neste mesmo ano, foram verificados pistilos com tamanho significativamente maior que em 2010. No segundo ano de avaliação, a cv. De Patras apresentou pistilos com o menor comprimento, com valor de 0,95 cm, sendo que as demais cultivares não diferiram estatisticamente entre si, em 2010 (Tabela 01). Segundo Sharafi (2011b), alterações no comprimento do pistilo pode ser um mecanismo de sobrevivência natural, já que, quando a espécie é submetida às condições de estresse edafoclimático, necessita de maior dispêndio de nutrientes e fotoassimilados e, por isso, podem enfraquecer o sistema fisiológico das reservas da planta, para as safras posteriores. Além disso, nestas condições, com alterações nas flores de marmeleiro, como pistilos menores, favoreceriam a perpetuação da espécie, por meio da autopolinização, já que desta forma poderiam receber grãos de pólen de mais estames e ainda encurtaria o caminho do tubo polínico até

o óvulo (NAGY-DÉRI et al., 2009)

De acordo com Sharafi (2011b), a má formação de flores e pistilos de menor comprimento podem ser originados ainda no outono e estão relacionados com a fase de diferenciação floral. Conforme Verissimo et al. (2002), a condição climática, principalmente, as elevadas temperaturas no outono seguidas de abrupta redução podem causar alterações nas flores. Aparentemente, o frio exerce função importante na ocorrência de anomalias, mesmo que não seja o principal fator causal, contudo, o frio pode ter ação indireta, isto porque sua ocorrência afeta o metabolismo da planta (RODRIGUES et al., 2006).

Segundo Verissimo et al. (2004), o importante para formação de flores e suas estruturas em plantas de clima temperado cultivadas em clima subtropical, no que tange ao frio não são as temperaturas extremamente baixas, mas sim a regularidade com que estas ocorrem. Flutuações de temperatura fazem com que seja necessário maior número de horas de frio para satisfazer as exigências da planta (BIASI et al., 2010). Em geral, as gemas floríferas de pereiras são mais exigentes em frio do que as vegetativas (RODRIGUES et al., 2006).

Anteras com maior produção de grãos de pólen foram obtidas no ano de 2009, sendo a cv. Clapp's Favorite a maior produtora. Neste ano de avaliação, as menores estimativas de número de grãos de pólen por antera foram encontradas com os genótipos 'Século XX' e 'William's', que não diferiram estatisticamente entre si, mas diferiram das demais cultivares (Tabela 02). Na comparação entre as cultivares de pereira no ano de 2010, observa-se que a cv. Packhams Triumph produziu 3250 grãos de pólen por antera, significativamente superior aos demais. A cultivar de pereira asiática Século XX apresentou a maior diferença de produção entre os anos, sendo 2308 g.p.a em 2009 e 1500 g.p.a. em 2010. Tais resultados são diferentes dos obtidos por Faoro (2009) que constatou produção de aproximadamente 3000 grãos de pólen por antera na cv. Século XX. Já Castro et al. (2012), verificaram uma estimativa em torno de 5000 g.p.a. para cv. Clapp's Favorite, 2600 g.p.a. para Packhams Triumph e de 4500 g.p.a para William's.

Tabela 2 • Estimativa da produção e germinação in vitro de grãos de pólen de genótipos de pereira e marmeleiro nos anos 2009 e 2010.

Cultivar	Grãos de pólen por antera		Germinação in vitro (%)	
	2009	2010	2009	2010
Século XX *	2.308Ca	1.500Db	39,74Ca	38,20Ca
Packhams Triumph**	3.800Ba	3.250Ab	43,20Ba	43,00Ba
Clapp's Favorite**	4.000Aa	3.000Bb	21,90Da	19,00Db
William's**	2.500Ca	2.000Cb	52,82Aa	50,90Ab
C.V. (%)	1,44		1,21	
De Patras*	4.476Ca	3.800Cb	41,26Ca	41,19Ca
Lageado*	4.867Ba	4.320Ab	49,09Ba	48,45Ba
Meliforme*	4.008Ca	3.710Bb	39,34Da	39,00Da
Portugal*	5.098Aa	4.930Ab	61,33Aa	59,30Ab
C.V. (%)	1,30		0,64	

Médias seguidas da mesma letra minúscula na linha e maiúscula na coluna não diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de significância

*Local de coleta: Pelotas, Horas de Frio (H.F.) ano de 2009: 670 e no ano de 2010: 450 H.F.

**Local de coleta: Vacaria, ano de 2009: 770 H.F. no ano de 2010: 620 H.F.

Para os genótipos de marmeleiro, as condições climáticas de 2009 também proporcionaram produção de pólen superior ao verificado no ano de 2010. A cv. Portugal produziu a maior quantidade de pólen por antera nos dois anos de avaliação, sendo que, no ano de 2010, ocorreu um decréscimo na produção de pólen para esta cultivar. No segundo ano de avaliação, não houve diferença significativa entre as cv. Portugal e Lageado que produziram 4.930 e 4.320 grãos de pólen por antera, respectivamente (FIOVARANÇO et al., 2010). Estes resultados estão próximos aos relatados por Dalkiliç e Mestav (2011) que observaram que marmeleiros chegam a produzir de 4000 até 6000 grãos de pólen por antera, sendo esta quantidade modificada de acordo com a cultivar e as condições edafoclimáticas.

Segundo Nava et al. (2009), não existe nível que certifique que a alta produção de pólen viável assegure a adequada polinização das flores, uma vez que este evento depende também das condições ambientais e dos agentes polinizadores em torno do pomar. Teoricamente, a produção de apenas um grão de pólen viável por flor seria suficiente para promover a fecundação do óvulo primário e o desenvolvimento do fruto.

Quanto à percentagem de germinação de grãos de pólen *in vitro*, não foram verificadas diferenças estatísticas entre os anos de 2009 e 2010 para as cultivares de pereira Século XX e Packhams Triumph. Nos dois anos de estudo, as amostras de pólen com menor percentual de germinação foram obtidas com a pereira 'Clapp's Favorite'. Já o maior percentual de grãos de pólen germinados foi verificado com a cv. William's, 52,82%, no primeiro ano de avaliação. Apesar da utilização de meio de cultivo diferente do empregado neste trabalho, tais resultados são em parte semelhantes aos obtidos por Chagas et al. (2010), que obtiveram germinação de aproximadamente 50% para o porta-enxerto de pereira 'Taiwan Mamenashi' com a utilização de meio composto por 10g L⁻¹ de ágar e 90g L⁻¹ de sacarose.

Para as cultivares de marmeleiro não houve diferença no percentual de grãos de pólen germinados entre os anos de 2010 e 2009, exceto, para o genótipo 'Portugal' que no primeiro ano de avaliação apresentou 61,32% dos grãos de pólen germinados e, no segundo ano, de 59,30%. A menor germinação *in vitro* de grãos de pólen foi verificada com a cv. Meliforme, em ambos os anos de avaliação (Tabela 02). Tais resultados obtidos são contrários aos relatados por Dalkiliç e Mestav (2011), que relatam elevado percentual de germinação, com valores superiores a 50%. Contudo, esses autores afirmam que deveria ser realizada uma adaptação de protocolo de germinação *in vitro*, de acordo com a cultivar a ser pesquisada.

Sharafi (2011 b) investigou a viabilidade do pólen de diferentes genótipos de macieiras, pereiras e marmeleiros cultivados no Irã e verificou taxas de germinação a partir de 28% para as pereiras e 37 a 65 % para os marmeleiros. De acordo com Chagas et al. (2010), vários compostos orgânicos e inorgânicos interferem na germinação *in vitro*, entre eles o ágar, a sacarose, o cálcio e o boro. Contudo, existem outros fatores, como

o pH do meio de cultura, a temperatura e tempo de germinação, que influenciam significativamente na germinação dos grãos de pólen.

Existem ainda outros fatores que podem afetar a germinação do pólen, como falha no desenvolvimento do pólen que é considerada uma falha primária de viabilidade, devido a irregularidades durante a microrogênese. Neste caso, o baixo percentual de grãos de pólen não germinados poderia ser resultado de gametas não reduzidos (DICKINSON e TALENT, 2007) ou resultados de distúrbios na segregação cromossômica, por exemplo. De acordo com Kelly et al. (2002), inúmeras causas não genéticas podem causar a inviabilidade incluindo idade do pólen e fatores físicos como temperatura e umidade. De acordo com Nava et al. (2009), altas temperaturas na pré-floração têm grande influência na quantidade e qualidade de pólen produzido, podendo, dependendo da intensidade, causar esterilidade dos grãos.

CONCLUSÃO

As cultivares de pereira europeia apresentaram maior acúmulo de massa seca, fresca e produção de grãos de pólen por antera que a cultivar de pereira asiática, em anos com menor número de horas de frio.

O maior acúmulo de horas de frio proporcionou maior massa seca e fresca das flores e pistilos com maior comprimento para as cultivares de pereira e marmeleiro.

A diferença no acúmulo de horas de frio, entre os anos de avaliação, não afetou o percentual de grãos de pólen viáveis.

REFERÊNCIAS

- BIASI, L. A.; CARVALHO, R. I. N.; ZANETTE, F. Dinâmica da dormência de gemas de videira e quivezeiro em região de baixa ocorrência de frio. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.32, n.4, p. 1244-1249, 2010. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452010005000118>>.
- CARVALHO, R.I.; ZANETTE, F. Conteúdo de carboidratos em gemas e ramos de macieira durante o outono e inverno em regiões de baixa ocorrência de frio. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.26, n.2, p.202-205, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452004000200005>>.
- CARVALHO, T.C.P. *Comportamento de algumas cultivares de Ameixeira Japonesa (Prunus salicina) quanto à polinização no Rio Grande do Sul*. Pelotas: UFPel, 1989. 73f. Dissertação (Mestrado) - Programa de Pós-Graduação em Agronomia, Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 1989.

- CASTRO, B.; MARODIN, G.A.B.; SCHIFINO-WITTMANN, M.T.; JUNIOR, A.T.; FERREIRA, P.H.G. Floração, polinização e indução a partenocarpia em pereiras. In: REUNIÃO TÉCNICA DA CULTURA DA PEREIRA, 4., 2012. Lages, SC. *Anais...* Lages: CAV, UDESC, 2012, p.66 – 87.
- CHAGAS, E.A.; PIO, R.; CHAGAS, P.; PASQUAL, M.; NETO, J.E.B. Composição do meio de cultura e condições ambientais para germinação de grãos de pólen de porta-enxertos de pereira. *Ciência Rural*, v.40, n.2, p.261-266, 2010. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/cr/v40n2/a485cr2215.pdf>>.
- COIMBRA, J. L. M.; CARVALHO, F. I. F. de; OLIVEIRA, A. C. de; GUIDOLIN, A. F. Criação de variabilidade genética no caráter estatura de Planta em aveia: hibridação artificial x mutação induzida. *Revista Brasileira Agrociência*, v.10, n.3, p.273-280, 2004. Disponível em: <<https://periodicos.ufpel.edu.br/ojs2/index.php/CAST/article/view/957>>.
- DALKILIÇ, Z.; MESTAV, H. O. In vitro pollen quantity, viability and germination tests in quince. *African Journal of Biotechnology*, v. 10, n.73, p. 16516-16520, 2011. Disponível em: <<http://www.ajol.info/index.php/ajb/article/download/97687/86996>>.
- DICKINSON, T. A., E.; TALENT, N.. Polyploidy, reproductive biology, and Rosaceae: understanding evolution and making classifications. *Plant Systematics and Evolution*, v.266, n.1, p. 59-78, 2007. Disponível em: <<http://link.springer.com/article/10.1007%2Fs00606-007-0541-2>>.
- ESTAÇÃO AGROCLIMATOLÓGICA DE PELOTAS. *Normais Climatológicas*. Disponível em: <<http://www.cpact.embrapa.br/agromet/estacao/mensal.html>> Acesso em: 23 dez. 2010.
- FAORO, I.D. *Biologia reprodutiva da pereira japonesa (Pyrus pyrifolia var. culta) sob o efeito do genótipo e do ambiente*. 2009. 219f. Tese (Doutorado em Ciências) - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.
- FAORO, I.D.; ORTH, A.I. Parthenocarp in Japanese pear tree cultivars in South Brazil. *Acta Horticulturae*, n. 909 p.415-422, 2011 a.
- FAORO, I.D.; ORTH, A.I. Nectar production and quality in Japanese pear cultivars in South Brasil. *Acta Horticulturae*, n. 909 p.409-414, 2011 b.
- FIOVARANÇO, J.C.; CZERMAINSK, A.B.C.; ALVES, S.A.M. NACHTIGALL, G.R. *Condições meteorológicas e sua influência na safra de maçã 2009/10 na Região de Vacaria, RS*. Bento Gonçalves: EMBRAPA Uva e Vinho, 2010, 9p
- KELLY, J. K.; RASCH, A.A.; KALISZ, S. A method to estimate pollen viability from pollen size variation. *American Journal of Botany*, v. 89, n.6, p.1021-1023, 2002.
- MACHADO, A.A.; CONCEIÇÃO, A.R. *WinStat: sistema de análise estatística para Windows*. Versão 2.0. Pelotas: UFPel, 2007.
- 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.
- NAGY-DÉRI, H.; OROSZ-KOVÁCS, Z.; FARKAS, A. Flower biology and fertility relations of some local Hungarian Quince (*Cydonia oblonga* Mill.) cultivars. *The Journal of Plant Reproductive Biology*, v.1.n.1, p.17-25, 2009.
- NAVA, G.A.; DALMAGO, G.A.; BERGAMASCHI, H.; PANIZ, R.; SANTOS, R.P.D.; MARODIN, G.A.B.; Effect of high temperatures in the pre-blooming and blooming periods on ovule formation, pollen grains and yield of 'Granada' peach. *Scientia Horticulturae*, v.122, p.37-44, 2009. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423809001514>>.
- PEREIRA, D. DE A.; BRASILEIRO, B. P.; AMARAL, C. L. F. Termos da biologia da polinização aplicados a fruticultura. *Revista Biotemas*, v.22, n. 1, p.141-145, 2009. Disponível em: <<https://periodicos.ufsc.br/index.php/biotemas/article/view/2175-7925.2009v22n1p141>>.
- PIO, L.A.S.; RAMOS, J. D.; PASQUAL, M.; JUNQUEIRA, K. P.; SANTOS, F. C.; RUFINI, J.C.M. Viabilidade do pólen de laranjas doces em diferentes condições de armazenamento. *Ciência e Agrotecnologia*, v.31, n.1, p.147-153, 2007. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S1413-70542007000100022>>.
- PIO, R.; ARAÚJO, J.P.C.; SCARPARE FILHO, J.A.; MOURÃO FILHO, F.A.A.; ALVARENGA, A.A.; ABRAHÃO, E. Potencial de propagação de cultivares de marmeleiro por estaquia. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.26, n.2, p.287-289, 2004. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452004000200026>>.
- 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*, v.30, n.2, p.466-470, 2008. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452008000200034>>.

RODRIGUES, A. C.; HERTER, F. G.; VERÍSSIMO, V.; CAMPOS, A. D.; LEITE, G. B.; SILVA, J. B. Balanço de carboidratos em gemas florais de dois genótipos de pereira sob condição de inverno ameno. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v.28, p.1-4, 2006. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0100-29452006000100003>>.

RUFATO, A.R.; OLIVEIRA, P.R.D. de; RITSCHER, P.S.; LIMA, C.S.M.; GONÇALVES, M.A. Manual cross-pollination, fruit set and development in pear. *Acta Horticulturae*, n. 918, p.749-751, 2011.

SHARAFI, Y. In vitro pollen germination in stone fruit tree of Rosaceae family. *African Journal of Agricultural Research*, v. 6, n.28, p. 6021-6026, 2011 a. https://www.researchgate.net/publication/274125682_In_vitro_pollen_germination_in_stone_fruit_tree_of_Rosaceae_family

SHARAFI, Y. Investigation on pollen viability and longevity in *Malus pumila* L. *Pyrus communis* L. *Cydonia oblonga* L. in vitro. *African Journal of Medicinal Plants Research*, n.5, p: 2232-2236, 2011 b. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Yavar_Sharafi/publication/228835493_Investigation_on_pollen_viability_and_longevity_in_Malus_pumila_L._Pyrus_commonis_L._and_Cydonia_oblonga_L._in_vitro/links/5453fe820cf26d5090a55555.pdf>.

SOARES, T. L.; SOUZA, E. H. DE; ROSSI, M. L.; SOUZA, F. V. D. Morfologia e viabilidade de grãos de pólen de acessos silvestres de abacaxi. *Ciência Rural*, v.41, n.10, p. 1744-1749, 2011. Disponível em: <<http://dx.doi.org/10.1590/S0103-84782011001000011>>.

VERÍSSIMO, V.; GARDIN, J. P.; TREVISAN, R.; SILVA, J. B.; HERTER, F. G. Morphological and physical parameters of flower buds of trees of two Japanese pear cultivars grown at three different areas of southern Brazil, and their relationship with flower bud abortion intensity. *Acta Horticulturae*, n.587, p.381-387, 2002.

VERÍSSIMO, V.; HERTER, F. G.; RODRIGUES, A. C.; GARDIN, J. P.; SILVA, J. B. Caracterização de gemas florais de pereira (*Pyrus sp.*) relacionada ao abortamento floral. *Revista Brasileira de Fruticultura*, v. 26, n. 2, p. 193-197, 2004. Disponível em: <<http://www.scielo.br/pdf/rbf/v26n2/21804.pdf>>.

ZHANG, S.L.; HIRATSUKA, S. Analyses of pollen-tube growth and biological action of S-RNase in the style of self-compatible Japanese pear. *Scientia Horticulturae*, n. 104, p. 169-178, 2005. Disponível em: <<http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0304423804001967>>.