

# BIOLOGÍA FLORAL DE 4 CLONES DE GRANADO CULTIVADOS EN CONDICIONES HOMOGÉNEAS: VIABILIDAD, GERMINACIÓN Y CONSERVACIÓN DEL POLEN

Legua, P.<sup>1</sup>; Melgarejo, P.<sup>1</sup>; Martínez-Crespillo, M.<sup>1</sup>; Hernández, F.<sup>1</sup>; Forner, M. A.<sup>2</sup>

<sup>1</sup>Dpto Producción Vegetal y Microbiología. E.P.S.O. (UMH) Ctra Beniel, Km 3.2 03312 Orihuela (Alicante) España.

<sup>2</sup>I.V.I.A. Ctra Náquera Moncada, Km 3.5 Moncada. Valencia. España.

## Resumen

Con el estudio realizado se pretende determinar las causas de la baja fecundación en algunos clones de granado. Los clones estudiados han sido el MA1, MA2, ME18 y ME5 cultivados en condiciones homogéneas en la colección existente en la Escuela Politécnica Superior de Orihuela (Alicante). El estudio se realizó durante los años 1996 y 1997.

Se ha estudiado la viabilidad del polen mediante la técnica de tinción con carmín acético y se ha observado su evolución semanal a lo largo de la floración. Asimismo se ha estudiado este mismo parámetro para el polen conservado a las temperaturas de 5 y 28°C.

También se realizó el estudio del potencial germinativo del polen procedente de flores "masculinas" y hermafroditas, en un medio de cultivo a las temperaturas de 15 y 28°C, realizando observaciones a las 48 horas desde la siembra.

Palabras clave: *Punica granatum* L., potencial germinativo, polinización, floración, medio de cultivo.

## Abstract

The aim of the present work has been to determine low fertilization reasons in some pomegranate cultivars. The studied cultivars have been MA1, MA2, ME18 and ME5 cultivated in homogeneous conditions in the collection grown at E.P.S. of Orihuela. The investigation was carried out during 1996 and 1997.

Pollen viability has been studied with acetic carmine dye weekly during all flowering. This parameter was also worked with pollen that has been conserved at 5°C and 28°C.

Germination ability was researched with pollen of male and hermaphrodite flowers grown in a culture medium with 15°C and 28°C which were observed 48 hours after sowing.

Keywords: *Punica granatum* L., germination potential, pollination, flowering, culture medium.

## 1. Introducción

Los estudios de biología floral, intensificados en los últimos años, han mostrado con frecuencia la estrecha relación con los problemas de la fructificación.

La cantidad y la calidad del polen disponible, la receptividad del estigma, la compatibilidad polen-pistilo y su relación con los factores medioambientales, etc., son hoy objeto de estudio en los cuatro clones MA1, MA2, ME5 y ME18, y está sirviendo para averiguar en que medida sus deficiencias en la fructificación tienen relación con uno o varios de estos factores.

Hacía falta, en nuestra opinión, ampliar los estudios relativos a la biología floral del granado (*Punica granatum* L.) ya que hasta el momento toda la bibliografía existente se reduce a unos cuantos artículos que no profundizaban en el tema y con variedades cultivadas en su mayoría fuera de España. Y sobre todo en nuestro caso, ya que en los cuatro clones estudiados en este artículo no se han realizado investigaciones sobre su biología floral. Tan solo existe una clasificación varietal realizada por Melgarejo (1993) en la cual describía estos cuatro clones, entre otros.

Durante la fase de prospección del material vegetal de granado y preselección del mismo, pudo comprobarse la gran variabilidad existente en nuestras plantaciones, como consecuencia de un crecimiento rápido del cultivo, sin la existencia de suficientes conocimientos sobre el mismo ni del material seleccionado. Esta diversidad varietal ha conducido a un estado general de las plantaciones con problemas de diversa índole, como la falta de productividad, inadecuada época de maduración, deficiente color del fruto, etc. En este momento surge la necesidad de realizar una caracterización pomológica del material de la especie y a continuación, dentro de ésta, la del estudio de su biología floral.

Con la investigación propuesta se ha intentado contribuir a determinar las causas de la baja fecundación de los clones seleccionados, lo que facilitará el desarrollo del cultivo del granado, que tiene una gran importancia económica en la provincia de Alicante ya que el 95 % de la producción española se obtiene de ella.

## 2. Materiales y métodos

### 2.1. Material vegetal

El material vegetal utilizado está constituido por los clones de granado MA1, MA2, ME5 y ME18 descritos por Melgarejo (1993).

### 2.2. Análisis de la viabilidad: tinción con carmín acético

El colorante utilizado para estudiar la viabilidad de los granos de polen fue el carmín acético ya que al ser un colorante protoplasmático no colorea los granos anormales, mientras que los normalmente constituidos aparecen rojos. Este colorante se obtiene hirviendo una mezcla de 45 % de ácido acético y 55 % de agua destilada en presencia de hierro metálico durante 3-4 minutos. En este proceso se libera acetato férrico, que es fundamental para la consecución de una tinción adecuada. Se añade un 1 % de carmín manteniendo la ebullición durante otro minuto y se procede finalmente al filtrado.

Finalmente se depositan los granos de polen sobre un portaobjetos, depositando sobre ellos una gota de carmín acético y un cubreobjetos para su observación en el microscopio óptico de 10 x 10.

### 2.3. Estudio del potencial germinativo: medios de cultivo.

El medio de cultivo utilizado consiste fundamentalmente en una disolución de sacarosa, agar y micronutrientes en agua destilada, que se esteriliza en autoclave (a 120°C durante 15 minutos) y que es depositada formando una fina película en una placa Petri, también estéril. Una vez que se ha dejado enfriar y solidifica, se procede a la siembra del polen. Todo este proceso tiene lugar en una campana de flujo laminar para evitar posibles contaminaciones y en presencia de un mechero de alcohol.

La composición del medio de cultivo para una solución de 100 g es de 81.5 g de agua destilada, 17.5 g de sacarosa, 1 g de agar, 22 mg de cloruro de calcio dihidratado y 2 mg de ácido bórico.

Esta prueba ha sido realizada con polen procedente de flores masculinas y flores hermafroditas a dos temperaturas distintas 15°C y 28°C en presencia de luz. Las placas se mantuvieron en cámaras a estas temperaturas y fueron observadas a las 48 horas después de su siembra.

#### 2.4. Conservación del polen

Para medir el tiempo de conservación del polen, se tomó una amplia muestra de polen al principio de la floración y se mantuvo una parte de la muestra en una cámara frigorífica a 5°C y la otra en una cámara a 28°C. Durante todo este periodo se tomaron muestras semanales en las que se midió la viabilidad.

### 3. Resultados

#### 3.1. Viabilidad del polen

La evolución de la viabilidad a lo largo de la floración se muestra en la Figura 1. Como se puede observar, casi todas las variedades alcanzan un máximo de viabilidad a principios de junio, coincidiendo con el periodo de máxima floración; sin embargo, no sucede esto con la variedad ME5, la cual presenta su máxima viabilidad a principios de julio, cerca del final de su floración.

La viabilidad media de los granos de polen a lo largo de todas las semanas que duró el ensayo fue, en la variedad MA 1 del 78.9%, en la MA 2 del 71.85 %, en la ME 5 del 60.65% y, por último, en la ME 18 del 49.8%.

#### 3.2. Potencial germinativo del polen.

El potencial germinativo de los granos de polen se calcula sólo con los granos viables, considerándose el porcentaje de estos últimos el 100% del polen. Los granos de polen se incuban durante 48h a 15°C y a 28°C. Los resultados se muestran en la Tabla 1.

El clon MA1 es el que presenta un mayor porcentaje de germinación a ambas temperaturas. Así a 15°C alcanza un 19.22% de potencial germinativo seguido de los clones MA2 y ME18 con un 14.76% y 14.37% respectivamente. A 28°C llega a tener un 36.54% mientras que los clones MA2 y ME5 tienen un 25.62% y 25.24%.

#### 3.3. Conservación del polen.

La conservación del polen se comenzó a medir la última semana de mayo con una viabilidad del 92% en el MA1, del 77.6% en el MA 2, del 78.2% en el ME 5 y del 59.8% en el ME18. Al final de la prueba, la primera semana de agosto, los resultados de viabilidad fueron los que refleja la Tabla 2.

De estos datos se deduce que después de 10 semanas a 5°C la viabilidad disminuyó un 17% para el clon MA1, un 12% para el MA2, un 48 % para el ME5 y un 34 % para el ME18.

Para el mismo periodo de tiempo, pero manteniéndose los granos de polen a 28°C, el descenso de la viabilidad fue de un 38 % para el MA1, un 34% para el MA2, un 56% para el ME5 y un 52% para el ME18.

#### 4. Discusión

##### 4.1. Viabilidad del polen

Según Josan et al. (1979) la viabilidad del polen osciló entre el 64.44% en el cultivar Afganistán seedling hasta el 98.99% en el cultivar Bedana. Por otro lado Sharma y Gaur (1984) obtuvieron los valores más altos de viabilidad con la variedad Dholka con un 97.51%, correspondiendo el valor más bajo a la variedad Country Large Red con un 58.24%.

En nuestro estudio estos valores oscilaron entre el 90.2% en la MA1 y el 49.8% de la ME18, valores ligeramente más bajos de los antes citados. Todos los clones, excepto el ME5, presentan un máximo en su viabilidad que coincide con el máximo momento de floración.

##### 4.2. Potencial germinativo del polen

El poder germinativo es mayor a 28°C de temperatura de incubación que para 15°C, aunque no existen diferencias significativas entre los cuatro clones lo que pone de manifiesto la capacidad de adaptación de estas variedades.

Sharma y Gaur (1984) utilizando una solución con un 20% de sacarosa y tras 48 h de incubación, obtuvieron que la variedad Anar Shrine E. Mohd. Ali fue la que alcanzó el mayor porcentaje de germinación con el 87.9% y Wild Punica el menor con un 31.9%.

En cuanto a la germinabilidad, Josan et al. (1979) obtuvieron entre un 65.06% en el cultivar Bashi Kalinski hasta un 96.55% en el Kazkai, valores éstos muy superiores a los nuestros que oscilaron entre un 36.54% en la MA 1 y un 21% en la ME 18. También observamos que estos autores obtienen los mejores porcentajes de germinación en un medio con el 20% de sacarosa, mientras que nosotros los obtenemos en un medio de cultivo al 17.5% de sacarosa.

##### 4.3. Conservación del polen

La conservación del polen es mucho más eficaz a 5°C que a 28°C. También se observa que el polen de las flores de los clones Mollar de Albaterra (MA) sufre un menor descenso de su viabilidad sea cual sea su temperatura de conservación.

El descenso de la viabilidad fue progresivo a lo largo de las 10 semanas de ensayo, distinguiéndose los clones MA, por un descenso semanal menor que los clones ME para ambas temperaturas.

Según Fernández (1995), la viabilidad de los clones de Piñón Tierno de Ojos almacenados a 5°C fue de 40 días, mientras que a 28°C duraron sólo 30 días, lo que contrasta con los resultados expuestos.

Como conclusiones podemos destacar:

1. Todas los clones excepto el ME5 presentan un máximo de viabilidad de polen que coincide con el momento de máxima floración.
2. La conservación del polen es mucho más eficaz a 5°C que a 28°C.
3. El poder germinativo es mayor a los 28°C de incubación que a los 15°C.

## Referencias

- Fernández Martínez, V.M. 1995. Biología floral de cultivares de granado (*Punica granatum* L.) autóctonos del sudeste. Trabajo Fin de Carrera. E.P.S.O. (Orihuela).
- Josan, J.S.; Jawanda, J.S. y Uppal, D.K. 1979. Studies on the floral biology of pomegranate. 1. Sprouting of vegetative buds, flower bud development, flowering habit, time and duration of flowering & floral morphology. Punjab Horticultural Journal. Department of Horticulture, Punjab Agricultural University, Ludhiana -141004. India V.19 N. 112, pag 59-65.
- Melgarejo, P. 1993. Selección y tipificación varietal de granado (*Punica granatum*, L.). Tesis Doctoral. E.T.S.I.A. (U.P.V.) (Valencia).
- Melgarejo, P.; Martínez-Valero, R., Guillaumon, J.M.; Miró, M. y Amorós, A. 1997. Phenological stages of the pomegranate tree (*Punica granatum* L.) Ann. appl. Biol, 130: 135-140.
- Nalawadi, U.G.; Farooqui, A.; Dasappa A.; Narayana Reddy, M.; Gubbaiah A.; Sulikeri, G.S. and Nalini, A.S. 1973. Studies en the floral biology of pomegranate (*Punica granatum*, L.). Mysore Journal of Agricultural Science. 1973, V. 7 N 2, pag. 213-225. College of Agriculture, Dharwar, Mysore State.
- Sharma, C.M. and Gaur, R.D. 1984. Studies on morphology, germination and viability of pomegranate (*Punica granatum* L.) pollen. Journal of palynology: 20 (2): 87-92.
- Singh, R.P.; Kar, P.L. y Dhuria, H.S., 1980. Floral biology studies in some pomegranate cultivars, Horticultural Abstracts (1981), 51 (9),7.420.

Figura 1. Evolución de la viabilidad a lo largo del tiempo de los clones estudiados.

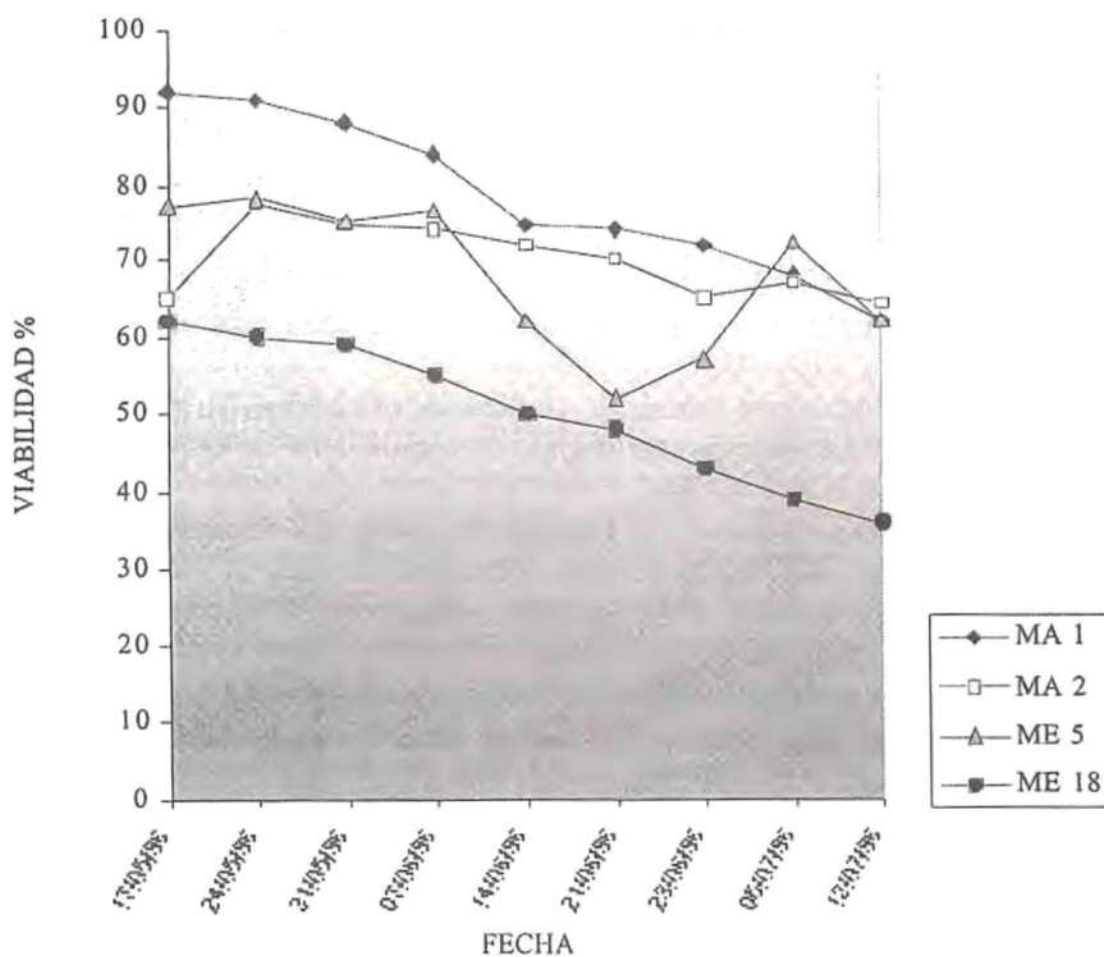


Tabla 1. Potencial germinativo del polen a 15°C y 28°C a las 48 h de su incubación

%	MA1	MA2	ME5	ME18
15...C	19.22	14.76	10.59	14.37
28...C	36.54	25.62	25.24	21

Tabla 2. Viabilidad del polen conservado a 5°C y 28°C

%	MA1	MA2	ME5	ME18
28...C	57.0	51.0	34.4	28.9
5...C	76.6	68.2	40.8	39.4