

Geminação de grãos de pólen de nêspereira e ameixeira utilizando Nitrato de cálcio e Ácido bórico em diferentes níveis de pH.

Gilberto Eustáquio Rebeiro Junior¹; Leila Aparecida Salles Pio²; Oscar Hafle³; Ludimilla de Lima Cavallari⁴; José Darlan Ramos⁵, Moacir Pasqual⁶

¹Estudante de Ciências Biológicas Licenciatura do Centro Universitário de Lavras (UNILAVRAS), CEP 37200-000, Lavras –MG, fone: 35-88138042, juninhopintinho@hotmail.com ²Doutoranda Fitotecnia da Universidade Federal de Lavras (UFLA), caixa postal 37, CEP 37200-000, Lavras –MG, fone: 35-88080252, leilapio@ufla.br; ³Doutorando Fitotecnia UFLA, omhafle@yahoo.com.br; ⁴Engenheira Agrônoma, UFLA, cavallari@pop.com.br; ⁵Professor de Fruticultura Geral e Subtropical da Universidade Federal de Lavras (UFLA), fone: 35-38291338, darlan@ufla.br; ⁶Professor de Cultura de Tecidos de Plantas da Universidade Federal de Lavras (UFLA), fone: 35-38291323, mpasqual@ufla.br.

INTRODUÇÃO

A germinação de grãos de pólen *in vitro* é um dos métodos que permite verificar a sua fertilidade, sendo de grande importância em programas de melhoramento de frutíferas. O cálcio adicionado ao meio de cultura para germinação de grãos de pólen propicia características fisiológicas como tubo polínico e grão de pólen com menor sensibilidade a variações do meio básico, menor permeabilidade do tubo polínico, crescimento do mesmo com forma linear e aparência rígida.

Os grãos de pólen das angiospermas necessitam de uma fonte de carbono, de boro, e freqüentemente de outros nutrientes para promover a sua germinação (GALLETTA, 1983)

Os principais componentes do meio de cultura para a germinação de pólen têm sido os tipos e concentrações de açúcares e distintas concentrações de boro (MIRANDA & CLEMENT, 1990). A sacarose empregada no meio de cultura tem por finalidade proporcionar o equilíbrio osmótico entre o pólen e o meio de germinação e fornecer energia para auxiliar o processo de desenvolvimento do tubo polínico (STANLEY & LINSKENS, 1974).

O objetivo do trabalho foi avaliar o efeito do ácido bórico e nitrato de cálcio e a influência do pH na germinação *in vitro* de grãos de pólen de nêspereira (*Eriobotrya japonica* Lindl., cv Mizauto) e ameixeira (*Prunus doméstica* L. cv. C Lion).

MATERIAL E MÉTODOS

Flores recém abertas de nêspereira 'Mizauto' e ameixeira 'C Lion' foram coletadas no período da manhã, e transportados para o Laboratório de Cultura de Tecidos.

As anteras foram separadas das estruturas florais e submetidas à temperatura de 28 ± 1°C por 48 h para que o pólen tivesse seu teor de umidade reduzido, de acordo com a metodologia de SOUSA (1988).

A viabilidade do pólen *in vitro* foi estudada através da germinação dos grãos de pólen em meio de cultura contendo ácido bórico, nas dosagens: 0, 50, 100, 150 e 200 mg L⁻¹ e 4 doses de nitrato de cálcio: 0, 100, 200 e 400 mg L⁻¹, 50 g L⁻¹ de sacarose e 10 g L⁻¹ de ágar. O pH foi aferido para 6.0 em um dos tratamentos e no outro foi apenas medido e anotado, sem aferição. Nesse último houve uma variação de pH entre 6.45 e 7.57)

O meio de cultura foi vertido em placas de Petri de plástico e os grãos de pólen foram espalhados sobre a superfície do meio. As placas de Petri contendo o pólen foram colocadas em BOD à temperatura de 25 ± 2°C por 12 h.

As avaliações foram realizadas pela porcentagem de grãos de pólen germinados, observados em microscópio óptico com objetiva de aumento de 10x, avaliando 4 campos de visão, que foram equivalentes a 4 repetições.

O delineamento experimental foi totalmente casualizado em fatorial 4X5X2, 4 doses de nitrato de cálcio, 5 doses de ácido bórico e 2 níveis de pH. Os dados foram submetidos a uma análise de regressão considerando os níveis de ácido bórico e nitrato de cálcio dentro de cada nível de pH em relação à porcentagem de germinação de grãos de pólen, utilizando o programa estatístico Sisvar.

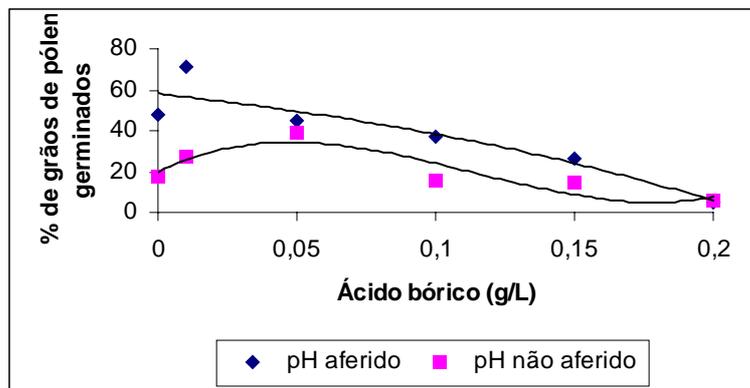
RESULTADOS E DISCUSSÃO

Houve efeito para cálcio e boro e pH, não havendo interação significativa para os fatores estudados.

Na Figura 1A pode-se observar uma redução acentuada na porcentagem de germinação dos grãos de pólen de ameixeira quando submetidos a doses crescentes de Ácido bórico, a qual se mostra ainda mais drástica na ausência do ajuste do pH.

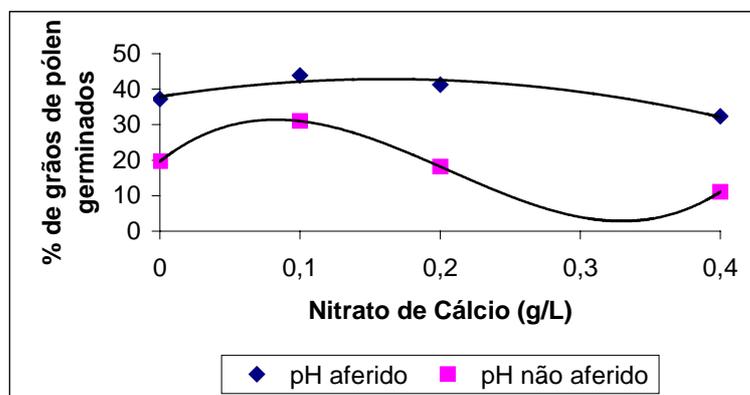
Na figura 1B, observa-se que a porcentagem de grãos de pólen germinados permanece estável à medida que se aumenta a concentração de Nitrato de cálcio, porém, podemos verificar que houve um decréscimo na germinação de grãos de pólen quando não foi realizada a aferição do pH, principalmente quando foi utilizadas dosagens mais elevadas de Nitrato de cálcio.

FIGURA 1 – Porcentagem de grãos de pólen de ameixeira ‘C. Lion’ germinados em diferentes concentrações de nitrato de cálcio (1A) ácido bórico(1B) em pH aferido e não aferido. UFLA, Lavras-MG, 2007.



$$Y (\text{pH aferido}) = 6,81 + 189,28X + 945,5X^2 \quad R^2 = 0,8616$$

$$Y (\text{pH não aferido}) = 3,81 + 232,75X + 2973,93X^2 + 9758,43X^3 \quad R^2 = 0,7849$$



$$Y (\text{pH aferido}) = 7,164 + 90,947X + 210,89X^2 \quad R^2 = 0,9289$$

$$Y (\text{pH não aferido}) = 3,77 + 126,6X + 953,6X^2 + 1654,53X^3 \quad R^2 = 1$$

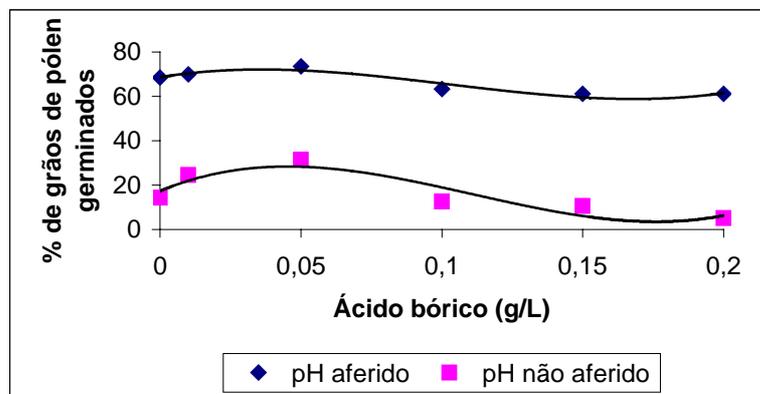
Na Figura 2, observa-se a porcentagem de grãos de pólen de nespereira germinados em diferentes concentrações de ácido bórico (Figura 2A) e nitrato de cálcio (Figura 2B).

Na figura 2B pode-se observar que grãos de pólen obtiveram maior porcentagem de germinação com $0,05 \text{ g L}^{-1}$ de ácido bórico tanto para pH aferido quanto para não aferido, porém a porcentagem de grãos de pólen germinados em pH aferido foi mais alta. Vários autores enfatizam a importância do boro na germinação de grãos de pólen de várias culturas (Sahar e Spiegel, 1980; Bomben et al, 1999). A resposta do boro para a germinação e formação do tubo polínico está de acordo com as informações de Kwack e Brewbaker (1963), que sugeriram ser o cálcio e o boro elementos essenciais para o início do prolongamento da intina e formação do tubo polínico *in vitro*. A alta exigência do boro e sua baixa concentração no interior do pólen conferem a este íon a responsabilidade pelo crescimento do tubo polínico, tanto *in vitro* quanto *in vivo*.

Na Figura 2A, observa-se a porcentagem de grãos de pólen de nespereira germinados em diferentes concentrações de nitrato de cálcio. Melhor resultado foi obtido com a concentração de 200 mg L^{-1} de nitrato de cálcio em pH aferido. Este resultado concorda com os autores que afirmam que o cálcio é essencial para a germinação dos grãos de pólen, bem como o desenvolvimento do tubo polínico (Kwack e Brewbaker, 1963; Sahar e Spiegel, 1980; Beyong, 1965).

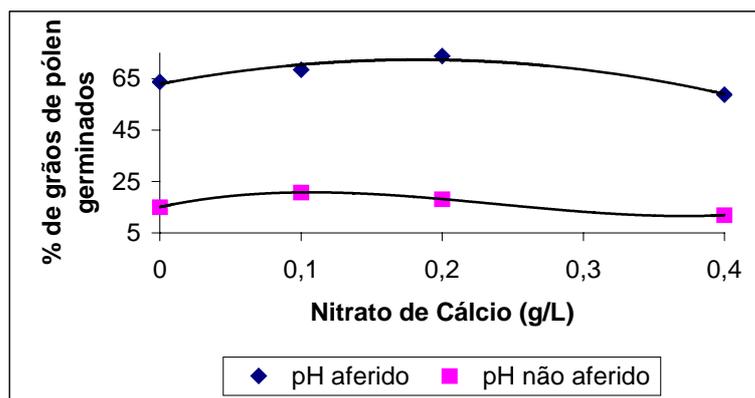
A partir desses resultados verifica-se que o nível de pH estimulou marcadamente o processo de germinação de pólen concordando com as observações de Brewbaker & Kwack (1963) e Stanley & Linskens (1970) os quais mostraram que o pH do meio de cultura influencia o processo da indução de germinação de pólen.

FIGURA 2 – Porcentagem de grãos de pólen germinados de Nêspereira 'Mizauto' em diferentes concentrações de nitrato de cálcio (2A) ácido bórico(2B) em pH aferido e não aferido. UFLA, Lavras-MG, 2007.



$$Y (\text{pH aferido}) = 1,31 + 84,42X + 1078,75X^2 + 35,39,73X^3 \quad R^2 = 0,9073$$

$$Y (\text{pH não aferido}) = 1,87 + 114,5X + 1464,07X^2 + 4804,086X^3 \quad R^2 = 0,8135$$



$$Y (\text{pH aferido}) = 1,31 + 16,7X + 38,73X^2 \quad R^2 = 0,9439$$

$$Y (\text{pH não aferido}) = 1,78 + 22,67X + 52,47X^2 \quad R^2 = 0,8834$$

CONCLUSÕES

Os melhores índices de germinação são obtidos com 200 mg L⁻¹ de nitrato de cálcio tanto para ameixeira, quanto para nespereira. A dosagem de ácido bórico proporciona maior índice de germinação na dose de 0,05 g/L⁻¹ para nêspereira.

A aferição de pH para 6.0 proporciona maiores índices de grãos de pólen germinados tanto para ameixeira como para nespereira em todas as dosagens estudadas.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

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.

BEYOUNG, H.K. The effects of calcium on pollen germination. **Proceedings of the American Society of Horticultural Science**, Alexandria, v. 86, p. 818-823, June 1965.

BOMBEN, C.; MALOSSINI, C.; CIPRIANI, G.; TESTOLIN, R. & RETAMALES, J. Long term storage of kiwifruit pollen. **Acta Horticulturae**, Amsterdam, v. 498, p. 105-108, 1999.

KWACK, B.H. & BREWBAKER, J.L. The essential role of calcium ion pollen germination and pollen tube growth. **American Journal of Botany**, New York, v.50, n.9, p.859-865, 1963.

MIRANDA, P.A. & CLEMENT, C.R. Germination and storage of pejibaye (*Bactris gasipaes*). palmae pollen. **Revista de Biologia Tropical**, San José, v.38, n.1, p.29-33, 1990.

SAHAR, N. & SPIEGEL, R.P. Citrus pollen storage. **HortScience**, Alexandria, v.15, n.1, p.81-82, 1980.

SOUSA, V.A. de. **Manejo e viabilidade do pólen de *Eucalyptus* spp.** 1988. 155 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba.

STANLEY, R. G. & LINSKENS, H.F. **Pollen: biology, biochemistry and management.** New York: Springer Verlag, 1974. 172p.

PALAVRAS-CHAVES

Cultivo *in vitro*; Palinologia; Melhoramento genético