

## DESENVOLVIMENTO *in vitro* DE GRÃOS DE PÓLEN DE AMEIXEIRA EM FUNÇÃO DO pH E TEMPO DE GERMINAÇÃO

RÔMULO J. MACHADO<sup>1</sup>; EDVAN A. CHAGAS<sup>2</sup>; RAFAEL PIO<sup>3</sup>; WILSON BARBOSA<sup>2</sup>;  
FERNANDO A. CAMPO DALL'ORTO<sup>2</sup>; POLLYANA C. CHAGAS<sup>4</sup>; ANGELA SAITO<sup>1\*</sup>;  
LEANDRO H.G. TIZATO<sup>1\*\*</sup>

Nº 0700036

### RESUMO

Objetivou-se determinar o melhor valor de pH para ajuste do meio de cultura e estudar o tempo de início de germinação de grãos de pólen de ameixeira 'Centenária' e 'Reubennel'. Os grãos de pólen foram obtidos de anteras retiradas de flores em estágio balão. O meio de cultura foi constituído por 120 g.L<sup>-1</sup> de sacarose, 16 g.L<sup>-1</sup> de agar 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. Houve um efeito linear crescente na porcentagem de germinação *in vitro* de grãos de pólen da ameixa 'Reubennel' à medida que se eleva o valor de pH. Maior porcentagem de germinação *in vitro* de grãos de pólen da variedade 'Centenária' é obtido em meio de cultura com pH de 5,31. O início da germinação dos grãos de pólen das variedades Centenária e Reubennel ocorrem após meia hora e mantém um comportamento linear crescente até as 12 horas após a inoculação.

Palavras-chave: *Prunus salicina*, Palinologia, Cultura de Tecidos, 'Centenária', 'Reubennel'

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

<sup>2</sup> Pesquisador Científico do Instituto Agronômico. Autor correspondente: Email: echagas@iac.sp.gov.br.

<sup>3</sup> Professor da Universidade do Oeste do Paraná.

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

## **In vitro DEVELOPMENT OF POLLEN GRAINS OF PLUM IN FUNCTION pH AND GERMINATION OF PERIOD**

### **ABSTRACT**

It was aimed at to determine the best pH value for adjustment of the culture medium and to study the period the beginning of pollen grains germination 'Centenária' and 'Reubennel ' plum. The pollen grains were obtained anthers of flowers in stadium balloon. The medium of culture was constituted by 120 g.L<sup>-1</sup> of sucrose, 16 g.L<sup>-1</sup> of agar and adjust for the different pH 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0 and 6.5. After established the best pH value, it was accomplished one second try to evaluate the time at the beginning of germination. The evaluations were accomplished to 0, ½, 1, 2, 3, 6 and 12 hours after the inoculation. There was a growing lineal effect in the percentage of pollen grains in vitro germination of 'Reubennel ' the measure that raises the pH value. Larger percentage of pollen grains in vitro germination of the variety Centenária is obtained in medium of culture with pH of 5.31. The beginning of the pollen grains germination of the 'Centenária' and 'Reubennel' occurs after half hour and it maintains a growing lineal behavior until 12 hours after the inoculation.

### **INTRODUÇÃO**

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.

Durante o crescimento das células, o pH do meio de cultura se altera à medida que diferentes íons são absorvidos e os produtos metabólicos são excretados para o meio. O processo de autoclavagem e a estocagem também acidificam os meios de cultura (SKIRVIN et al., 1986).

Segundo Chagas et al. (2007), aliado às condições ambientais que proporcionam a melhor porcentagem de germinação, o conhecimento do início da emissão do tubo polínico e de sua estabilização em trabalhos de palinologia é de grande importância, pois permite determinar

o tempo ideal para avaliação dos testes de viabilidade após a inoculação. Segundo Kwack e Brewbaker (1963), o crescimento do tubo polínico é geralmente rápido e inicia-se através do estímulo de componentes químicos.

Neste contexto, objetivou-se determinar o melhor valor de pH para ajuste do meio de cultura e estudar o tempo de início de germinação de grãos de pólen de ameixeira 'Centenária' e 'Reubennel'.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Anteras oriundas de flores coletadas no estágio "balão" das variedades de ameixeira 'Centenária' e 'Reubennel' e 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, foram utilizadas no presente trabalho.

O meio de cultura utilizado para a germinação dos grãos de pólen foi constituído por 120 g.L<sup>-1</sup> de sacarose e 16 g.L<sup>-1</sup> de agar. Após o preparo, o meio foi vertido na quantidade de 20 ml 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. As avaliações foram realizadas a 0, ½, 1, 2, 3, 6 e 12 horas após a inoculação.

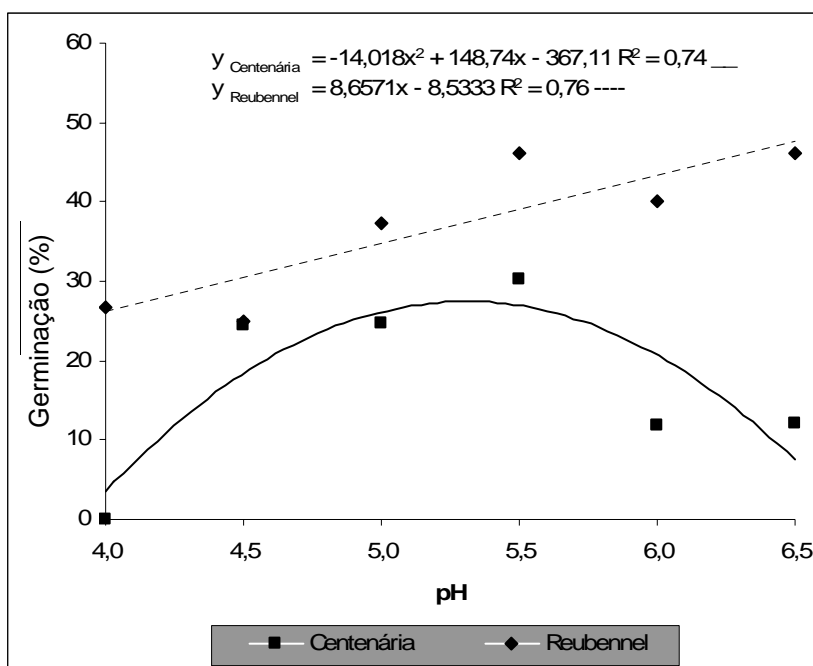
Em ambos os experimentos, os tratamentos foram mantidos em sala de crescimento a 27±1°C, fotoperíodo de 24 horas e intensidade luminosa de 35 µmol.m<sup>-2</sup>.s<sup>-1</sup>. Após, 12 horas da inoculação do primeiro experimento e, as 0, ½, 1, 2, 3, 6 e 12 horas no segundo experimento, realizou-se 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

Maior porcentagem de germinação de grãos de pólen foi observada para variedade 'Reubennel' (Figura 1). Houve um efeito linear crescente na taxa de germinação à medida que se eleva o valor do pH. Chagas et al. (2006), visando ajustar o melhor valor de pH no meio de cultura para germinação *in vitro* de grãos de pólen de nectarineiras, constataram que o pH 6,5 proporcionou o melhor resultado.

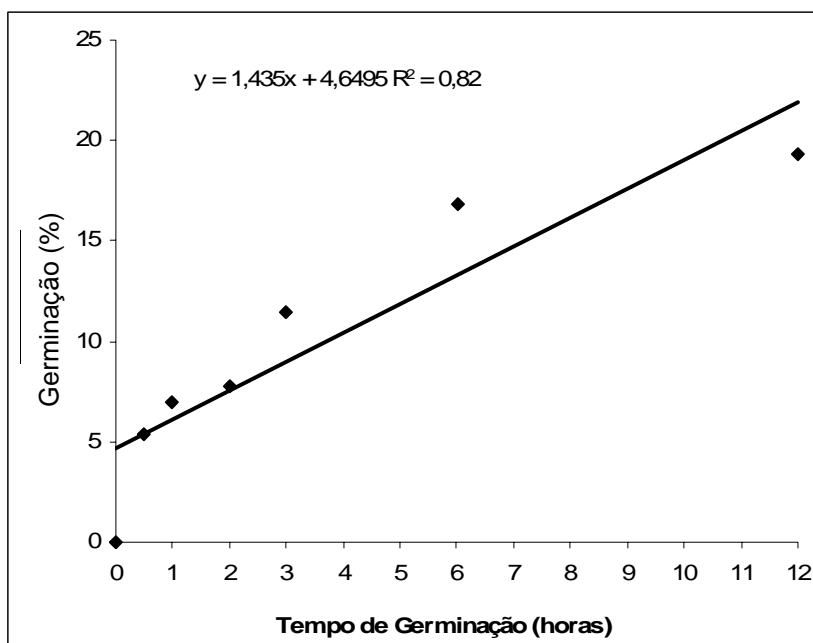
Para a variedade Centenária, observou-se um crescimento da taxa de germinação até pH 5,31, decrescendo na presença de valores maiores de pH. Segundo Pierik (1987) o pH que proporciona um crescimento adequado da maioria das espécies, situa-se na faixa de 5 a 6,5.



**FIGURA 1.** Porcentagem de germinação *in vitro* de grãos de pólen germinados de ameixeira 'Centenária' e 'Reubennel' 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 ameixeira, houve efeito significativo apenas para tempo de início de germinação. Observou-se um comportamento linear crescente na taxa de germinação de grãos de pólen a medida que se eleva o tempo de avaliação (Figura 2). O início da germinação foi rápido ocorrendo a partir de meio hora após a inoculação. Dessa forma, para a realização de testes de germinação e viabilidade de grãos de pólen o presente resultado permiti inferir de que o melhor período de

avaliação dos testes deverá ocorrer após as 12 horas da inoculação. Observando a porcentagem de germinação apresentados na Figura 1, verifica-se que a germinação variou entre 27,45 e 45%. Na Figura 2, constata-se um valor médio de 25%. Neste sentido, é possível inferir de que a porcentagem de germinação pode ser maior quando avaliados após as 12 horas da inoculação.



**FIGURA 2.** Porcentagem de grãos de pólen germinados de ameixeira avaliados durante o período de 12 horas após a inoculação. Centro APTA Frutas/IAC, Jundiaí, SP, 2007.

## CONCLUSÕES

Houve um efeito linear crescente na porcentagem de germinação *in vitro* de grãos de pólen da ameixa 'Reubennel' a medida que se eleva o valor de pH.

Maior porcentagem de germinação *in vitro* de grãos de pólen da variedade 'Centenária' é obtido em meio de cultura com pH de 5,31.

O início da germinação de grãos de pólen das variedades Centenária e Reubennel ocorre após meio hora e mantém um comportamento linear crescente até as 12 horas após a inoculação.

## 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.
- CHAGAS, P.C., CHAGAS, E. A., PIO, R., BARBOSA, W., CAMPO DALL'ORTO, F. A., SAITO, A., CAVALLARI, L. L., MENDONCA, 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.
- 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.
- PIERIK, R.L.M. ***In vitro* culture of higher plants**. Dordrecht: Martinus Nyjhoff, 1987. 344p.
- SKIRVIN, R.M.; CHU, M.C.; MANN, M.L.; YOUNG, H.; SULLIVAN, J.; FERMANIAN, T. Stability of tissue culture medium pH as a function of autoclaving, time and cultured plant material. **Plant Cell Reports**, v.5, p.292-294, 1986.
- 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.