

GERMINAÇÃO *in vitro* DE GRÃOS DE PÓLEN DE PÊSSEGO: AJUSTE NA CONCENTRAÇÃO DE AGAR E SACAROSE

LEANDRO H.G. TIZATO^{1*}; EDVAN A. CHAGAS²; RAFAEL PIO³; WILSON BARBOSA²;
FERNANDO A. CAMPO DALL'ORTO²; POLLYANA C. CHAGAS⁴; ANGELA SAITO^{1**};
JOSÉ E. BETTIOL NETO¹

Nº 0700035 - 1a

RESUMO

O objetivo do presente trabalho foi ajustar a concentração de agar e sacarose no meio de cultura para avaliar a germinação *in vitro* de grãos de pólen de pessegueiros. Utilizaram-se grãos de pólen das variedades Aurora 1 e Douradão, os quais foram testados em meio de cultura contendo diferentes concentrações de agar (4, 6, 8 e 10 g.L⁻¹) e sacarose (0, 30, 60 e 90 g.L⁻¹), em todas as combinações possíveis. O pH do meio foi ajustado para 5,8. O políneo foi distribuído uniformemente em placas de Petri contendo 20 mL de meio com auxílio de pincel nº.2. Maior germinação de grãos de pólen é obtido com a utilização de 48,29 g.L⁻¹ de sacarose para a variedade Aurora 1 e 90 g.L⁻¹ para a variedade Douradão, acrescido de 10 g.L⁻¹ de agar no meio de cultura.

Palavras-chave: *Prunus persica*, palinologia, cultura de tecidos, carboidrato

PEACH POLLEN GRAINS *in vitro* GERMINATION: AGAR AND SUCROSE CONCENTRATIONS ADJUSTMENT

ABSTRACT

The objective of the present work was to adjust the agar and the sucrose concentration in the culture medium to evaluate the *in vitro* germination of peach pollen grains. Were used the

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

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

³ Professor da Universidade do Oeste do Paraná.

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

pollen grains from the varieties Aurora 1 and Douradão, which were tested in culture medium containing different agar (4, 6, 8 e 10 g.L⁻¹) and sucrose (0, 30, 60 and 90 g.L⁻¹) concentrations. The pH of the culture medium was adjusted to 5.8. The pollen was distributed uniformly distributed in Petri plates, containing 20 mL of the medium, with the help of a brush nº. 2. Higher pollen grains germination is obtained with the use of 48.29 g.L⁻¹ of sucrose for the Aurora 1 variety and 90 g.L⁻¹ for the Douradão variety, added of 10 g.L⁻¹ of agar in the culture medium.

Key words: *Prunus persica*, palinology, tissue culture, carbohydrate

INTRODUÇÃO

A polinização e a fertilização são processos biológicos essenciais à frutificação do pessegueiro. Na sua ausência, sucede a abscisão do fruto, visto que nesta cultura não ocorrem naturalmente os fenômenos da partenocarpia e da apomixia. Assim, a polinização-fertilização é um dos elos mais importantes na cadeia reprodutiva de uma planta, pois deste depende toda a produção frutífera (Barbosa et al., 1990). Assim, dados sobre a viabilidade e o desenvolvimento biológico de grãos de pólen são fundamentais para os trabalhos de biologia reprodutiva e melhoramento genético de pêssegos, pois permitem obter maiores sucessos nos cruzamentos, que são realizados com a finalidade de gerar novos híbridos e/ou aumentar a viabilidade. Várias pesquisas têm sido conduzidas a fim de estabelecer e/ou padronizar meios de cultura e condições ambientais para avaliar a viabilidade de pólen em diversas espécies (Nunes et al., 2001).

Os principais componentes do meio de cultura para a germinação de pólen têm sido os diferentes tipos e concentrações de açúcares, boro (Miranda e Clement, 1990) e agar. O açúcar empregado no meio de cultura tem por finalidade proporcionar o equilíbrio osmótico entre o pólen e a solução de germinação, e fornecer energia para auxiliar o processo de desenvolvimento do tubo polínico (Stanley e Linskens, 1974) e o agar é utilizado para solidificação do meio de cultura.

Neste sentido, objetivou-se avaliar o efeito das diferentes concentrações de agar e sacarose na germinação *in vitro* de grãos de pólen de pessegueiro das variedades Aurora 1 e Douradão.

MATERIAL E MÉTODOS

Os grãos de pólen utilizados foram obtidos de anteras provenientes de flores em estágio de balão das variedades de pessegueiro 'Aurora 1' e Douradão. Após a separação 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 para germinação dos grãos de pólen foi constituído de diferentes concentrações de agar (4, 6, 8 e 10 g.L⁻¹) e sacarose (0, 30, 60 e 90 g.L⁻¹). O pH do meio foi ajustado para 5,8, antes da autoclavagem. Após preparo, o meio de cultura foi vertido na quantidade de 20ml em placas de Petri. Em seguida, os grãos de pólen de cada variedade foram distribuídos uniformemente sobre a superfície do meio com o auxílio de um pincel nº.2. Após a inoculação, os tratamentos foram incubados em sala de crescimento a 27±1°C, fotoperíodo de 24 horas e intensidade luminosa de 35 µmol.m⁻².s⁻¹.

A contagem de grãos de pólen germinados foi realizada com auxílio de microscópio óptico com objetiva de 10 X. Considerou-se germinados os grãos de pólen cujo comprimento do tubo polínico tivesse ultrapassado o diâmetro do próprio grão de pólen, após 12 horas de incubação. Em seguida, fez-se a conversão do número de grãos de pólen analisados e germinados em porcentagem.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, em esquema fatorial 4 x 4, com quatro repetições.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve efeito significativo da interação entre os fatores testados. Para a variedade Aurora 1, maior germinação de grãos de pólen (55,42%) foi obtido utilizando-se a concentração de 48,29 g.L⁻¹ de sacarose combinado com 10 g.L⁻¹ de agar (Figura 1A). Resultado semelhante também foi observado utilizando-se 90 g.L⁻¹ de sacarose e 6 g.L⁻¹. Chagas et al. (2007) verificaram que a concentração de 10 g.L⁻¹ de agar combinada com 47,78 g.L⁻¹ para proporcionaram a melhor germinação de grãos de pólen de pereira 'Taiwan Nashi-C'.

Para a variedade Douradão, melhor resultado (71% de germinação) foi obtido com 90 g.L⁻¹ de sacarose combinado com 10 g.L⁻¹ de agar. Resultado semelhante foi obtido na

germinação de grãos de pólen de porta-enxerto de pereira ‘Taiwan Mamenashi’ (Chagas et al., 2007). A dose de 90 g.L⁻¹ de desse carboidrato também proporcionou bons resultados quando combinado com 4 e 8 g.L⁻¹ de agar. Por outro lado, a utilização de 6 g.L⁻¹ de agar proporcionou a menor porcentagem de germinação de grãos de pólen para todas as doses de sacarose testadas (Figura 1B).

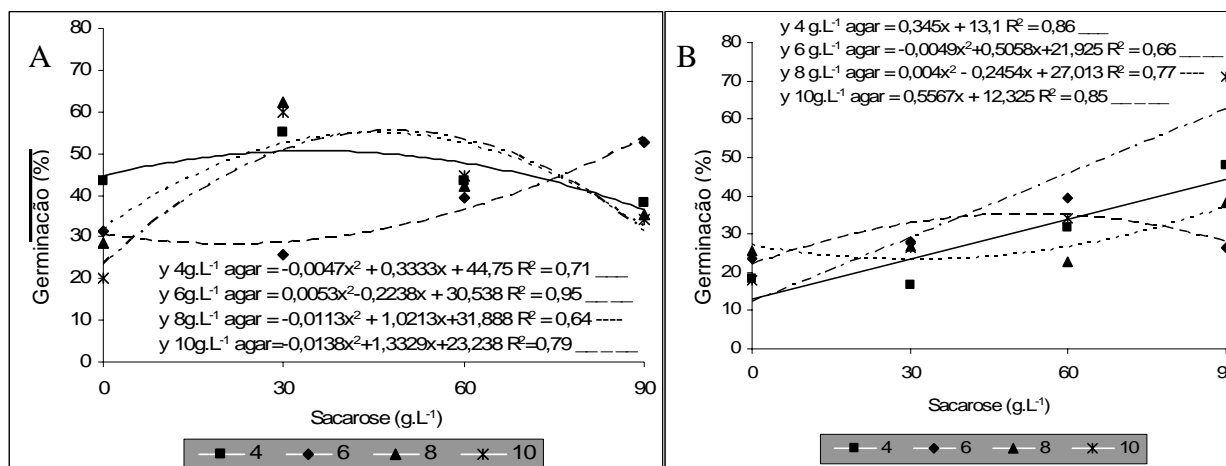


FIGURA 1. Porcentagem de grãos de pólen germinados *in vitro* de pessegueiro ‘Aurora 1’ (1A) e ‘Douradão’ (1B) quando submetidas a diferentes concentrações de agar e sacarose. Centro APTA Frutas/IAC, Jundiaí, SP, 2007.

CONCLUSÃO

Maior germinação de grãos de pólen é obtido com a utilização de 48,29 g.L⁻¹ de sacarose para a variedade Aurora 1 e 90 g.L⁻¹ para a variedade Douradão, acrescido de com 10 g.L⁻¹ de agar no meio de cultura.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARAUJO, A.G. de; SANTOS, F.C.; PASQUAL, M.; PIO, L.A.S.; RAMOS, J.D.; SILVA, A.B. Influência da concentração de sacarose na germinação de grãos de pólen de citros. In: CONGRESSO DE PÓS-GRADUAÇÃO DA UFLA, 11., 2002, Lavras. **Anais...** Lavras: APG/UFLA, 2002. p.16-20.
- CHAGAS, E.A.; BARBOSA, W.; PIO, R.; SAITO, A.; CHAGAS, P.C. In vitro germination of *Pyrus calleryana* Decne. pollen: adjusting a protocol. In: Internacional Pear Symposium, 10., 2007. Peniche. **Anais...** Peniche: ISHS, 2007. p.48.

- GALLETA, G.J. Pollen and seed management. In: MOORE, J.N.; JANICK, J. **Methods in fruits breeding**, Indiana: Purdue University press. p.23-47, 1983.
- MIRANDA, P.A.; CLEMENT, C.R. Germination and storage of peijibaye (*Bactris gasipaes*)palmae pollen. **Revista de Biologia Tropical**, v.38, n.01, p.29-33, 1990.
- NUNES, J.C.de O.; DANTAS, A. C. de M.; PEDROTTI, E.L.; ORTH, A.I.; GUERRA, M. P. Germinação de pólen *in vitro* e receptividade do estigma em macieira cvs. Fuji e Golden Delicious. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.23, n.01, p. 35-39, 2001.
- SCORZA, R.; SHERMAN, W.B. Peaches. In: JANIK, J.; MOORE, J.N. (Ed.). **Fruit breeding**. New York: John & Sons, 1995. p.325-440.
- STANLEY, R.G.; LINSKENS, H. F. **Pollen: biology, biochemistry and management**. New York: Springer – Verlag, 1974, 172p.