

# Viabilidade polínica e quantificação de grãos de pólen em espécies de fisális<sup>1</sup>

## Pollen viability and quantification of pollen grains in species of *Physalis*

Daniel Fernandes da Silva<sup>2</sup>, Rafael Pio<sup>2\*</sup>, Paulyene Vieira Nogueira<sup>2</sup>, Pedro Augusto de Oliveira Silva<sup>2</sup> e Alana Lauer Figueiredo<sup>2</sup>

**RESUMO** - O objetivo do trabalho foi elaborar um meio de cultura para avaliação da viabilidade polínica e determinar o número de grãos de pólen por antera e por flor de espécies de fisális. O trabalho foi desenvolvido de forma sequencial, onde grãos de pólen de *Physalis* (*P. angulata*, *P. ixocarpa*, *P. minima*, *P. peruviana* e *P. pubescens*) foram submetidos à germinação em meio de cultura desenvolvido em quatro fases: verificação da concentração de ágar e pH, concentração de sacarose, nitrato de cálcio e ácido bórico. Para a contagem de grãos de pólen, cinco anteras foram coletadas entre cinco espécimes representativos de cada espécie, deixadas em repouso para ocorrência da deiscência e posteriormente adicionado ácido láctico, para melhoria da visualização do grão de pólen. Após 48 horas o número de grãos de pólen foi quantificado com auxílio de câmara de Neubauer e o número de grãos de pólen por antera determinado por fórmula pré-estabelecida. Observou-se que todas as espécies possuem comportamento semelhante quanto às suas exigências para germinação do grão de pólen, sendo o pH do meio em torno de 5,4 e a concentração de ágar de 8 g L<sup>-1</sup>; todas as espécies mostram dependência de cálcio e boro para uma melhor viabilidade polínica, destacando-se *P. minima* em que a adição de boro não propiciou elevação acentuada na porcentagem de germinação. Quanto ao número de grãos de pólen as espécies podem ser divididas em dois grupos, com *P. angulata*, *P. peruviana* e *P. pubescens* com maior número de grãos de pólen por antera e por flor em relação a *P. ixocarpa* e *P. minima*.

**Palavras-chave:** *Physalis* sp.. Meio de cultura. Novos cultivos. Viabilidade de pólen.

**ABSTRACT** - The aim of this study was to develop a culture medium for the evaluation of pollen viability and to determine the number of pollen grains per anther and per flower in species of *Physalis*. The study was developed sequentially, where pollen grains of *Physalis* (*P. angulata*, *P. ixocarpa*, *P. minima*, *P. peruviana* and *P. pubescens*) underwent germination in a culture medium developed over four phases: checking the concentration of agar and the pH, and the concentrations of sucrose, calcium nitrate and boric acid. For the pollen count, five anthers were collected from five representative specimens of each species, allowed to settle for dehiscence to take place, with lactic acid then being added to improve visualisation of the pollen grains. After 48 hours, the number of pollen grains was quantified with the help of a Neubauer chamber, and the number of pollen grains per anther determined by pre-established formula. All species were seen to have similar behaviour in their requirements for pollen grain germination, the pH of the medium being around 5.4 and the agar concentration 8 g L<sup>-1</sup>. All species display a dependence on calcium and boron for better pollen viability, especially *P. minima*, where the addition of boron did not provide any sharp increase in the germination percentage. As for the number of pollen grains, the species can be divided into two groups, with *P. angulata*, *P. peruviana* and *P. pubescens* having the highest number of pollen grains per anther and per flower compared to *P. ixocarpa* and *P. minima*.

**Key words:** *Physalis* sp.. Culture medium. New crops. Pollen viability.

DOI: 10.5935/1806-6690.20170042

\*Autor para correspondência

Recebido para publicação em 17/09/2015; aprovado em 04/07/2016

<sup>1</sup>Trabalho concebido e desenvolvido com recursos dos autores

<sup>2</sup>Departamento de Agricultura, Universidade Federal de Lavras, Rua Aquenta Sol, Lavras-MG, Brasil, 37.200-000, daniel\_eafi@yahoo.com.br, rafaelpio@hotmail.com, paulyene@gmail.com, pdrosilva13@yahoo.com.br, alanalauer@hotmail.com

## INTRODUÇÃO

O gênero *Physalis* pertence à família *Solanaceae* e possui cerca de 100 espécies, dentre as quais, algumas de interesse agrônomo, facilmente reconhecidas pelo cálice concrecido, que envolve e protege o fruto contra herbivoria e intempéries (SILVA *et al.*, 2013; SILVA; STRASSBURG; VILLA, 2015). A maioria das espécies de *Physalis* possui caracteres herbáceos e encontra-se distribuído por diversos continentes do mundo, principalmente nas regiões tropicais e subtropicais, ocorrendo oito espécies de forma nativa no Brasil (DAMU *et al.*, 2007; JBRJ, 2016; MOURA *et al.*, 2016).

Em relação à biologia floral as espécies apresentam grande variação em tamanho e coloração principalmente, podendo ser amarelas, esverdejadas ou esbranquiçadas, apresentando máculas ou não, estando estas relacionadas à biologia das abelhas, seu principal polinizador (MARTÍNEZ, 1998).

Devido ao seu caráter anual, há uma demanda contínua de mudas para renovação das áreas de cultivo de fisális, sendo, portanto, a obtenção de mudas de alta qualidade uma importante fase para a implantação e sucesso na produção de *Physalis* (SILVA *et al.*, 2016a). Tais mudas são essencialmente obtidas por meio de sementes, em função do maior vigor das plantas em relação às obtidas de forma assexuada, o que fortalece a necessidade de uma boa taxa de polinização e formação de sementes nos frutos (MUNIZ *et al.*, 2014).

Além disso, a propagação sexuada permite o aprimoramento de programas de melhoramento genético, tendo em vista, seu cultivo ainda incipiente, baseado em genótipos selecionados em diferentes países que se adaptam a condições ambientais específicas (ecótipos), não havendo muitas cultivares comerciais (FISCHER; ALMANZA-MERCHÁN; MIRANDA, 2014).

Buscando dar suporte a estes programas de melhoramento genético, o conhecimento das características florais no germoplasma disponível, tais como a viabilidade e a capacidade germinativa do pólen, é de grande importância para a seleção dos progenitores a serem utilizados nas hibridações (CHAGAS *et al.*, 2010).

Uma das formas mais práticas e viáveis de se verificar a fertilidade de grãos de pólen é a germinação dos mesmos *in vitro* (NOGUEIRA *et al.*, 2015). Para isto, deve-se elaborar um meio de cultura composto por elementos orgânicos e inorgânicos, que reproduzam da forma mais similar possível, as condições oferecidas pela estrutura feminina da flor ao receberem o grão de pólen, sendo desta forma diferente para cada espécie.

Apesar das variações interespecíficas, alguns elementos são conhecidos por sua interferência positiva

na germinação do grão de pólen de forma geral, entre eles destacando-se o cálcio e o boro (CHAGAS *et al.*, 2010). Figueiredo *et al.* (2013) relataram que o ácido bórico é fundamental na germinação de grãos de pólen de amoreira-preta. Nogueira *et al.* (2015) verificaram que a adição de 1.200 mg L<sup>-1</sup> de ácido bórico promoveu o incremento de 15% na germinação de grãos de pólen de nespereira, em relação a sua ausência no meio de cultura.

Para solanáceas, o único trabalho relatado usando este método de avaliação, aponta uma germinação de até 88% dos grãos de pólen de *Solanum macranthum* Dunal com a adição de 100 mg L<sup>-1</sup> de ácido bórico ao meio de cultura (MONDAL; GHANTA, 2012). Esta escassez de trabalhos a respeito da importância de cálcio e boro para a germinação de grãos de pólen de solanáceas salienta a realização deste estudo, levando em consideração que a grande maioria das solanáceas comerciais, inclusive o fisális, é propagada por sementes.

A quantidade de pólen por flor pode variar entre espécies, mesmo em espécies pertencentes a um mesmo gênero e ainda entre genótipos da mesma espécie como constatado por Nogueira *et al.* (2015) e Figueiredo *et al.* (2013) em cultivares comerciais de nespereira (*Eriobotrya japonica* (Thunb.) Lindl.) e amoreira-preta (*Rubus* sp.). Contudo, estudos relatando variação significativa do número de pólenes a nível de antera na mesma flor ou ainda entre flores de um mesmo espécime não são relatados na literatura.

Acredita-se que as espécies que possuam maior quantidade de pólen em suas flores necessitem de menor número de botões florais para serem utilizados nas hibridações, em trabalhos de melhoramento genético, todavia algumas espécies podem apresentar um grande número de grãos de pólen inviáveis, servindo apenas como atrativo alimentar para polinizadores (ARAÚJO *et al.*, 2009).

No presente trabalho objetivou-se ajustar os componentes básicos do meio de cultura para verificar a viabilidade polínica entre espécies do gênero *Physalis* e quantificar o número de grãos de pólen por antera e por flor, visando a utilização do mesmo em futuros programas de melhoramento genético.

## MATERIAL E MÉTODOS

Plantas de cinco espécies de fisális (*Physalis angulata* L., *Physalis ixocarpa* Brot., *Physalis minima* L., *Physalis peruviana* L. e *Physalis pubescens* L.) foram obtidas a partir de sementes adquiridas em diferentes centros de pesquisa. As mudas foram cultivadas sob telado e levadas a campo quando atingiram uma altura

média de quinze centímetros, aproximadamente, aos 50 dias após a semeadura. Ao iniciarem a plena floração, dez botões florais de cinco espécimes de cada espécie foram coletadas a cada fase da determinação do meio de cultura, visando a otimização da germinação dos grãos de pólen de cada espécie de fisális, por meio do estabelecimento de um meio de cultura que atendessem as necessidades de cada espécie.

Os botões florais, no momento inicial da antese, foram coletadas no início da manhã e deixados em placas de Petri destampadas à temperatura controlada (27 °C) por 12 horas, para que ocorresse a completa deiscência das anteras e liberação dos grãos de pólen, seguindo as recomendações de Zambon *et al.* (2014).

Após a coleta dos grãos de pólen, foram realizadas as seguintes etapas do experimento para cada uma das espécies: 1) Concentrações de ágar (4; 6; 8 e 10 g L<sup>-1</sup>) e pH do meio (4; 5; 6 e 7); 2) Concentrações de sacarose (0; 25; 50; 75; 100; 125; 150; 175 e 200 g L<sup>-1</sup>); 3) Concentrações de nitrato de cálcio - Ca(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> (0; 200; 400 e 800 mg L<sup>-1</sup>); 4) Concentrações de ácido bórico - H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub> (0; 400; 800 e 1200 mg L<sup>-1</sup>).

A determinação do meio de cultura foi realizada de maneira sequencial (etapas 1 a 4), sempre utilizando o melhor resultado do experimento anterior para a montagem dos tratamentos subsequentes, seguindo as recomendações de Figueiredo *et al.* (2013). Para cada teste, o pólen foi distribuído com auxílio de um pincel, sobre a superfície das placas de Petri, que continham 20 mL de meio de cultura, de modo a promover uma distribuição homogênea.

Passados dez horas de incubação em câmara tipo B.O.D com temperatura controlada de 27 °C, em condição de luz, os grãos de pólen foram contados com auxílio de microscópio monocular em aumento de 100x, sendo contado o total de grãos de pólen observado por campo de visão e o total de grãos de pólen germinado, observado no mesmo campo de visão, para que fosse possível estabelecer uma porcentagem de germinação.

Os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições, sendo cada placa uma repetição e cada repetição constituída pela média de seis campos de visão e sendo considerados campos que apresentavam no mínimo 50 grãos de pólen, para maior confiabilidade dos dados. Foram considerados germinados os grãos de pólen cujo comprimento do tubo polínico foi maior que o diâmetro inicial do pólen.

Para o experimento de contagem do número de grãos de pólen por antera e por flor foram coletados dez botões florais no estágio pré-antese de cinco espécimes pertencentes a cada espécie, sendo contado o número

de anteras em cada um dos botões florais coletados e determinado por teste de média o número médio de anteras de cada espécie. Em seguida separaram-se de forma aleatória três repetições compostas de cinco anteras e cada conjunto de anteras, então, armazenado em tubos Eppendorf destampados à temperatura controlada (27 °C) por 24 horas, para ocorrência da deiscência e consequente liberação dos grãos de pólen (ZAMBON *et al.*, 2014).

Decorridas as 24 horas foram acrescentados aos tubos 1.000 µl de ácido láctico, visando a eliminação do conteúdo celular e a facilitação da visualização da parte externa do grão de pólen, o qual permaneceu em repouso por 48 horas, sendo agitado duas vezes ao dia. Após este período, uma alíquota de 10 µl de cada Eppendorf foi colocada em câmara de Neubauer para a realização da contagem do número de grãos de pólen, com auxílio de microscópio óptico (aumento de 100x). Esse experimento foi conduzido com quatro repetições, sendo cada repetição constituída por oito leituras na câmara 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 esse 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.

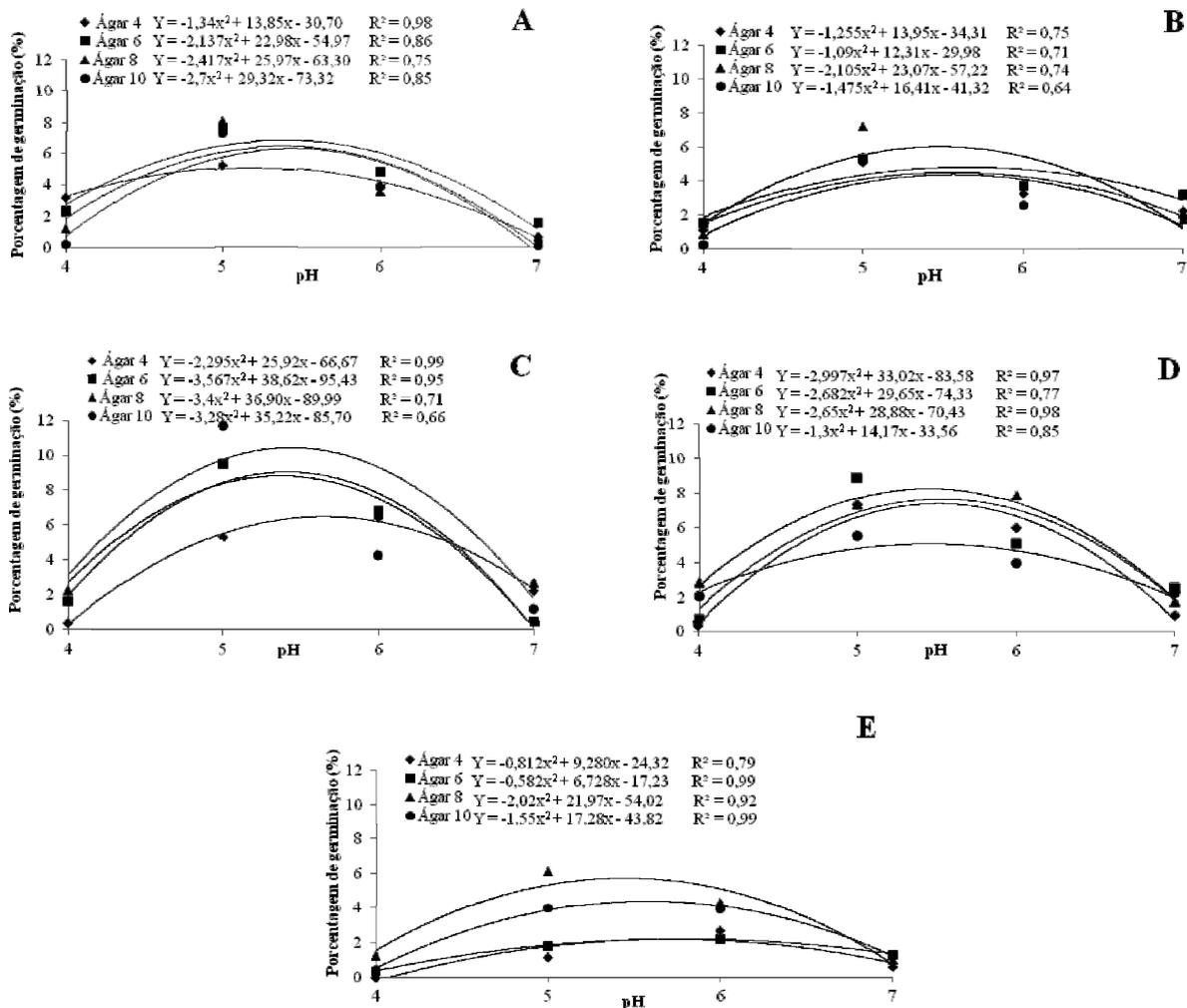
Os dados obtidos foram submetidos à análise de variância sendo as médias quantitativas submetidas à regressão linear ou quadrática, ao nível de 5% de probabilidade, e as médias qualitativas avaliadas pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott. As análises foram realizadas pelo Programa Computacional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

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Na primeira etapa da determinação do meio de cultura ideal para a germinação do grão de pólen das espécies de fisális, após o desdobramento da equação de segundo grau observou-se que a concentração de 8 g L<sup>-1</sup> de ágar e o pH aferido em torno de 5,4 maximizou a germinação dos grãos de pólen das espécies. Segundo a equação, foram obtidos 6% de germinação para *Physalis angulata* L. (Figura 1A), 6% para *Physalis ixocarpa* Brot. (Figura 1B), 10% para *Physalis minima* L. (Figura 1C), 8% para *Physalis peruviana* L. (Figura 1D) e 6% para *Physalis pubescens* L. (Figura 1E).

Um fator importante para o meio de cultura é que o pH seja aferido adequadamente, pois influencia

**Figura 1** - Interação entre concentrações de ágar e pH no meio de cultura para germinação de grãos de pólen de *Physalis angulata* L. (A), *Physalis ixocarpa* Brot. (B), *Physalis minima* L. (C), *Physalis peruviana* L. (D) e *Physalis pubescens* L. (E)



diretamente na solidificação do meio (ZAMBON *et al.*, 2014). 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. Figueiredo *et al.* (2013) e Chagas *et al.* (2009), conseguiram bons resultados de grãos de pólen de amoreira-preta (*Rubus ssp.*) e de pessegueiro (*Prunus persica*), respectivamente, em meio de cultura acrescido com 8 g L<sup>-1</sup> de ágar. A menor porcentagem de germinação obtida com 10 g L<sup>-1</sup> de ágar, pode ser explicada pelo fato desta concentração de ágar ter tornado o meio de cultura demasiadamente consistente, dificultando a absorção de água pelos grãos de pólen.

Quanto à adição de sacarose ao meio de cultura, houve aumento expressivo na germinação dos grãos de pólen de todas as espécies em estudo. O desdobramento da equação de segundo grau demonstrou que a adição de 139,6 g L<sup>-1</sup> de sacarose ao meio de cultura aumentou

a germinação dos grãos de pólen de *Physalis angulata* L. para 7% (Figura 2A), com 154,01 g L<sup>-1</sup> a germinação de *Physalis ixocarpa* Brot. cresceu para 20% (Figura 2B), e, ainda, com 127,83 g L<sup>-1</sup> para *Physalis minima* L.; 140 g L<sup>-1</sup> para *Physalis peruviana* L. e 177,53 g L<sup>-1</sup> para *Physalis pubescens* L. aumentou a germinação para 8; 7 e 2%, respectivamente (Figuras 2C, 2D e 2E), em relação a ausência de sacarose ao meio de cultura.

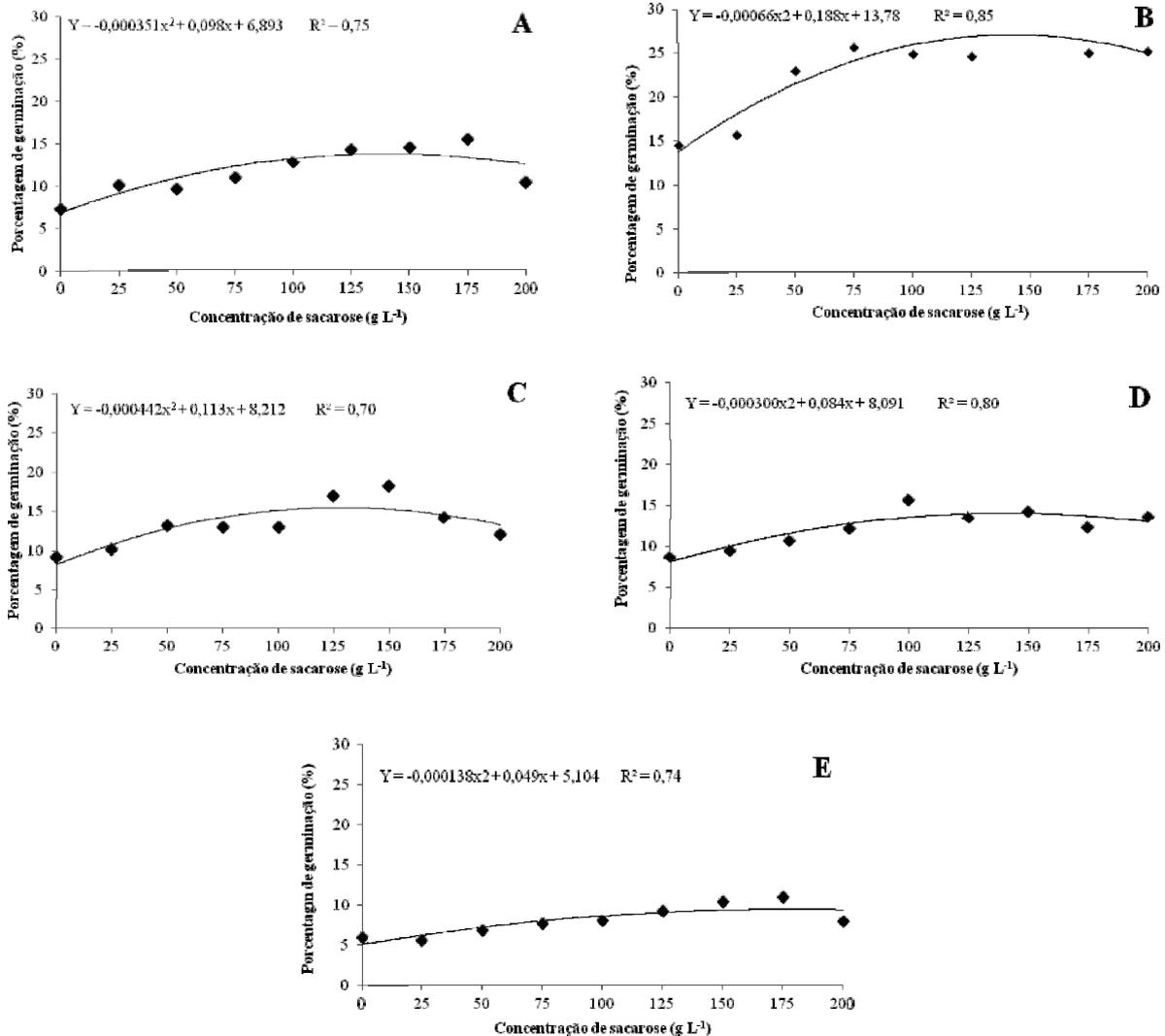
A sacarose tem como finalidade o fornecimento de energia nos processos biossintéticos envolvidos no crescimento, diferenciação e morfogênese celular. Aumento linear na porcentagem de germinação dos grãos de pólen à medida que se elevou a concentração de sacarose foi constatado por Chagas *et al.* (2010), em trabalhos realizados com porta-enxertos de pereira (*Pyrus sp.*) e de Figueiredo *et al.* (2013), com amoreira-preta. Em comparação a literatura, percebe-se que há

necessidade de sacarose para otimizar a germinação dos grãos de pólen das espécies de fisális; no entanto, a quantidade necessária de sacarose ao meio não é a mesma das espécies da família *Rosaceae* citadas acima.

Dentre as espécies de fisális estudadas verificou-se que a concentração ideal de sacarose para promoção de um melhor percentual de germinação variou entre 127,83 e 177,53 g L<sup>-1</sup> de sacarose (*P. minima* e *P. pubescens*, respectivamente), ao passo que entre as rosáceas acima citadas a exigência de sacarose adicionada ao meio de cultura foi menor, ou seja, 90 g L<sup>-1</sup> para amoreira preta e nove cultivares de pereira (FIGUEIREDO *et al.*, 2013; NOGUEIRA *et al.*, 2016), além de 90 e 47,78 g L<sup>-1</sup> para dois porta-enxertos de pereira (CHAGAS *et al.*, 2010).

Tal diferença está relacionada a características intrínsecas mais semelhantes entre indivíduos taxonomicamente mais próximos (neste caso mesma família), em que a reserva nutricional contida no grão de pólen de cada espécie, necessita de uma quantidade diversificada de sacarose, atuando como fonte de energia para favorecer o desenvolvimento do tubo polínico sem levar ao rompimento do grão de pólen quando adicionada em concentrações excessivas ou demasiadamente baixas por meio do desequilíbrio osmótico entre o grão de pólen e o meio. Outro fator envolvendo a diferença na exigência de sacarose, que pode estar atrelado a uma maior exigência da mesma, por grãos de pólen de fisális, em relação a espécies de rosáceas é a morfologia do grão de pólen, em especial o número de aberturas do grão de pólen, em que um maior

**Figura 2** - Concentrações de sacarose no meio de cultura para germinação de grãos de pólen de *Physalis angulata* L. (A), *Physalis ixocarpa* Brot. (B), *Physalis minima* L. (C), *Physalis peruviana* L. (D) e *Physalis pubescens* L. (E)



número de aberturas ou maior área de abertura pode permitir uma maior e mais veloz interação entre o meio de cultura e o grão de pólen favorecendo, assim, a germinação (COLINVAUX; OLIVEIRA; PATIÑO, 1999).

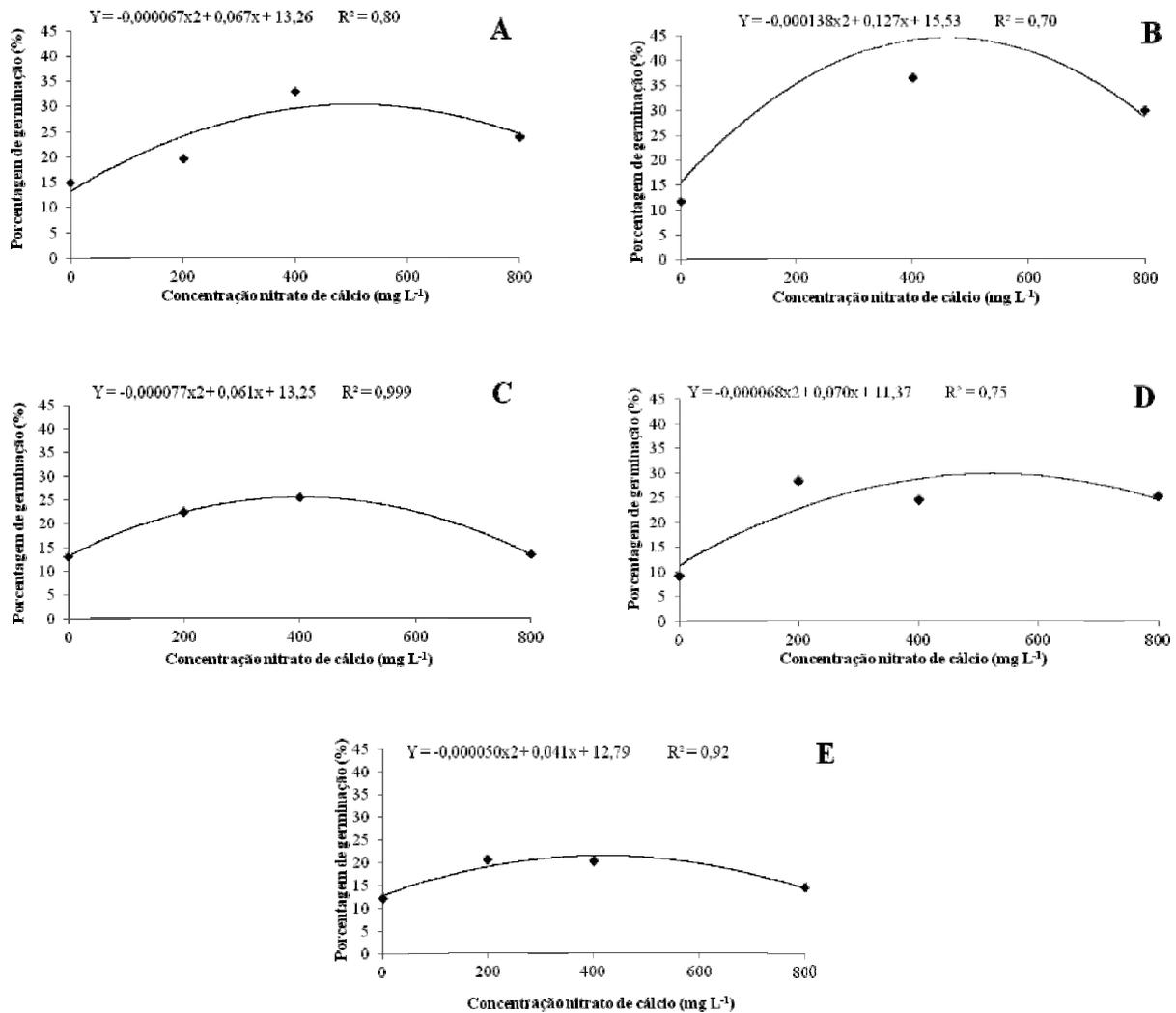
A adição de nitrato de cálcio ao meio de cultura favoreceu o aumento da germinação dos grãos de pólen, sendo obtidos 30% de germinação com a adição de 500 mg de nitrato de cálcio para a espécie *Physalis angulata* L. (Figura 3A), 45% de germinação com 460,14 mg para *Physalis ixocarpa* Brot. (Figura 3B), 25% com 396,10 mg para *Physalis minima* L. (Figura 3C), 29% com 514,70 mg para *Physalis peruviana* L. (Figura 3D) e 21% com 410 mg para *Physalis pubescens* L. (Figura 3E).

Esses resultados discordam dos encontrados na literatura para outras espécies pertencentes à família das

*Rosaceas*, onde a adição de nitrato de cálcio desfavoreceu a germinação dos grãos de pólen de marmeleiro (*Cydonia oblonga* Mill.) (ZAMBON *et al.*, 2014), amoreira-preta (FIGUEIREDO *et al.*, 2013), pereira (CHAGAS *et al.*, 2010) e pessegueiro (CHAGAS *et al.*, 2009). A presença de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$  aumentou para até 16% a germinação dos grãos de pólen da espécie *Physalis angulata*, 22% na espécie *Physalis ixocarpa* Brot., 10% na espécie *Physalis minima* L., 15% para *Physalis peruviana* L. e 12% em *Physalis pubescens* L.

O incremento da germinação de grãos de pólen com a adição de cálcio ao meio de cultura parece estar ligado a uma tolerância a este elemento por cada espécie ou táxon, de forma semelhante ao ocorrido em relação à concentração de sacarose. Tal observação foi outrora verificada por Ramos *et al.* (2008) ao afirmarem que a

**Figura 3** - Concentrações de nitrato de cálcio no meio de cultura para germinação de grãos de pólen de *Physalis angulata* L. (A), *Physalis ixocarpa* Brot. (B), *Physalis minima* L. (C), *Physalis peruviana* L. (D) e *Physalis pubescens* L. (E)

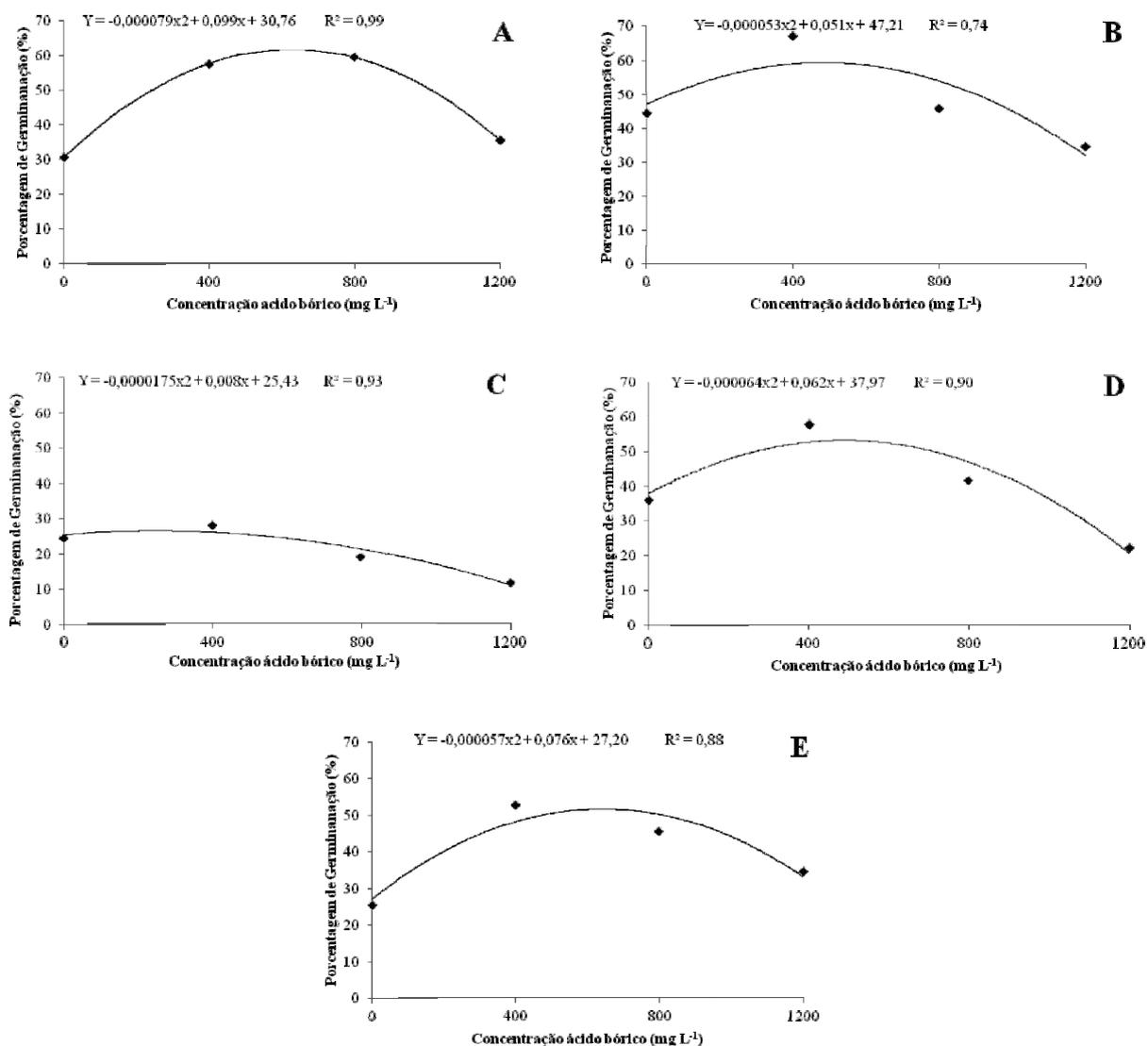


necessidade de adição de cálcio e boro no meio de cultura para a germinação de grãos de pólen depende, entre outros fatores, da espécie e da variedade.

Tal afirmação é sustentada pelo incremento da germinação de grãos de pólen de cinco diferentes espécies de fisális observadas nesse trabalho, juntamente com três variedades cítricas (*Citrus sinensis* L. Osbeck) sendo elas laranjas doces das variedades Valência, Natal e Pêra observadas por Ramos *et al.* (2008), contrariamente a observações realizadas para espécie de rosáceas onde a adição de cálcio ao meio de cultura desfavoreceu a germinação dos mesmos (FIGUEIREDO *et al.*, 2013; ZAMBON *et al.*, 2014).

A adição de ácido bórico ao meio de cultura também aumentou significativamente a germinação dos grãos de pólen de fisális em estudo, mas os incrementos obtidos variaram entre as espécies. Na espécie *Physalis angulata* L., a adição de 626,58 mg de ácido bórico promoveu o incremento de 32% de germinação dos grãos de pólen (Figura 4A); para a espécie *Physalis ixocarpa* Brot., o incremento obtido foi de 12% com a adição de 481,13 mg de ácido bórico (Figura 4B); porém, para a espécie *Physalis minima* L., a adição de 228,57 mg promoveu aumento de apenas 1% em relação a não adição de ácido bórico ao meio de cultura (Figura 4C), o que não justifica o uso desse nutriente para essa espécie; por outro lado, a adição de 484,37 mg e

**Figura 4** - Concentração de ácido bórico no meio de cultura para germinação de grãos de pólen de *Physalis angulata* L. (A), *Physalis ixocarpa* Brot. (B), *Physalis minima* L. (C), *Physalis peruviana* L. (D) e *Physalis pubescens* L. (E)



**Tabela 1** - Número de anteras por flor e número de grãos de pólen por antera e por flor em diferentes espécies do gênero *Physalis*. UFLA, Lavras, 2015

Espécies	Número de anteras por flor	Número de grãos de pólen por antera	Número de grãos de pólen por flor
<i>Physalis angulata</i>	5,0 a <sup>(1)</sup>	2.260,00 a <sup>(1)</sup>	11.300,00 a <sup>(1)</sup>
<i>Physalis ixocarpa</i>	5,0 a	1.311,66 b	6.558,33 b
<i>Physalis minima</i>	4,7 a	770,00 b	3.850,00 b
<i>Physalis peruviana</i>	5,0 a	1.926,66 a	9.633,33 a
<i>Physalis pubescens</i>	5,0 a	1.780,00 a	8.900,00 a
C.V. (%)	5,23	28,23	28,23

<sup>(1)</sup>Médias seguidas pela mesma letra não diferem entre si pelo teste de agrupamento de médias Scott-Knott ( $P \leq 0,05$ )

666,66 mg de ácido bórico ao meio aumentou em 23 e 31% a germinação dos grãos de pólen para as espécies *Physalis peruviana* L. (Figura 4D) e *Physalis pubescens* L., respectivamente (Figura 4E).

Esses resultados concordam com Nogueira *et al.* (2015), ao verificarem que a adição de ácido bórico ao meio de cultura, aumentou a germinação dos grãos de pólen da nespereira. O boro na presença de sacarose forma o complexo ionizável sacarose-borato, o qual interage mais rapidamente com as membranas celulares, facilitando o desenvolvimento *in vitro*. A adição de boro também foi benéfica na germinação dos grãos de pólen de pereira (CHAGAS *et al.*, 2010) e amoreira-preta (FIGUEIREDO *et al.*, 2013). Os resultados encontrados pelos autores acima demonstram que apenas na presença do boro a germinação de grãos de pólen dessas espécies foi satisfatória. De acordo com Franzon e Raseira (2006) o boro estimula o crescimento do tubo polínico e diminui a probabilidade do pólen se romper.

Com os resultados obtidos frente à adição de nitrato de cálcio e ácido bórico ao meio de cultura, é possível que pulverizações a campo dirigidas aos botões florais do fisális possam incrementar a germinação dos grãos de pólen e, conseqüentemente, o número de sementes nos frutos, propiciando um maior rendimento na produção de mudas, visto que a propagação sexuada é a principal forma adotada para espécies do gênero *Physalis* (SILVA *et al.*, 2016b). Nogueira *et al.* (2015) registraram acréscimo de 24% em relação a não pulverização nos botões florais com ácido bórico na germinação dos grãos de pólen de nespereira. Segundo Nava *et al.* (2009) a aplicação de boro no período de floração aumentou a fixação e produção dos frutos de pessegueiro.

Essa seria uma estratégia fundamental em se pensando no sistema de produção de mudas de fisális, que ocorre via sexuada, e em hibridações a campo em trabalhos de melhoramento genético, visando-se obter maior número

de sementes, haja vista que, conforme consta na Tabela 1, há variação do número de grãos de pólen por antera e por flor entre as espécies de fisális.

*Physalis ixocarpa* Brot. e *Physalis minima* L. foram as duas espécies que apresentaram a menor quantidade de pólen nas anteras. Nesse caso, a eficiência na germinação dos grãos de pólen dessas duas espécies poderia ser conseguida com pulverizações a campo com fertilizantes à base de cálcio para ambas as espécies e enriquecidos com boro para a espécie *Physalis ixocarpa* Brot.

A variação na produção de pólen por planta está ligada a diversos fatores entre os quais a espécie, adaptação da espécie ao local, altitude, condições climáticas de cada ano, tamanho do grão de pólen, dentre outros (ALBUQUERQUE JUNIOR *et al.*, 2010; KHANDURI, 2011).

No presente estudo o menor número de grãos de pólen encontrado em *P. ixocarpa* e *P. minima* pode estar relacionado a origem dessas espécies, que justamente, são as únicas não encontradas de forma nativa na região em que o estudo foi desenvolvido (JBRJ, 2016); podendo, as condições climáticas locais não serem igualmente favoráveis a estas espécies, em relação as demais espécies nativas. Tal situação corrobora o desempenho inferior na produção de grãos de pólen de cultivares de macieira desenvolvida no Sul do Brasil em relação a cultivares importadas e cultivadas naquele local, verificado por Albuquerque Junior *et al.* (2010).

Diante da constatação de exigências diversificadas para a germinação do grão de pólen de cada espécie, diferenças no número de grãos de pólen por flor e na porcentagem de germinação, visando a aplicação dessas informações em programas de melhoramento genético de fisális, novos estudos a respeito da biologia floral, em especial a polinologia de espécies do gênero *Physalis* devem ser realizados.

## CONCLUSÃO

1. Existe variação na viabilidade polínica e no número de grãos de pólen por antera e por flor entre as espécies de fisálias;
2. A adição de nitrato de cálcio e ácido bórico ao meio de cultura favorece a germinação dos grãos de pólen de fisálias; todavia para a espécie *Physalis minima* L., os ganhos obtidos com a adição de ácido bórico ao meio de cultura são irrisórios;
3. Pulverizações a campo com fertilizantes a base de ácido bórico e nitrato de cálcio podem ser utilizadas a fim de se otimizar a germinação dos grãos de pólen de *Physalis* aumentando assim o número de sementes por fruto, o sucesso de programas de melhoramento genético e a produtividade destas espécies anuais.

## REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE JUNIOR, C. L. *et al.* Número de anteras por flor, grãos de pólen por antera e capacidade germinativa do pólen de diferentes cultivares de macieiras. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, n. 4, p. 1255-1260, 2010.
- ARAÚJO, J. L. O. *et al.* Síndromes de polinização ocorrentes em uma área de Mata Atlântica, Paraíba, Brasil. **Biotemas**, v. 22, n. 4, p. 83-94, 2009.
- CHAGAS, E. A. *et al.* 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. 231-266, 2010.
- CHAGAS, E. A. *et al.* Germinação in vitro de grãos de pólen de *Prunus persica* (L.) Batsch *vulgaris*. **Bioscience Journal**, v. 25, n. 5, p. 8-14, 2009.
- COLINVAUX, P.; OLIVEIRA P. E.; PATIÑO, J. E. M. **Amazon pollen manual and atlas**. Amsterdam: Hardwood Academic Publisher, 1999. 332 p.
- DAMU, A. G. *et al.* Isolation, structures, and structure-cytotoxic activity relationships of withanolides and physalins from *Physalis angulata*. **Journal of Natural Products**, v. 70, n. 7, p. 1146-1152, 2007.
- FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 35, n. 6, p. 1039-1042, 2011.
- FIGUEIREDO, M. A. *et al.* Características florais e carpométricas e germinação in vitro de grãos de pólen de cultivares de amoreira-preta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 48, n. 7, p. 731-740, 2013.
- FISCHER, G.; ALMANZA-MERCHÁN, P. J.; MIRANDA, D. Importancia y cultivo de la uchuva (*Physalis peruviana* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 1, p. 1-15, 2014.
- FRANZON, R. C.; RASEIRA, M. C. B. Germinação in vitro e armazenamento do pólen de *Eugenia involucrata* DC (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 1, p. 18-20, 2006.
- JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO. **Physalis in Flora do Brasil 2020 em construção**. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB14696>>. Acesso em: 16 abr. 2016.
- KHANDURI, V. P. Variation in Anthesis and Pollen Production in Plants. **American-Eurasian Journal of Agricultural & Environmental Sciences**, v. 11, n. 6, p. 834-839, 2011.
- MARTÍNEZ, M. Revision of *Physalis* section *epeteiorhiza*. **Anales del Instituto de Biología Universidad Nacional Autónoma de México, Série Botânica**, v. 69, n. 2, p. 71-117, 1998.
- MONDAL, S.; GHANTA, R. Effect of sucrose and boric acid on in vitro pollen germination of *Solanum macranthum* Dunal. **Indian Journal of Fundamental and Applied Life Sciences**, v. 2, n. 2, p. 202-206, 2012.
- MOURA, P. H. A. *et al.* Plastic covering, planting density, and pruning in the production of cape gooseberry (*Physalis peruviana* L.) in subtropical region. **Revista Caatinga**, v. 29, n. 2, p. 367-374, 2016.
- MUNIZ, J. *et al.* General aspects of physalis cultivation. **Ciência Rural**, v. 44, n. 6, p. 964-970, 2014.
- NAVA, G. A. *et al.* Fenologia e produção de pessegueiros 'granada' com aplicação de cianamida hidrogenada e boro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, n. 2, p. 297-304, 2009.
- NOGUEIRA, P. V. *et al.* Establishment of growth medium and quantification of pollen grains and germination of pear tree cultivars. **Revista Ciência Agronômica**, v. 47, n. 2, p. 380-386, 2016.
- NOGUEIRA, P. V. *et al.* Germinação de pólen e aplicação de ácido bórico em botões florais de nespereiras. **Bragantia**, v. 74, n. 1, p. 9-15, 2015.
- RAMOS, J. D. *et al.* Receptividade do estigma e ajuste de protocolo para germinação in vitro de grãos de pólen de citros. **Interciência**, v. 33, n. 1, p. 51-55, 2008.
- SILVA, D. F. *et al.* Conservação pós-colheita de fisálias e desempenho produtivo em condições edafoclimáticas de Minas Gerais. **Revista Ceres**, v. 60, n. 6, p. 826-832, 2013.
- SILVA, D. F. *et al.* The production of *Physalis* spp. seedlings grown under different-colored shade nets. **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 38, n. 2, p. 257-263, 2016a.
- SILVA, D. F. *et al.* Light spectrum on the quality of fruits of physalis species in subtropical area. **Bragantia**, v. 75, n. 3, p. 371-376, 2016.
- SILVA, D. F.; STRASSBURG, R. C.; VILLA, F. Morfoanatomia do caule de espécies do gênero *Physalis*. **Revista de Ciências Agroveterinárias**, v. 14, n. 1, p. 38-45, 2015.
- ZAMBON, C. R. *et al.* Estabelecimento de meio de cultura e quantificação da germinação de grãos de pólen de cultivares de marmeleiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 36, n. 2, p. 400-407, 2014.