

GERMINAÇÃO *in vitro* DE GRÃOS DE PÓLEN DE PESSEGUEIRO: AJUSTE DE pH E TEMPO DE GERMINAÇÃO

EMERSON F. TOMAZI¹; EDVAN A. CHAGAS²; WILSON BARBOSA²; RAFAEL PIO³;
FERNANDO A. CAMPO DALL'ORTO²; POLLYANA C. CHAGAS⁴; ANGELA SAITO^{1*};
LEANDRO H.G. TIZATO^{1**}

Nº 0700033

RESUMO

Objetivou-se determinar o melhor valor de pH para aferição do meio de cultura e estudar o tempo de início de germinação de grãos de pólen de pessegueiro 'Aurora 1' e 'Douradão'. Os grãos de pólen foram obtidos de anteras retiradas de flores em estágio balão. O meio de cultura foi constituído por 90 g.L⁻¹ de sacarose, 10 g.L⁻¹ de agar, 400 mg.L⁻¹ de ácido bórico e 400 mg.L⁻¹ de nitrato de cálcio e aferido para os diferentes pH 4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0 e 6,5. Após estabelecido o melhor valor de pH, foi realizado um segundo experimento para avaliar o tempo de início de germinação. As avaliações foram realizadas a 0, ½, 1, 2, 3, 6 e 12 horas após a inoculação. Maior porcentagem de germinação *in vitro* de grãos de pólen de pessegueiro é obtida com pH de 6,5 para variedade Douradão e 5,5 para 'Aurora 1'. O início da germinação de grãos de pólen para ambas as variedades inicia-se após 30 minutos da inoculação e apresenta um crescimento linear até as doze horas de avaliação.

Palavras-chave: *Prunus persica*, Palinologia, Cultura de Tecidos, 'Aurora 1', 'Douradão'

¹ Estagiário do Centro APTA Frutas, *Bolsista PIBIC/CNPq, **Bolsista I.C. FAPESP.

² Pesquisador Científico do Instituto Agrônomo. Autor correspondente: Email: echagas@iac.sp.gov.br.

³ Professor da Universidade do Oeste do Paraná.

⁴ Mestranda em Fitotecnia da Esalq/USP, Bolsista CAPES.

PEACH POLLEN GRAINS IN VITRO GERMINATION: PH AND GERMINATION PERIOD ADJUSTMENTS

ABSTRACT

The aimed to determine the best pH value for the culture medium and study the beginning time of pollen grains germinations for the peach 'Aurora 1' and 'Douradão'. The pollen grains were obtained from anthers removed from flowers under the "balão" stadium. The culture medium was constituted of 90 g.L⁻¹ of sucrose, 10 g.L⁻¹ of agar, 400 mg.L⁻¹ of boric acid and 400 m g.L⁻¹ of calcium nitrate and adjusted to the different pH values (4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0 e 6.5). After established the best pH value, was realized a second experiment to evaluate the germination beginning time. The evaluation were realized at 0, ½, 1, 2, 3, 6, and 12 hours after inoculation. Higher *in vitro* pollen grains germination of peach is obtained with pH of 6.5 for the Douradão variety and 5.5 for the 'Aurora 1'. The germination beginning time of the pollen grains for both varieties starts after 30 minutes after the inoculation and shows a lineal growth till the twelve hours of evaluation.

Key Words: *Prunus persica*, palinology, tissue culture, 'Aurora 1', 'Douradão'

INTRODUÇÃO

Os meios de cultura sólidos ou semi-sólidos normalmente são solidificados com agar. A consistência do meio de cultura depende da concentração e qualidade de agar utilizado, do pH, do tipo de explante, da concentração de sais e da presença de outras substâncias as quais interferem na gelificação (Caldas et al., 1998). O pH é um fator crítico e muito importante do meio de cultura, influenciando na disponibilidade de nutrientes, fitorreguladores e no grau de solidificação do agar (Pasqual et al., 2002). Se bem ajustado, o pH pode promover maior e melhor aproveitamento dos nutrientes pelo explante. Os efeitos do pH podem ser diretos ou indiretos, fluindo, por exemplo, na utilização das fontes de nitrogênio.

Por outro lado, o conhecimento do início da emissão do tubo polínico e de sua estabilização em trabalhos de palinologia é de grande importância para se determinar o tempo ideal para avaliação de trabalhos de germinação *in vitro* de grãos de pólen após a inoculação. Outra aplicação prática do presente trabalho diz respeito ao estudo de substâncias químicas promotoras do prolongamento da intina, alongamento e formação do tubo polínico,

contribuindo para perspectivas de aumento de produção de várias culturas. É através do alongamento da intina e formação do tubo polínico que ocorre a fertilização, sendo necessário que o pólen esteja em contato com o estigma para que os grãos de pólen germinem dando início ao processo de fecundação e posterior frutificação (Carvalho, 1983).

Segundo Kwack e Brewbaker (1963), o crescimento do tubo polínico é geralmente rápido e inicia-se através do estímulo de componentes químicos.

Objetivou-se, no presente trabalho, determinar o melhor valor de pH para aferição do meio de cultura e estudar o tempo de início de germinação de grãos de pólen de pessegueiro 'Aurora 1' e 'Douradão'.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi realizado no Laboratório de Cultura de Tecidos do Núcleo de Pesquisa e Desenvolvimento, Centro Experimental Central, do Instituto Agrônomo de Campinas.

Os grãos de pólen utilizados foram obtidos de anteras oriundas de flores coletadas no estádio de balão das variedades de pessegueiro 'Aurora 1' e 'Douradão'. Após a obtenção das anteras, estas foram acondicionadas em placas de Petri forradas com papel de filtro e colocadas em sala de secagem a uma temperatura de 25°C, durante 12 horas, para a completa deiscência e liberação dos grãos de pólen.

O meio de cultura utilizado para a germinação dos grãos de pólen foi constituído por 90 g.L⁻¹ de sacarose, 10 g.L⁻¹ de agar, 400 mg.L⁻¹ de ácido bórico e 400 mg.L⁻¹ de nitrato de cálcio. Após o preparo, o meio foi vertido na quantidade de 20ml para as placas de Petri e o políneo de cada variedade foi distribuído uniformemente sobre a superfície do meio com o auxílio de um pincel nº.2.

No primeiro experimento, foram testados diferentes valores de pH (4,0; 4,5; 5,0; 5,5; 6,0 e 6,5), obtidas através da aferição em pHmetro digital. Depois de estabelecido o melhor valor de pH, foi realizado um segundo experimento para avaliar o tempo de início de germinação. Neste, as avaliações foram realizadas a 0, ½, 1, 2, 3, 6 e 12 horas após a inoculação.

Em ambos os experimentos, os tratamentos foram mantidos em sala de crescimento a 27±1°C, fotoperíodo de 24 horas e intensidade luminosa de 35 µmol.m⁻².s⁻¹. Após, 12 horas

da inoculação do primeiro experimento e, as 0, ½, 1, 2, 3, 6 e 12 horas no segundo experimento, realizou-se a contagem dos grãos de pólen germinados com auxílio de microscópio óptico com objetiva de 10 X e fez-se a transformação dos dados para porcentagem. Considerou-se germinados os grãos de pólen cujo comprimento do tubo polínico tivesse ultrapassado o diâmetro do próprio grão de pólen.

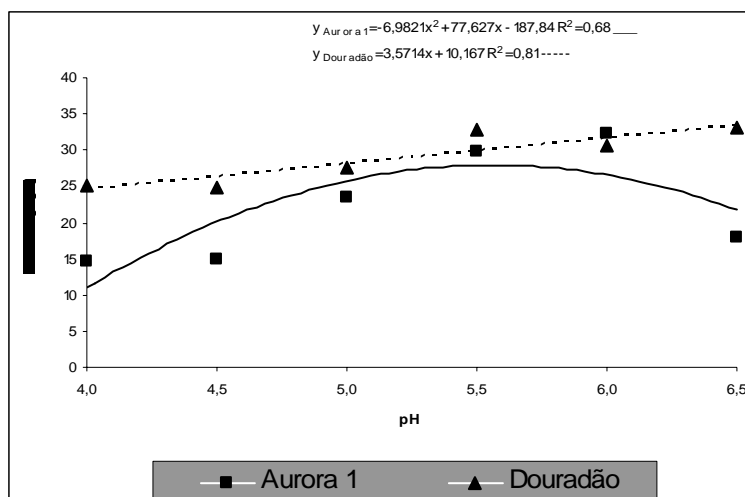
Em ambos os experimentos, o delineamento experimental utilizado foi inteiramente ao acaso, sendo composto por quatro repetições.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Verifica-se através da Figura 1 que houve um efeito positivo do pH na germinação *in vitro* das variedades de pessegueiro testadas. Para variedade Douradão, observou-se aumento na porcentagem de grãos de pólen germinado a medida em que se eleva o valor de pH, até o valor máximo testado (6,5). Para a variedade Aurora 1, o melhor ajuste de pH foi de 5,5. Valores abaixo e acima desses pH proporcionaram menores taxas de germinação.

Segundo Pierik (1987) o pH que proporciona um crescimento adequado da maioria das espécies, situa-se na faixa de 5 a 6,5. Valores acima desses podem ocasionar uma paralisação do crescimento e desenvolvimento *in vitro* (Murashige, 1974). Chagas et al. (2006), observaram que o melhor ajuste de pH no meio de cultura para germinação *in vitro* de grãos de pólen de nectarineiras foi de 6,5. No presente trabalho, de modo geral, constatou-se que valores de pH entre 5,5 e 6,5 foram os que proporcionaram as maiores taxas de germinação para ambas as variedades.

FIGURA 1. Porcentagem de germinação *in vitro* de grãos de pólen germinados de pessegueiro 'Aurora 1' e 'Douradão' quando submetidos a diferentes valores de pH. Centro APTA Frutas/IAC, Jundiaí, 2007.



Com relação ao tempo de início de germinação de grãos de pólen de pessegueiro, observou-se que, tanto para a variedade Aurora 1 quanto para 'Douradão', a emissão do tubo polínico iniciou-se com 30 minutos após a inoculação. A partir desse tempo, constatou-se um aumento linear na porcentagem de grãos de pólen germinados (Figura 2). Diferentemente de outras espécies em que verificaram-se uma estabilização da porcentagem de grãos de pólen germinados após oito e doze horas após a inoculação (Chagas et al., 2007), no presente trabalho, verificou-se que a taxa de germinação pode continuar a crescer após as doze horas (dados não amostrados). Resultado semelhante também foi verificado por Pio et al. (2002), os quais constataram que a maior porcentagem de germinação de grãos de pólen de variedades cítricas ocorrem no período compreendido entre 3 a 12 horas.

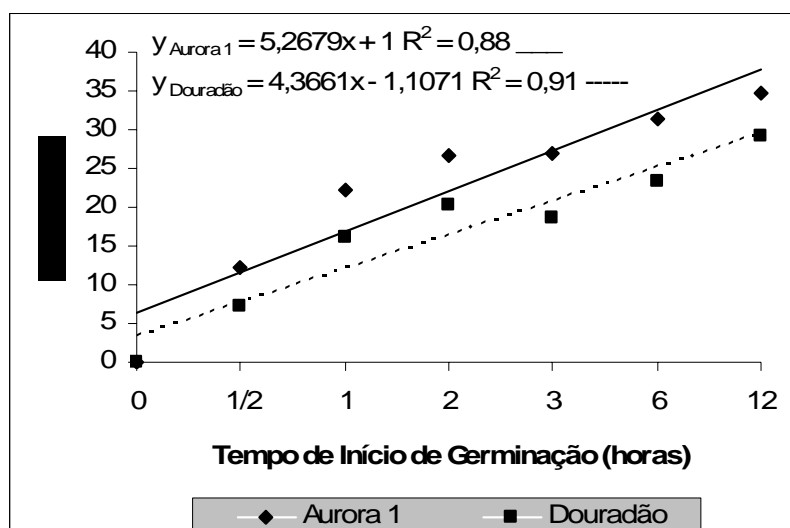


FIGURA 2. Porcentagem de grãos de pólen germinados de pessegueiros 'Aurora 1' e 'Douradão' avaliados durante o período de 12 horas após a inoculação. Centro APTA Frutas/IAC, Jundiaí, SP, 2007.

CONCLUSÕES

Maior porcentagem de germinação *in vitro* de grãos de pólen de pessegueiro é obtida com pH de 6,5 para variedade Douradão e 5,5 para 'Aurora 1'.

A germinação de grãos de pólen das variedades Aurora 1 e Douradão iniciaram-se após 30 minutos da inoculação e apresenta um crescimento linear até as doze horas de avaliação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- CALDAS, L.S.; HARIDASAN, P.; FERREIRA, M.E. Meios nutritivos. In: TORRES, A.C.; CALDAS, L.S.; BUSO, J.A. (Ed.) **Cultura de tecidos e transformação genética de plantas**. Brasília: EMBRAPA; CBAB, 1998. p.87-132.
- CARVALHO, N.M. de. 1983. Sementes: Ciência, tecnologia e produção. 2. ed. Campinas. p.23.
- CHAGAS, P.C., CHAGAS, E. A., PIO, R., BARBOSA, W., CAMPO DALL'ORTO, F. A., SAITO, A., CAVALLARI, L. L., MENDONÇA, V. Avaliação do pH para germinação in vitro de grãos de pólen nectarina In: XV congresso de Pós-Graduandos da Universidade Federal de Lavras. Lavras: UFLA, 2006. 5p. CD Rom.
- CHAGAS, E.A.; BARBOSA, W.; PIO, R.; SAITO, A.; FELDBERG, N.P. Temperature, pH and pollen tubes development period for *Pyrus Calleryana* in vitro germination. In: Internacional Pear Symposium, 10., 2007. Peniche. **Anais...** Peniche: ISHS, 2007. p.49.
- KWACK, B.H.; BREWBAKER, J.L. The essential role of calcium ion pollen germination and pollen tube growth. **American Journal Botany**. v.50, p.859-865, 1963.
- MURASHIGE, T. Plant propagation through tissue cultures. **Annual Review of Plant Physiology**, v.25, p.135-166, 1974.
- PASQUAL, M.; FINOTTI, D.R.; DUTRA, L.F.; CHAGAS, E.A.; RIBEIRO, L. de O. Cultivo *in vitro* de embriões imaturos de tangerineira 'Poncã' em função do pH e da concentração de ágar. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.8, n.3, p.199-202, 2002.
- PIO, L.A.S.; CHAGAS, E.A.; RAMOS, J.D.; SILVA, A.B.; SANTOS, F.C.; JUNQUEIRA, K.P. Avaliação do tempo de início de germinação de grãos de pólen de citros In: XI Congresso de Pós-Graduação da UFLA. Lavras: UFLA, 2002. p.135 – 139
- PIERIK, R.L.M. **In vitro culture of higher plants**. Dordrecht: Martinus Nyjhoff, 1987. 344p.