ITEA (2000), Vol. **96V N.° 1,** 49-59

POLINIZACIÓN Y GERMINACIÓN, *IN VIVO,* DEL POLEN EN VARIEDADES DE MANZANO, PERAL, NECTARINA Y MELOCOTONERO

M.V. Andrés*, R. Martín, L. Perales**, J.M. Durán***

* Departamento de Producción Vegetal: Fitotecnia, Escuela Técnica Superior de Ingenieros Agrónomos, Universidad Politécnica de Madrid, 28040-Madrid, España

** Agrupación Española de Entidades Aseguradoras de los Seguros Agrarios Combinados, S.A. (AGROSEGURO), España

RESUMEN

La relación entre la polinización y la germinación del polen, estudiada mediante microscopía de fluorescencia, fue observada en las variedades de manzano 'Golden' y 'Royal Gala', en las de peral 'Conferencia' y 'Blanquilla', en melocotonero 'Amarillo Agosto' y en nectarina 'Fairlane'. En condiciones ambientales favorables, la cantidad de polen en el estigma y la germinación del polen de todas las variedades estudiadas fueron óptimas. La germinación del polen estuvo influida por la cantidad de polen que había sobre el estigma.

Palabras clave: Germinación, Manzano, Melocotonero, Nectarina, Peral, Polen, Polinización.

SUMMARY

POLLINATION AND POLLEN GERMINATION IN SOME CULTIVARS OF APPLE, PEAR, PEACH AND NECTARINE

The relationship between pollination and pollen germination was studied in six cultivars of apple tree ('Golden' and 'Royal Gala'), pear ('Conferencia' and 'Blanquilla'), peach ('Amarillo Agosto') and nectarine ('Fairlane'). The observations were determined by fluorescence microscopy. In all cultivars, when the ambiental conditions were favorables. In these conditions pollination and pollen germination were good and pollen germination was influenced by the amount of pollen on the stigma.

Key words: Apple, Germination, Nectarine, Pollen, Pollination, Peach, Pear.

Introducción

Según ROBBIE y ATKINSON (1994) uno de los factores limitantes de la producción en manzano es la polinización. Para IGLESIAS (1993) una polinización deficiente fue la causante de los bajos rendimientos de algunas plantaciones de manzano observadas en las principales zonas productoras de Cataluña en los últimos años.

Según GIULIVO y RAMINA (1974) una polinización deficiente también puede afectar

al poder germinativo del polen, ya que tanto la germinación como la velocidad de crecimiento del tubo polínico aumentan al aumentar la cantidad de granos de polen. Por otra parte la calidad del polen, estimada por medio de su poder germinativo, es un factor que afecta al cuajado de frutos (WILLIAMS y WILSON, 1970). BENEDIKOVÁ (1986) al estudiar la polinización en variedades e híbridos de albaricoquero observó que existía una correlación positiva entre la producción media y el porcentaje de germinación del polen.

La germinación del polen y el crecimiento del tubo polínico *in vivo* se pueden estudiar mediante microscopía, usando tinciones adecuadas, después de la polinización y fijación del tejido conductor del estilo, cuando se trata de especies con flores grandes, o con pistilos completos previamente aplastados o seccionados. La elección de la tinción depende de la especie considerada, pudiendo utilizar fluorocromos tales como azul de anilina, los cuales emiten fluorescencia bajo luz ultravioleta permitiendo diferenciar el recorrido del tubo polínico a traves del tejido del estilo (DE NETTANCOURT, 1976). Esta técnica que ya fue descrita por MARTÍN (1958) ha sido utilizada, sin apenas modificaciones, por numerosos autores.

Utilizando microscopía de fluorescencia MARTÍNEZ-TÉLLEZ y CROSSA-RAYNAUD (1982) estudiaron la fecundación de distintas especies del genero *Prunus* en función del desarrollo del tubo polínico. Con la misma técnica también se pudieron observar diferencias intervarietales del manzano, respecto al crecimiento del tubo polínico, después de la autopolinización (KRYLOVA, 1979) y la influencia de la temperatura en el desarrollo del tubo polínico en los pistilos de las flores de peral, detectándose el efecto negativo de las bajas temperaturas sobre el cuajado de frutos (VASILAKAKIS y PORLINGIS, 1985).

En peral y manzano, MARCUCCI y VISSER (1987), utilizando microscopía de fluorescencia determinaron las diferencias en la germinación y crecimiento del tubo polínico del polen compatible y autocompatible, así como en cruces interespecificos entre ambos. ARBELOA y HERRERO (1987) estudiaron el desarrollo y la velocidad de crecimiento del tubo polínico en melocotonero mediante esta técnica. En los últimos años, esta técnica ha sido utilizada con éxito en albaricoquero (RODRIGO y HERRERO, 1996; ANDRÉS y DURÁN, 1998).

Como ya se ha indicado al principio de este apartado, algunos autores han observado que la germinación del polen afecta al cuajado de frutos y que esta se ve afectada por la polinización. Deduciéndose que el conocimiento de estos parámetros es importante para estudiar el rendimiento de un cultivo. El objetivo de este trabajo fue comprobar si, en diferentes variedades de frutales de hueso y pepita cultivadas en distintas parcelas, la intensidad de la polinización y la germinación del polen están relacionadas.

Material y métodos

Como material vegetal se utilizaron variedades de manzano ('Golden' y 'Royal Gala') cultivadas en Binefar (Huesca), de peral ('Conferencia' y 'Blanquilla'), procedentes de Pueyo (Huesca). Tanto en las plantaciones de manzano como de peral había polinizadores, el polinizador utilizado para 'Golden' fue 'Royal Gala' y el utilizado para 'Royal Gala' 'Golden'. El polinizador utilizado tanto para 'Blanquilla' como para 'Conferencia' fue 'Barlett'. También se realizaron estudios en meloco-

tonero ('Amarillo Agosto') y nectarina ('Fairlane'), ambas variedades fueron cultivadas en dos parcelas de Alcarrás (Lérida).

La polinización y germinación del polen se estudió a partir de 10 árboles por variedad. De cada árbol se seleccionaron cuatro posiciones (N, S, E y W) y procedentes de las flores de cada combinación fueron recolectados 5 pistilos. El material se recogió en estado fenológico H de Fleckinger en peral y manzano y en estado fenológico G de Fleckinger en melocotonero y nectarina. Las muestras fijadas en FAA (5% de formaldehido al 40%, 5% de ácido acético glacial y 90% de etanol al 70%) se enviaron al laboratorio, en frascos de 60 ml.

Para estudiar la polinización y germinación del polen se utilizó la microscopía de fluorescencia. Según la técnica descrita por MARTÍN (1958), los pistilos se tiñeron con una gota de azul de anilina (0,1%) disuelto en K_3PO_4 0,1 N.

Para evaluar la cantidad de polen en el estigma y la germinación del mismo se contaron los granos de polen que había en cada estigma y el número de ellos que habían germinado. En el caso del peral y del manzano, la observación se realizó en todos los estigmas que componen el pistilo. La intensidad de asociación entre las dos variables se calculó mediante un análisis de regresión. Como prueba para determinar la significación se utilizó la *t* de Student, con n-2 grados de libertad, y el error típico del coeficiente de correlación. Para cuantificar la dependencia entre variables se utilizó el coeficiente de determinación R^2.

Resultados y discusión

La recta de regresión obtenida al relacionar la cantidad de polen en el estigma con la germinación del polen mostró, que tanto en la variedad 'Golden' como 'Royal Gala', (figura 1) existía una correlación lineal entre ambos parámetros. Los coeficientes de correlación muestran que esta correlación es positiva y muy significativa ($p < 0,01$).

Los coeficientes de determinación (R^2) nos indican que, en la variedad 'Golden', más del 70% de la variabilidad observada en la germinación del polen se puede explicar por la intensidad de polinización. En la variedad 'Royal Gala' este efecto, aunque significativo, no es tan acusado y, tanto el coeficiente de determinación es más bajo que en 'Golden'.

En peral, tanto para 'Blanquilla' como para 'Conferencia' (figura 2), la correlación entre la cantidad de polen sobre el estigma y la germinación del polen es positiva y muy significativa ($p < 0,01$). En los dos casos el coeficiente de determinación también fue inferior al de la variedad 'Golden'.

La situación en los dos frutales de hueso estudiados también fue similar a la descrita para manzano y peral. En la variedad de nectarina 'Fairlane' y de melocotonero 'Amarillo Agosto' (figura 3) la correlación entre cantidad de polen sobre el estigma y germinación del polen también fue positiva y muy significativa ($p < 0,01$). Sin embargo mientras que en la variedad 'Fairlane' mas del 90% de la variabilidad observada en la germinación se puede explicar por la intensidad de polinización, en 'Amarillo Agosto' únicamente se explica el 50%.

En todas las variedades estudiadas se observa que el número de granos de polen sobre el estigma es bastante bajo (inferior a 20 granos de polen,) o muy alto (superior a 100 granos de polen) (figuras 1-3). En estas figuras también se observa que cuando la polinización es muy buena también lo es la germinación del polen y que, cuando

la polinización es deficiente, la germinación es irregular; en este caso, si exceptuamos lo que ocurre con la variedad 'Fairlane', no existe correlación entre la cantidad de granos de polen sobre el estigma y la germinación del polen (figuras 4-6).

La relación encontrada entre la cantidad de granos de polen en el estigma y la germinación confirma el llamado "efecto masa" descrito por GIULIVO y RAMINA (1974), para referirse al aumento que sobre la germinación y crecimiento del tubo polínico produce la agregación de los granos de polen. ANDRÉS *et al.* (1999) comprobaron este efecto, *in vivo,* en las variedades de manzano 'Golden' y 'Royal Gala'. BARROSO *et al.* (1997) encontraron que, en la primera etapa del crecimiento del tubo polínico de la variedad de ciruela 'Claudia Verde', la cantidad de granos de polen sobre el estigma y la tasa de crecimiento del tubo polínico están relacionadas. Según WINSONR y STEPHENSON (1995) el crecimiento del tubo polínico in-vivo esta influenciado por factores como la densidad de siembra, la distribución espacial y temporal y las características estructurales y fisiológicas del pistilo y NIESENBAUM (1999) encontró que, en *Mirabilis jalapa,* la germinación del polen, la penetración estigmática y la proporción de crecimiento del tubo polínico se incrementaban con la cantidad de granos de polen sobre el estigma o de tubos polínicos en el estilo.

El número de pistilos en los que la cantidad de granos de polen sobre el estigma era muy alto (81% en 'Golden', 93% en 'Royal Gala', 83% en 'Blanquilla', 67% en 'Conferencia', 60% en Fairlane y 69% en Amarillo Agosto), fue superior al de pistilos que estaban deficientemente polinizados. Aunque no se registraron las temperaturas de las parcelas en las que se realizó este trabajo, si que hemos podido conocer que las temperaturas máximas, que se registraron en las estaciones meteorológicas próximas, llegaron a alcanzar valores superiores a los 15°C, lo que explicaría el buen comportamiento de estas variedades frente a la polinización.

Las conclusiones de este trabajo son:

a- Para las variedades de manzano ('Golden' y 'Royal Gala'), peral ('Conferencia' y 'Blanquilla'), melocotonero ('Amarillo Agosto') y nectarina ('Fairlane') cuando las condiciones ambientales son favorables no existen problemas para que la polinización y la germinación del polen sean óptimas.

b- Para las variedades anteriormente mencionadas, al aumentar el número de granos de polen sobre el estigma, el potencial germinativo del polen aumenta. Deduciendose que para asegurar una buena germinación es importante que exista un transporte abundante de polen.

Agradecimientos

A la Agrupación Española de Entidades Aseguradoras de los Seguros Agrarios Combinados (AGROSEGURO, SA) que financió este trabajo.

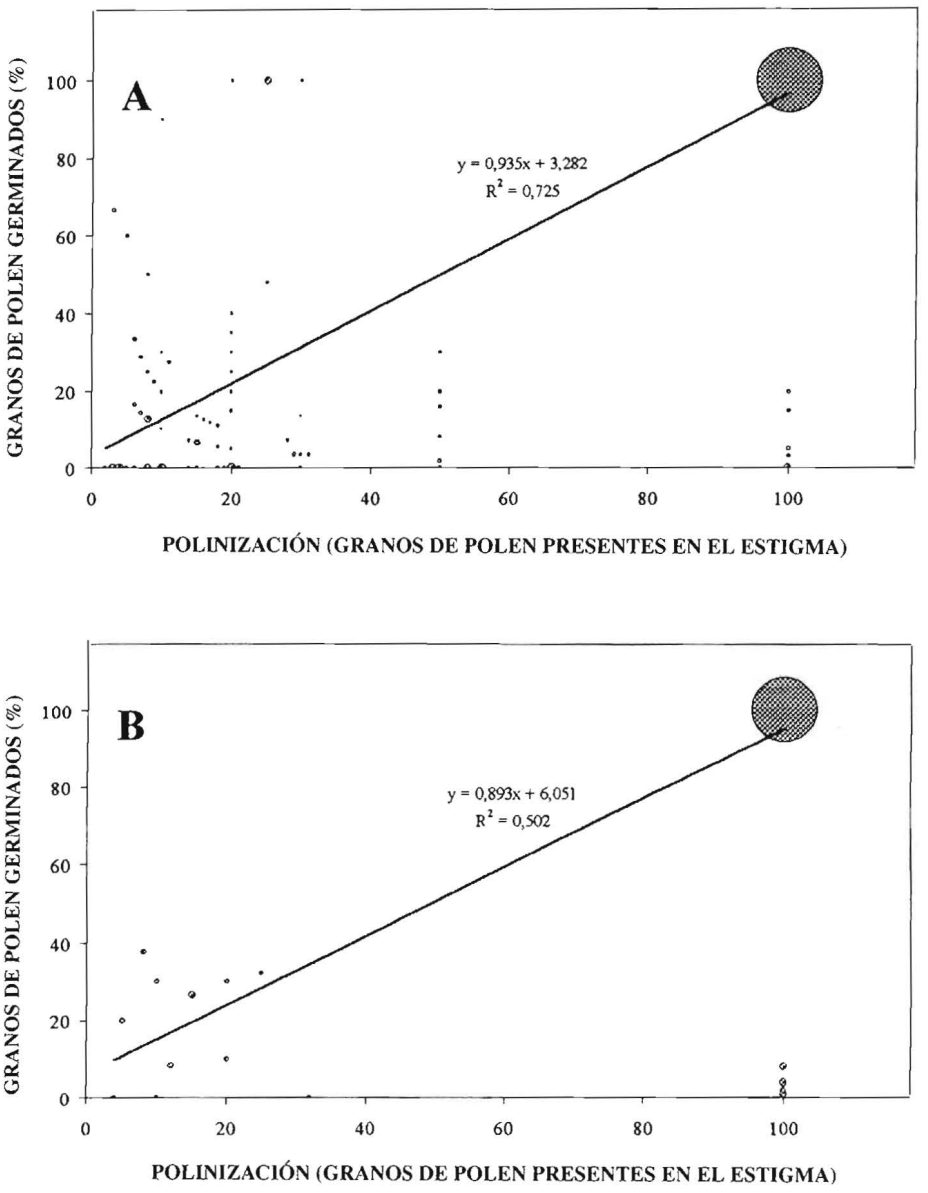


Figura 1. Correlación entre el número de granos de polen presentes en el estigma y el porcentaje de granos de polen germinados en manzano: A, 'Golden' y B, 'Royal Gala'. El número de casos observados en cada punto viene representado por el diametro del círculo.

Figure 1. Correlation between the number of pollen grains in the stigma and the percentage of germinated pollen grains in apple trees: A, 'Golden' y B, 'Royal Gala'. The number of samples observed are represented by the diameter of the circle.

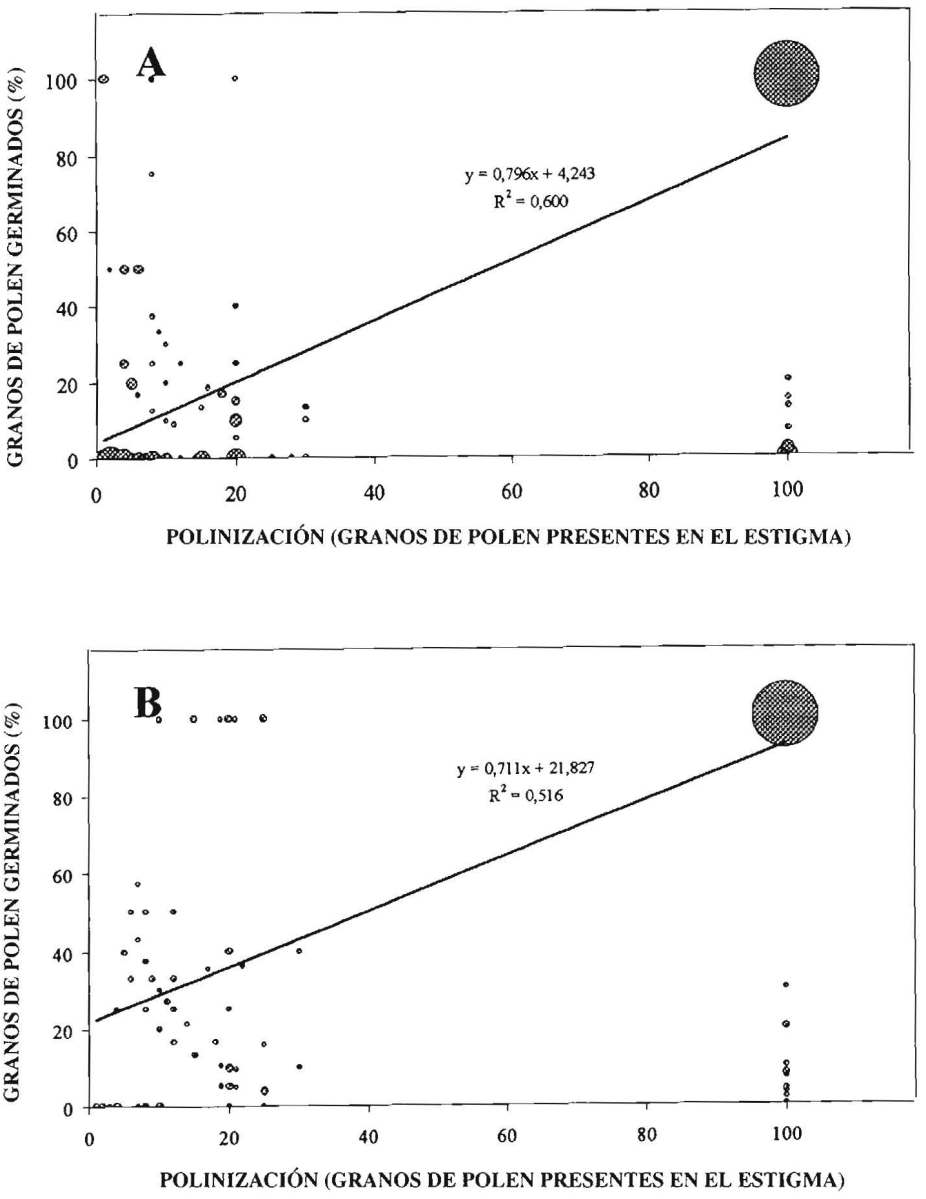


Figura 2. Correlación entre el número de granos de polen presentes en el estigma y el porcentaje de granos de polen germinados en peral: A, 'Blanquilla' y B, 'Conferencia'. El número de casos observados en cada punto viene representado por el diametro del círculo.

Figure 2. Correlation between the number of pollen grains in the stigma and the percentage of germinated pollen grains in pear trees: A, 'Blanquilla' y B, 'Conferencia'. The number of samples observed are represented by the diameter of the circle.

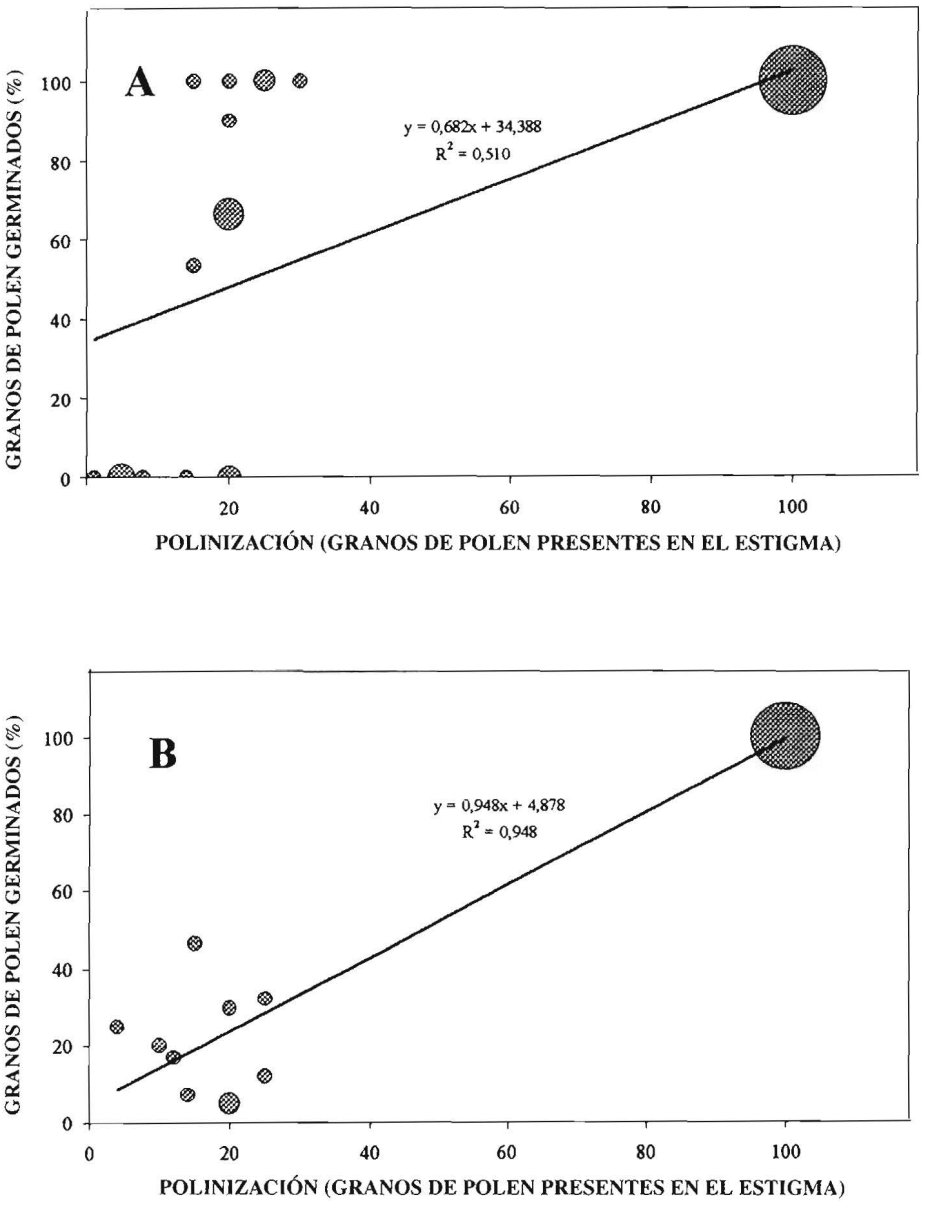


Figura 3. Correlación entre el número de granos de polen presentes en el estigma y el porcentaje de granos de polen germinados en nectarina y melocotonero: A, 'Fairlane' y B, 'Amarillo Agosto'. El número de casos observados en cada punto viene representado por el diametro del círculo.

Figure 3. Correlation between the number of pollen grains in the stigma and the percentage of germinated pollen grains in nectarine and peach trees: A, 'Fairlane' and B, 'Amarillo Agosto'. The number of samples observed are represented by the diameter of the circle.

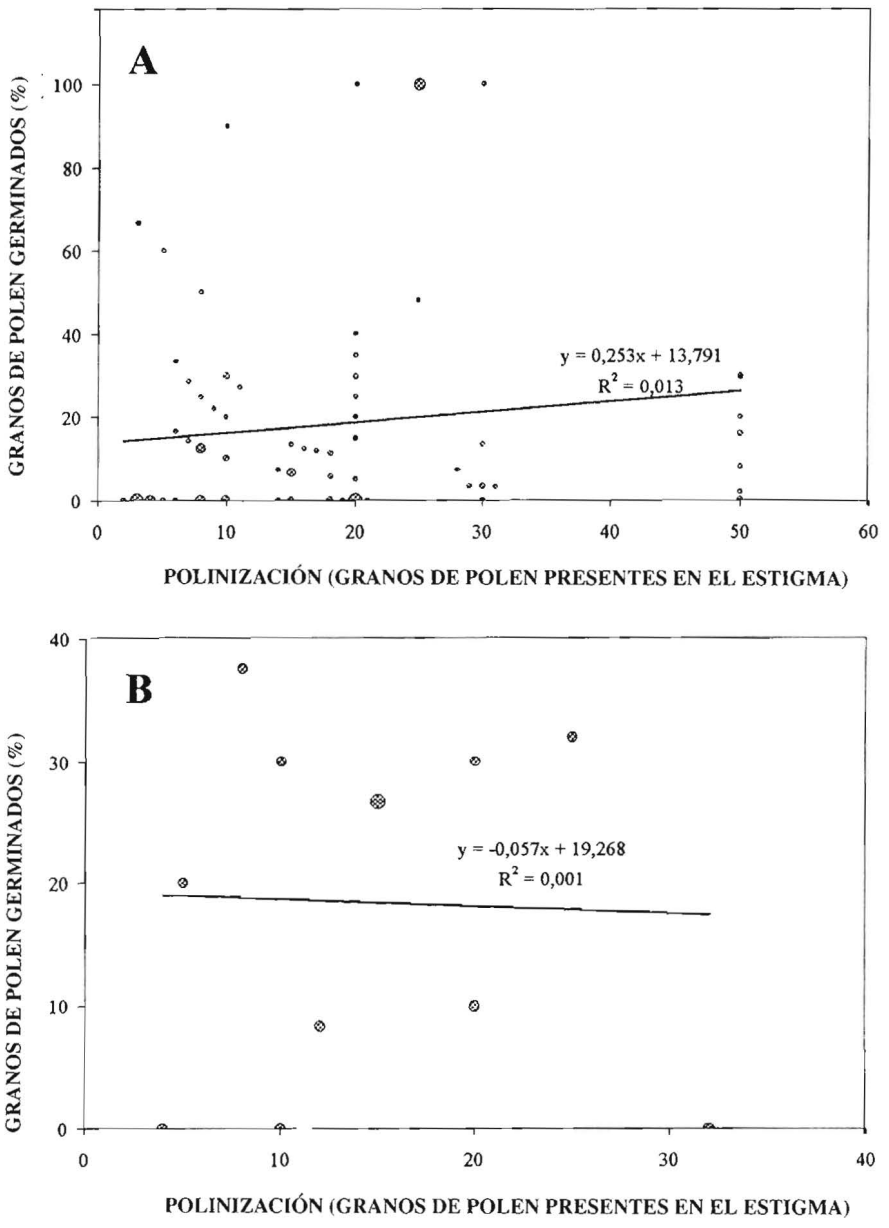


Figura 4. Correlación entre el número de granos de polen presentes en el estigma y el porcentaje de granos de polen germinados, cuando la polinización fue deficiente en manzano: A, 'Golden' y B, 'Royal Gala'.

Figure 4. Correlation between the number of pollen grains in the stigma and the percentage of germinated pollen grains when pollination was deficient in apple tree: A, 'Golden' y B, 'Royal Gala'.

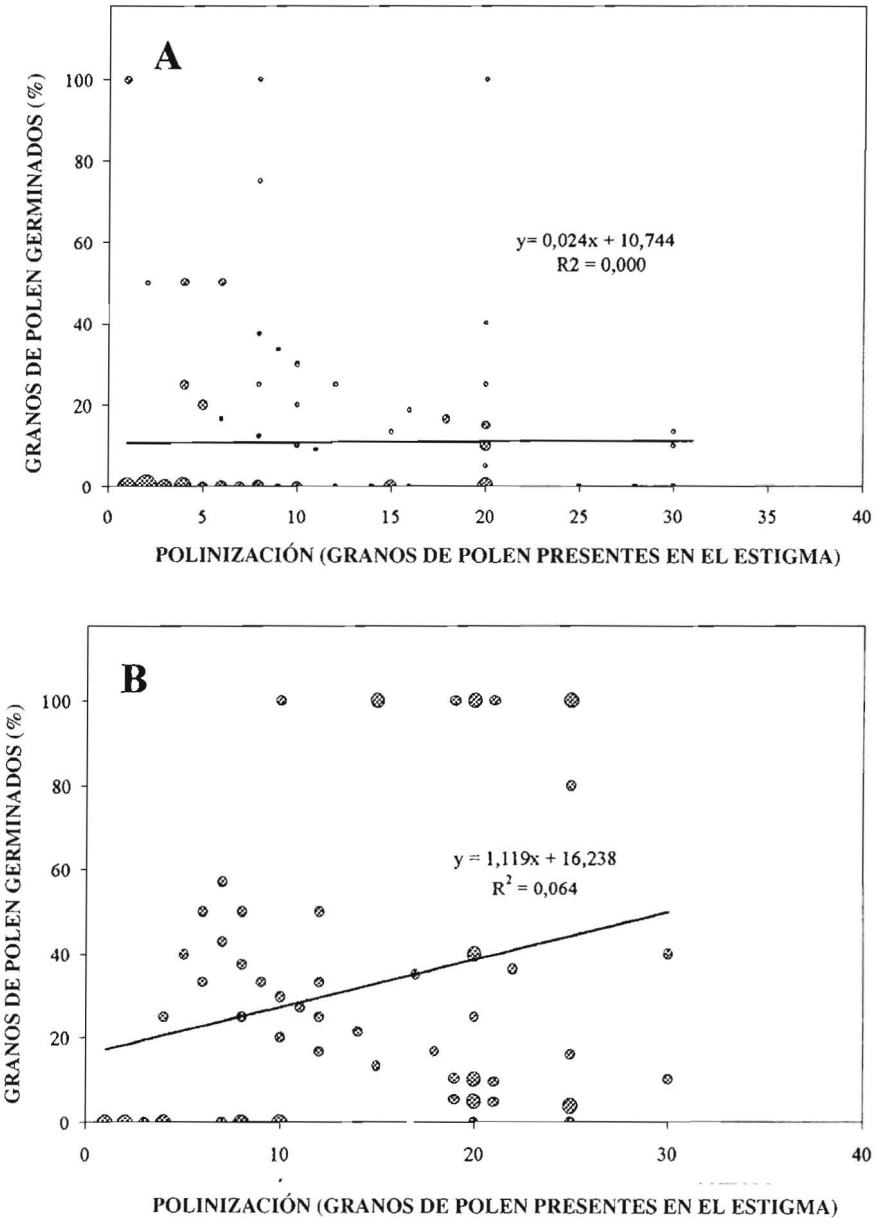


Figura 5. Correlación entre el número de granos de polen presentes en el estigma y el porcentaje de granos de polen germinados, cuando la polinización fue deficiente en peral: A, 'Blanquilla' y B, 'Conferencia'.

Figure 5. Correlation between the number of pollen grains in the stigma and the percentage of germinated pollen grains when pollination was deficient in pear tree: A, 'Blanquilla' y B, 'Conferencia'.

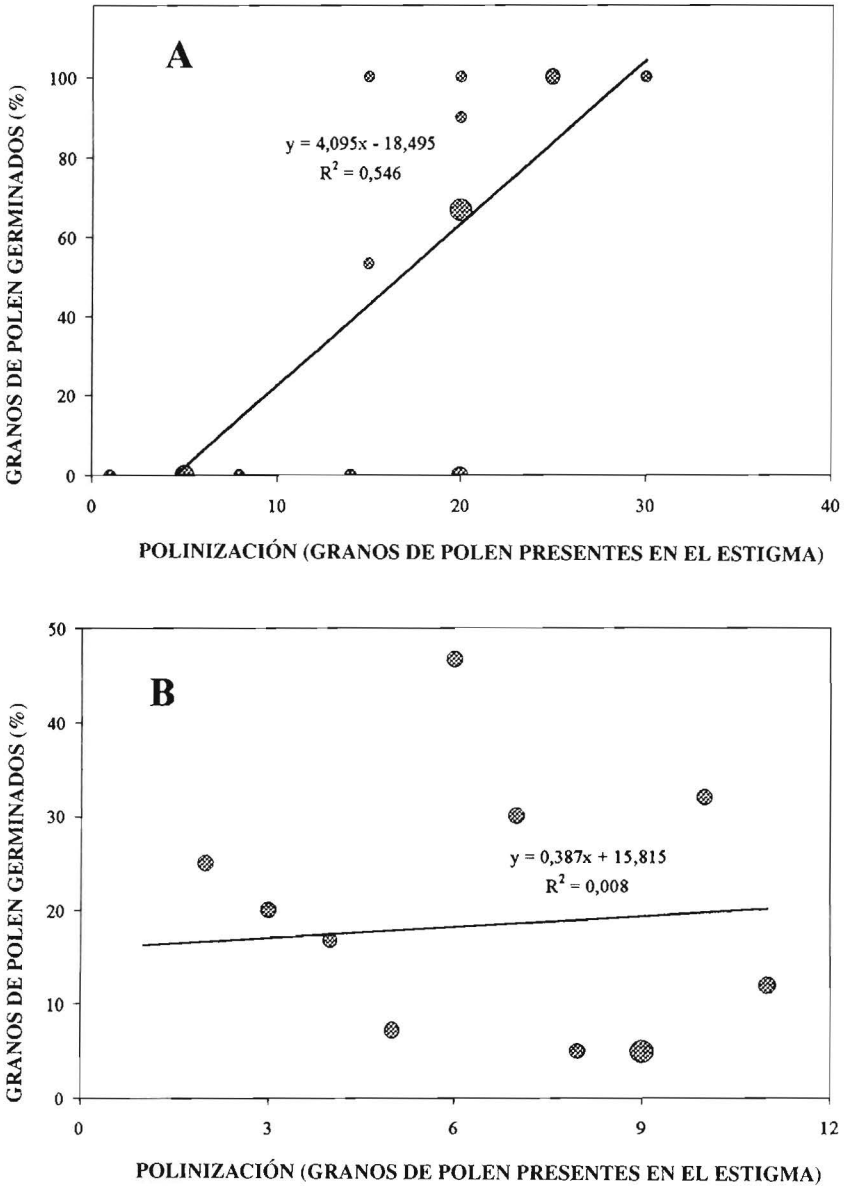


Figura 6. Correlación entre el número de granos de polen presentes en el estigma y el porcentaje de granos de polen germinados, cuando la polinización fue deficiente en nectarina y melocotonero: A, 'Fairlane' y B, 'Amarillo Agosto'.

Figure 6. Correlation between the number of pollen grains in the stigma and the percentage of germinated pollen grains when pollination was deficient in nectarine and peach trees: A, 'Fairlane' and B, 'Amarillo Agosto'.

Bibliografía

ANDRÉS M.V., LAQUIDAÍN M.J., ROYO J.B., DURÁN J.M., 1999. Influencia de la polinización en el cuajado de fruto de manzano. VIII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Ciencias Hortícolas. Murcia.

ANDRÉS M.V., DURÁN J.M., 1998. Self-incompatibility in Spanish clones of apricot (*Prunus armeniaca* L.) tree. *Euphytica,* 101, 349-355.

ARBELOA A., HERRERO M., 1987. Germinación y difusión de proteinas del polen del melocotonero. ITEA, 69, 47-53.

BARROSO J.M., MATA H., PEIXE A.V., 1997. Estudo da eficácia de polinizaçao na ameixeira 'Rainha Claudia Verde'. Actas de Horticultura Vol. 15. II Congresso Iberoamericano e III Congresso Ibérico de Ciencias Horticolas. Vilamoura, Portugal.

BENEDIKOVÁ D., 1986. Pollination conditions in selected collection of apricots. *Vedecké Práce Vyskumného Ustavu Ovocnych a Okrasnych Drevinv Bojniciach,* 6, 125-131. (*Hort. Abs.* 1988 Ref. 1313).

DE NETTANCOURT D., 1976. Incompatibility in Angiosperms. Springer-Verlag, New York, pp. 58-97.

GIULIVO C., RAMINA A., 1974. Effetto di massa ed azione del calcio sulla germinazione del polline di alcunespecie arboree da frutto. *Riv. Ortoflorofrutt. It.,* 1, 3-13.

IGLESIAS I., 1993. La polinización en frutales. *Frutic. Profes.,* 53, 5-18.

KRYLOVA V.V., 1979. Embryological evaluation of self fertility in apple. *Tagungsbericht, Akad. Land. der Deut. Demo. Rep.,* 174, 49-54.

MARCUCCI M.V., VISSER, T., 1987. Pollen tube grow in apple and pear styles in relation to self-incompatibility, incongruity and pollen load. *Adv. Hort. Sci.,* 1, 90-94.

MARTÍNEZ-TELLEZ J., CROSSA-RAYNAUD, P., 1982. Contribution à l'étude du processus de la fécondation chez trois espèces de *Prunus: P. persica* (L.) Batcch., *P. cerasifera* Ehrh., *P. mahaleb* L. Grâce à l' utilisation de couples de variétés mâle-stériles et mâle-fertiles. *Agronomie,* 2, 333-340.

MARTIN F.W., 1958. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Technol.,* 34, 125-129.

NIESENBAUM R.A., 1999. The effects of pollen load size and donor diversity on pollen performance, selective abortion, and progeny vigor in Mirabilis jalapa (Nyctaginaceae). *Am. J. Bot.,* 86, 261-268.

ROBBIE F.A., ATKINSON C.J., 1994. Wood and tree age as factors influencing the ability of apple flowers to set fruit. *J. Hort. Sci.,* 69, 609-623.

RODRIGO J., HERRERO M., 1996. Evaluation of pollination as the cause of erratic fruit set in apricot 'Moniqui'. *J. Hort. Sci.,* 71, 801-805.

VASILAKAKIS M., PORLINGIS I.C., 1985. Effect of temperature on pollen germination, pollen tube growth, effective pollination period, and fruit set of pear. *HortScience,* 20, 733-735.

WILLIAMS R.R., WILSON D., 1970. Towars regulated cropping. A report of recent fruit-set experiments in British orchards. Willians Wilson Grower Books, London, 61 p.

WINSOR J.A., STEPHENSON G. 1995. Demographics of pollen tube growth in *Cucurbita pepo. Can. J. Bot.,* 73, 583-589.

(Aceptado para publicacion el 10 de abril de 2000)