

ESTUDO DA GERMINAÇÃO DO PÓLEN DO ALGODÃO, *GOSSYPIUM HIRsutum* L., IN VITRO. II – EFEITOS DO ÁCIDO BÓRICO E DO SULFATO DE MANGANÊS *

FRANCISCO CÉLIO GUEDES ALMEIDA **
JOSÉ FORTUNATO DA SILVA ***
JOSÉ FERREIRA ALVES **
FANUEL PEREIRA DA SILVA **
FRANCISCO AÉCIO GUEDES ALMEIDA **

RESUMO

Os efeitos do ácido bórico e sulfato de manganês na germinação e no comprimento do tubo polínico do pólen do algodão, *Gossypium hirsutum* L. foram estudados. As concentrações de ácido bórico (0.015, 0.020, 0.025, 0.030%) e sulfato de manganês (0.070, 0.080, 0.090, 0.100%) foram idealizadas a partir de um meio básico contendo em solução aquosa, 1% de agar, 15% de sacarose, 0.090% sulfato de manganês, 0.030% de ácido bórico, 0.060% de nitrato de cálcio, e um pH ajustado para 7. Nas concentrações estudadas o sulfato de manganês apresentou um efeito significativo no desenvolvimento do tubo polínico, embora, na germinação, seu efeito não foi estatisticamente significativo. A adição de ácido bórico na concentração de 0.030% resultou em um significativo acréscimo na taxa de germinação, embora ausência de significância tenha sido observada para comprimento do tubo polínico nos níveis pesquisados.

PALAVRAS-CHAVE PARA INDEXAÇÃO – Germinação do pólen *in vitro*, Algodão, Solução nutritiva.

SUMMARY

STUDIES IN COTTON POLLEN GERMINATION *IN VITRO*: II – BORIC ACID AND MANGANOUS SULPHATE EFFECTS.

* Extraído do trabalho de tese de mestrado do 2.º autor.

** Professor da Universidade Federal do Ceará e pesquisador do CNPq.

*** Estudante de Mestrado em Fitotecnia do CCA/ UFC.

The effects of boric acid and manganous sulphate upon pollen germination and tube growth of cotton, *Gossypium hirsutum* L., were studied. The levels of boric acid (0.015, 0.020, 0.025, 0.030%) and manganous sulphate (0.070, 0.080, 0.090, 0.1000%) were started from a basal medium containing, in aqueous solution, 1% agar, 15% sucrose, 0.090% manganous sulphate, 0.030% boric acid, 0.060% calcium nitrate, and pH adjusted to 7. The studied concentration for manganous sulphate indicated a significant effect on pollen tube growth. The response for pollen germination was not statistically significant. The resulting data demonstrated that adding 0.030% boric acid the germination percent was significantly increased. However, boric acid concentrations studied show no significant difference in pollen tube length.

1. INTRODUÇÃO

Poucos foram os estudos realizados para testar o efeito do manganês na germinação e no crescimento do tubo polínico. Geralmente, este efeito foi estudado em associação com outros elementos. VASIL¹², constatou que a adição de sul-

fato de manganês ao meio de cultura promovia uma elevação na taxa de germinação do pólen de curcubitáceas, embora o tubo polínico tenha-se mostrado relativamente curto. Quanto ao boro, a sua necessidade de germinação do pólen foi estudada por vários pesquisadores (AGULHON¹; MARTIN & YOCUM⁸; GAUCH & DUGGER⁷; VISSER¹³. A adição de ácido bórico, de um modo geral, aumenta a eficiência da sacarose na germinação do pólen e no crescimento do tubo polínico. PFAHLER⁹ admite que o boro forma com o açúcar um complexo açúcar-boratado (ionizável), o qual se move através da membrana celular mais rapidamente do que as moléculas não boratadas e não ionizadas de açúcar. TAYLOR¹¹ e BARROW⁵, conseguiram excelentes resultados em germinação do pólen de algodão, quando o manganês estava associado com cálcio. ALMEIDA², na tentativa de isolar o efeito do manganês no pólen da mesma planta, obteve 45,2% de germinação e um tubo polínico de 476,5 μ m, com uma concentração de 0,09% de sulfato de manganês. Neste estudo a influência do manganês e do boro no processo germinativo do pólen do algodão ao (*Gossypium hirsutum* L.) foi examinada.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Esta pesquisa foi desenvolvida nos laboratórios de Citogenética e Tecnologia de Sementes do Departamento de Fitotecnia do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Ceará.

No período em que a pesquisa foi realizada, a temperatura nos laboratórios variou de 26 a 29°C e a umidade relativa oscilou de 65 a 80%.

As flores de algodão (CV. IAC-13) usadas neste estudo, foram colhidas de plantas cultivadas no "Campus" da Universidade Federal do Ceará, em Fortaleza. A coleta foi feita diariamente, de 7:30 às 8:30 horas da manhã, e as flores transportadas imediatamente para o laboratório.

Dois experimentos foram realizados no período de fevereiro a maio de 1985, nos quais níveis de sulfato de manganês (0,07, 0,08, 0,09 e 0,10%) e ácido bórico (0,015, 0,02, 0,025 e 0,03) foram estudados partindo-se de um meio básico proposto por ALMEIDA², contendo 1% de agar, 15% de sacarose, 0,09% de sulfato de manganês, 0,03% de ácido bórico, 0,06% de nitrato de cálcio e pH ajustado para 7. Os componentes químicos, após pesados, foram dissolvidos em água destilada. Para uma melhor homogeneização, a solução foi aquecida em banho-maria, à temperatura de 100°C, até que todos os seus componentes fossem completamente dissolvidos.

Com o auxílio de micropipetas de bulbos, 3 gotas de cada solução-tratamento foram adicionadas às lâminas de vidro que, após preparadas, eram armazenadas por um período mínimo de 12 horas nas condições do laboratório.

Aproximadamente 12 a 15 flores foram coletadas e uma massa homogênea de pólen era formada em uma placa de pétri. A transferência do pólen para as lâminas foi feita com um pincel n.º 4. As lâminas contendo os grãos de pólen ficavam encubadas em condições de laboratório por um período de 24 horas. Após esse período, o percentual de germinação e eclosão do pólen, bem como o comprimento do tubo polínico, foram obtidos utilizando-se um microscópio de fabricação "Nikon".

O grão de pólen foi considerado como germinado se o comprimento do seu tubo polínico fosse pelo menos igual ao seu diâmetro. A percentagem de germinação foi calculada sobre uma população tomada ao acaso, na objetiva do microscópio. Para medir o crescimento do tubo polínico, 20 grãos de pólen também selecionados ao acaso, por cada tratamento, sendo 4 repetições de 5 pólen, foram medidos e seus valores registrados em milimicrons (μ m). O grão de pólen que expeliu líquido protoplasmático e não conseguiu formar o tubo polínico, foi considerado eclodido e o percentual de eclosão foi determinado.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

3.1 Sulfato de manganês

Os valores médios, relativos à percentagem de germinação e eclosão do pólen, e crescimento do tubo polínico, em função das concentrações de sulfato de manganês, são apresentados na TABELA 1.

Pelo exame da referida tabela, nota-se que, a despeito da ausência de efeitos significativos para germinação e eclosão de pólen (TABELA 2), a concentração de 0,09% apresentou a maior taxa de germinação (38,1%), apesar do comprimento do tubo polínico ter sido o menor. Resultado semelhante foi encontrado por VASIL¹², estudando a germinação do pólen de cucurbitáceas. No presente estudo, o maior comprimento do tubo polínico foi obtido na concentração de 0,08%, porém, a taxa de germinação do pólen foi somente de 27,3%

(FIGURAS 1 e 2). Nas concentrações estudadas, o efeito do manganês influenciou, significativamente, apenas no crescimento do tubo polínico (TABELA 03).

Como as concentrações de sulfato de manganês não influenciaram, significativamente, na percentagem de germinação do pólen (TABELA 2), admite-se que os baixos valores obtidos possam ser atribuídos ao ataque da lagarta rosada (*Platyedra gossypiella* Saunders). Pois, de acordo com SANDSTEN¹⁰, a ocorrência de pragas era uma das causas que poderiam afetar a viabilidade do grão de pólen.

A maior percentagem de eclosão (51,9%) ocorreu na concentração de 0,07% de sulfato de manganês, que, por sua vez, apresentou a menor taxa de germinação do pólen (TABELA 1). Por outro lado, a concentração de 0,09%, que apresentou a menor taxa de eclosão (39,7%), foi a que teve a maior percentagem de germinação de pólen (38,1%). Es-

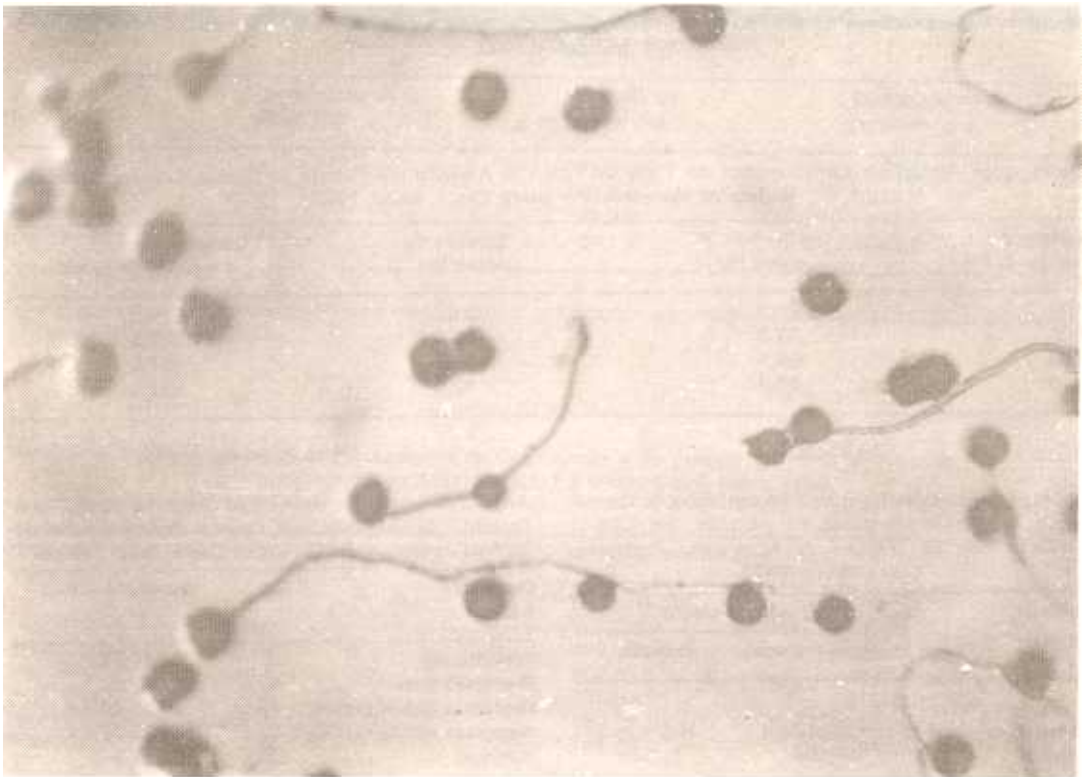


Figura 1 — Germinação do pólen (27,3%) de algodão num meio artificial com 0,08% de sulfato de manganês. 32X.

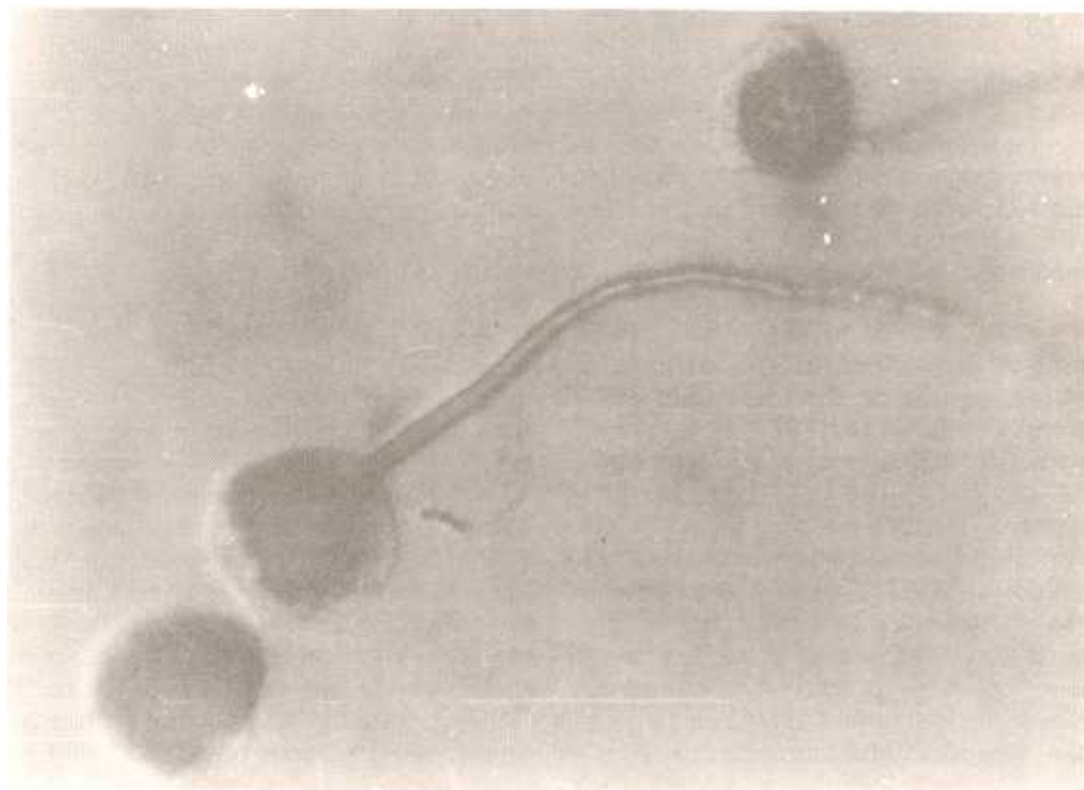


Figura 2 – Comprimento do tubo polínico (1.002,5 μ m) do algodão num meio artificial com 0,08% de sulfato de manganês. 100X.

TABELA I

Germinação, Ecloração e Comprimento do Tubo do Pólen de Algodão em Função de Quatro Concentrações de Sulfato de Manganês. Fortaleza, Ceará, Brasil, 1985.

Sulfato de manganês (%)	Germinação do pólen (%)	Ecloração do pólen (%)	Comprimento do tubo polínico (μ m)
0,07	20,3	51,9	976,2
0,08	27,3	45,4	1.002,5
0,09	38,1	39,7	817,5
0,10	27,7	43,6	832,5

TABELA II

Análise da Variância Relativa à Percentagem de Germinação e Ecloração do pólen de Algodão, em Quatro Concentrações de Sulfato de Manganês. Fortaleza, Ceará, Brasil, 1985.

Causa da Variação	G.L.	Quadrado Médio	
		Germinação	Ecloração
Tratamento	3	320,13 n.s.	158,46n.s.
Resíduo	20	115,04	71,53

TABELA III

Análise da Variância Relativa ao Crescimento do Tubo Polínico de Algodão, em Quatro Concentrações de Sulfato de Manganês. Fortaleza, Ceará, Brasil, 1985.

Causa da Variação	G.L.	Quadrado Médio
Tratamento	3	36.634,77 *
Regressão linear	1	75.952,80 *
Regressão quadrática	1	126,60 n.s.
Regressão cúbica	1	33.835,30 n.s.
Resíduo	12	8.657,84

n.s. = não significativo

* = significativo ao nível de 5% de probabilidade
n.s. = não significativo

tes resultados mostram que houve uma relação inversa entre a percentagem de germinação e a taxa de eclosão de pólen.

3.2 Ácido bórico

Neste experimento, comparou-se a influência de quatro concentrações de ácido bórico na germinação e eclosão do pólen e no crescimento do tubo polínico (TABELA 04).

Pelos resultados contidos nessa TABELA, a comparação das médias, pelo teste de Tukey, mostra que o ácido bórico, nas concentrações 0,015, 0,020, e 0,025%, não apresentou diferenças significativas para os parâmetros germinação e eclosão do pólen. A concentração 0,030% foi a que apresentou melhor taxa de germinação (51,5%, FIGURA 3) e di-

feriu significativamente das demais concentrações. Estes resultados estão em consonância com aqueles obtidos por ALMEIDA². Apesar da ausência de significância para o crescimento do tubo polínico, observa-se, ainda, nas quatro concentrações, comprimentos do tubo polínico superiores a 880 μ m. Os resultados encontrados neste estudo sugerem que a adição de ácido-bórico, na concentração 0,030%, influenciou significativamente na germinação do pólen, o que vem apoiar as afirmações de DICKINSON⁶, ARAKI *et alii*³ e BHANDAL & MALIK⁴

As análises da variância mostram que houve predominância do efeito linear para germinação do pólen e efeito quadrático para a eclosão do pólen (TABELA 5), não sendo observado, contudo, valores de "F" significativos para o crescimento do tubo polínico (TABELA 6).

TABELA IV

Germinação, Eclosão e Comprimento do Tubo do Pólen de Algodão em Função de Quatro Concentrações de Ácido Bórico. Fortaleza, Ceará, Brasil, 1985.

Ácido bórico	Germinação do pólen (%)	Eclosão do pólen (%)	Comprimento do tubo polínico (μ m)
0,015	33,7	43,9 ab	1.007,5
0,020	34,1 b	48,2 a	1.055,0
0,025	32,5 b	49,9 a	912,5
0,030	51,5 a	34,1 b	887,5

1 — médias seguidas da mesma letra na mesma coluna não diferem estatisticamente, ao nível de 5% de probabilidade pelo teste de Tukey.

TABELA V

Análise da Variância Relativa às Percentagens de Germinação e de Eclosão de Pólen de Algodão, em Quatro Concentrações de Ácido Bórico. Fortaleza, Ceará, Brasil, 1985.

Causa da Variação	G.L.	Quadrado Médio	
		Germinação	Eclosão
Tratamento	3	492,73 **	303,74 *
Regressão linear	1	802,85 **	229,61 n.s.
Regressão quadrática	1	521,83 **	616,00 **
Regressão cúbica	1	153,52 n.s.	66,20 n.s.
Resíduo	20	41,99	61,54

** = significativo ao nível de 1% de probabilidade

* = significativo ao nível de 5% de probabilidade

n.s. = não significativo

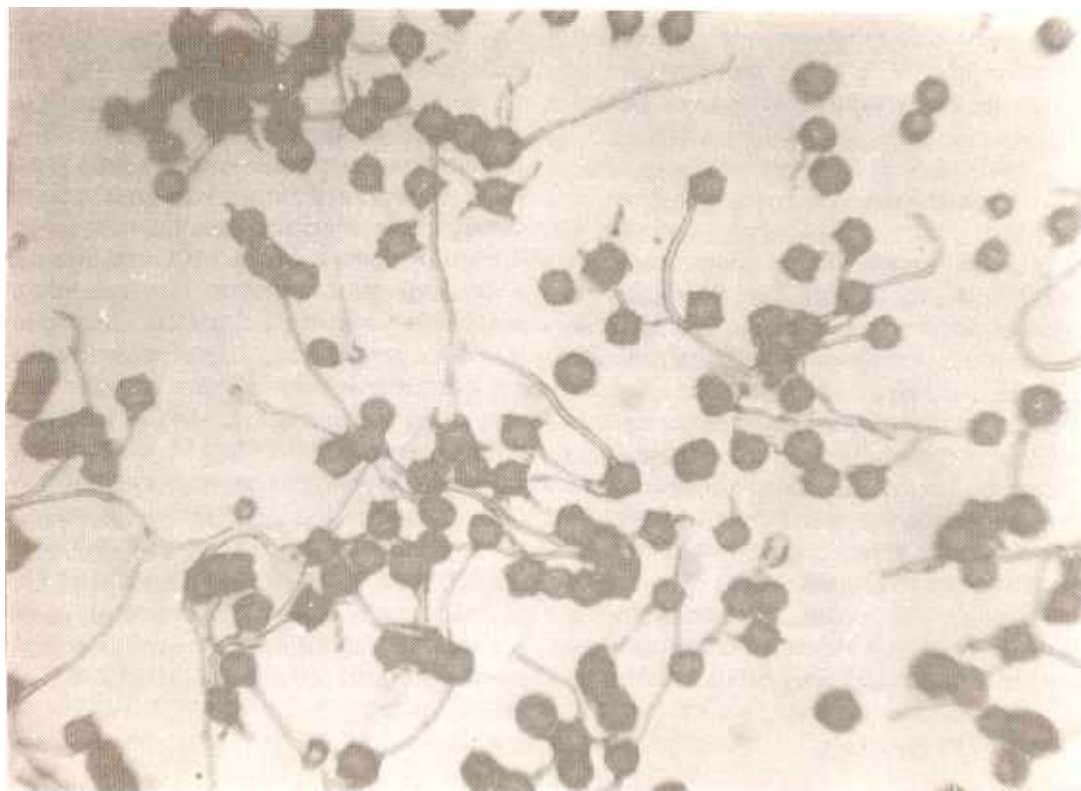


Figura 3 — Germinação do pólen (51,5%) a comprimento do tubo polínico 887,5μm) de algodão num meio artificial com 0,030% de ácido bórico. 32X.

TABELA VI

Análise da Variância Relativa ao Crescimento do Tubo Polínico de Algodão, em Quatro Concentrações de Ácido Bórico. Fortaleza, Ceará, Brasil, 1985.

Causa da Variação	G.L.	Quadrado Médio
Tratamento	3	24.889,67 n.s.
Resíduo	12	28.639,56

n.s. = Não significativo

4. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. AGULHON, H. Emplodiu bore comme angrais calalytique. *Compt. Rend. Acad. Sci. Paris*, 150: 288-291, 1910.
2. ALMEIDA, F.C.G. Effect of short-term storage on viability of pollen from cotton (*Gossypium hirsutum* L). University of Arkansas, 1984. 95p. (Ph.D. Dissertation).
3. ARAKI, H.T. HARADA and T. YARWA. Studies on the botanical characteristics of genus *Dioscorea*. *J. Fac. Agr. Hokaido Univ.*, 60: 229-235, 1981.
4. BHANDAL, I.S. and C.P. MALIK. Effect of boric acid on some oxido-redutase & hidrolase in *Crotalaria Juncea* pollen suspension cultures. *Ind. Jour. of Exp. Biol.*, 20: 390-392, 1982.
5. BARROW, J.R. A new concept in assessing cotton pollen germinability. *Crop. Sci.*, 21: 441-443, 1981.
6. DICKINSON, D.B. Influence of borate and pentaerythritol concentrations on germination and tube growth of *Lilium longiflorum* pollen. *Jour. Amer. Soc. Hort. Sci.* 103(3): 413-416, 1978.
7. GAUCH, H.G. and W.M. DUGGER, Jr. The role of boron in the translocation of sucrose. *Plant. Physiol.*, 28: 457-466, 1953.
8. MARTIN, J.N. and L.E. YOCUM. A study of the pollen and pistils of apples in relation to the germination of the pollen. *Proc. Iowa. Ac. Sc.*, 25: 391-411, 1918.
9. PFAHLER, P.L. In vitro germination and

- pollen tube growth of maize (*Zea mays* L.) pollen. *Canad. Jour. of Bot.*, 45: 839-845, 1967.
10. SANDSTEN, E.P. Some conditions which influence the germination and fertility of pollen. *Univ. Wisc. Agric. Exp. Stn. Res. Bull.*, 4: 149-172, 1909.
 11. TAYLOR, R.M. Germination of cotton (*Gossypium hirsutum* L.) pollen on an artificial medium. *Crop. Sci.*, 12: 243-244, 1972.
 12. VASIL, I.K. Studies on pollen germination of certain cucurbitaceae. *Amer. Jour. Bot.*, 47: 239-247, 1960.
 13. VISSER, T. Germination and storage pollen. *Mededelingen van de Landbouwhogeschool te Wageningen/Nederland*, 55(1): 1-68, 1955.