

VIABILIDADE *IN VITRO* DE GRÃOS DE PÓLEN DE BACURIZEIRO - CLUSIACEAE¹

FRANCISCO DE ASSIS SINIMBÚ NETO², ANTONIO BALDO GERALDO MARTINS³, JOSÉ CARLOS BARBOSA⁴

RESUMO - O bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.) é uma frutífera nativa da Amazônia, que apresenta alogamia acentuada e autoincompatibilidade esporofítica. A viabilidade *in vitro* tem sido utilizada para representar a capacidade potencial do pólen em completar o processo de fertilização. O objetivo do presente trabalho foi estudar a viabilidade de polens de bacurizeiro por meio da germinação *in vitro*, por ser esta uma técnica em que o comportamento germinativo é semelhante *in vivo*. Os ensaios foram conduzidos em laboratório, em um delineamento inteiramente casualizado, analisados em esquema fatorial 2 x 3 x 4, em que: 2=formas de propagação (pé-franco e enxertada); 3=estágios da antese (pré-antese, antese e pós-antese), e 4=concentrações de sacarose (0; 7,5; 10 e 20%), com 10 repetições. Houve diferença significativa na germinação do pólen, sendo que, via polinização manual, o pólen deve ser coletado na antese, enquanto o melhor meio para a germinação *in vitro* é com 7,5 % de sacarose.

Termos para indexação: *Platonia insignis*, meio de cultura, germinação.

IN VITRO VIABILITY OF “BACURY” POLLEN GRAINS

ABSTRACT - The “bacurizeiro” (*Platonia insignis* Mart.) is an Amazon fruitful native tree that has marked allogamy and self-sporophytic incompatibility. The aim of this essay was to study the pollen germination of “bacury” because it is a similar technique to the *in vivo* germination behavior. The viability *in vitro* has been used to represent the potential ability of the pollen to complete the fertilization process. The tests were conducted under laboratory conditions in a completely randomized design, tested in a 2 x 3 x 4 factorial, where: 2= plant forms (grafted and free-standing); 3= pollen stage (pre-anthesis, anthesis and post anthesis) and 4= sucrose concentrations (0, 7.5, 10 and 20%), with 10 repetitions. There is difference in pollen germination, and for hand pollination, pollen should be collected at anthesis, while the best medium for the germination *in vitro* is with 7.5 % of sucrose.

Index terms: *Platonia insignis*, culture medium, germination.

INTRODUÇÃO

O bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.), planta frutífera nativa da Amazônia, pertencente à família Clusiaceae, é uma espécie que apresenta alogamia acentuada e auto-incompatibilidade esporofítica, ou seja, quando as flores são autopolinizadas não há crescimento do tubo polínico. Seu caule é ereto, medindo, em média, de 15 a 25 m, de altura podendo atingir 30 a 35 m, com até 1 m de diâmetro, casca espessa, nos indivíduos maduros, fortemente fendida, com ritidoma sem esfoliação, exsudando um látex amarelo e resinoso, quando lanhado por qualquer ferimento (MOURÃO; BELTRATI, 1995).

É uma das fruteiras mais populares da região Norte do País. Apresenta grande potencialidade para a agroindústria, mediante o processamento da polpa de seu fruto, com sabor e aroma peculiares, o qual é bastante utilizado pelas populações das regiões Norte e Nordeste, nas mais diferentes formas: sucos, sorvetes, cremes, doces, compotas, ou mesmo consumido *in natura*. Nazaré e Melo (1981) e Monteiro (1995) afirmam que o alto poder odorífero do fruto de bacurizeiro pode viabilizar sua utilização como substância aromática, inclusive como aromatizante de iogurtes.

Nas áreas de ocorrência, no Estado do Piauí, o bacurizeiro concentra-se em terrenos delimitados

¹(Trabalho 098-10). Recebido em: 19-04-2010. Aceito para publicação em: 24-09-2010. Parte da tese de Doutorado apresentada a Unesp, para obtenção do grau de Doutor em Agronomia (Produção Vegetal).

²Eng. Agr., M.Sc. Doutorando em Agronomia, área de concentração em Produção Vegetal da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal-SP. E-mail: netosinimbu@ig.com.br

³Eng. Agr., Dr., Professor Assistente Doutor do Departamento de Produção Vegetal da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal-SP. E-mail: baldo@fcav.unesp.br

⁴Eng. Agr., Dr., Professor Titular Doutor do Departamento de Ciências Exatas da FCAV/UNESP, Câmpus de Jaboticabal-SP. E-mail: jcbarbosa@fcav.unesp.br

ao Norte pelo município de Murici dos Portelas (3° 19' 08" latitude sul e 42° 05' 38" longitude oeste), pelo município de Amarante (6° 14' 27" latitude sul e 42° 51' 18" longitude oeste) e por Palmeirais (05° 58' 40" latitude sul e 43° 3' 48" longitude oeste). Nessas regiões, a espécie está presente em áreas de cerrado denominadas de chapadas, caracterizadas pelo solo ácido e de muito baixa fertilidade natural (SOUZA et al., 2000).

No processo germinativo do pólen, que muito se assemelha ao da semente, são requeridas basicamente as mesmas condições ambientais, como temperatura, umidade, oxigênio e nutrientes (SANDSTEN, 1909, citado por SILVA, 1985).

Para os melhoristas, a preservação da viabilidade do pólen soluciona dois dos maiores problemas da polinização artificial, que são o tempo e o espaço, permitindo, assim, cruzamentos entre plantas situadas em diferentes localidades (BISSIRI; NIKNEJAD, 1976).

Durante o armazenamento do pólen, podem ocorrer alterações fisiológicas que concorrem para o decréscimo da sua viabilidade. Algumas mudanças são destacadas por Stanley e Linskens (1974) tais como: alteração na velocidade de respiração, com conversão dos açúcares em ácidos orgânicos, acúmulo dos produtos metabólicos secundários (ácidos orgânicos) e alteração dos lipídios da exina do pólen. King (1965) e Harrington (1970) acrescentaram a esses fatores a auto-oxidação dos lipídios, a possível inativação das enzimas, bem como dos hormônios de crescimento e do ácido pantotênico e, ainda, danos causados por dessecação.

O estado nutricional da planta fornecedora de pólen é, também, um fator a ser considerado. Stanley e Linskens (1974) evidenciaram que a nutrição mineral da planta durante o desenvolvimento do pólen pode afetar a longevidade deste.

Conforme Klaehn e Neu (1960), estudando o manejo para o processo germinativo do pólen, de modo geral, incluíram como os dois fatores mais importantes o período de coleta e a posição dos botões florais na copa. Kobel (1954), trabalhando com frutíferas, obteve maior germinação para o pólen proveniente de flores próximas ao tronco. Klaehn e Neu (1960) atribuíram como causa para a baixa germinação dos polens observada para *Betula papyrifera* e ausência de germinação para *Ulmus americana* às variações da posição do botão floral na planta. Afirmam, ainda, ser provável que a quantidade de reserva nos grãos possa diferir na mesma árvore, de ano para ano. Segundo Boden (1958), as condições de coleta e transporte do pólen podem influir no resultado de viabilidade de germinação. No caso do

Eucalyptus spp., o melhor método de condução, do campo ao laboratório, continua sendo a imersão da extremidade dos galhos cortados em baldes contendo água. O autor salienta que a condução das flores envolvidas em polietileno poderia levar à perda quase total da fertilidade.

Dantas et al. (2005), procurando identificar a viabilidade do pólen e o desenvolvimento do tubo polínico em macieira, em São Joaquim (SC), concluíram que a sacarose em concentrações entre 15% e 25% pode ser empregada com sucesso para a germinação *in vitro* de grãos de pólen.

Pio et al. (2008) constataram que a melhor porcentagem de germinação de grãos de pólen de maracujazeiro-doce é conseguida utilizando-se de pólen fresco, em meio de cultura líquido, composto por 50 g L⁻¹ de sacarose, 0,2 g L⁻¹ de ácido bórico e 2 g L⁻¹ de nitrato de cálcio.

Embora o bacurizeiro venha destacando-se em termos econômicos dentre as fruteiras nativas do Brasil, poucos trabalhos de pesquisa já foram desenvolvidos, principalmente relacionados à germinação e preservação de pólen dessa espécie. Assim, o objetivo desta pesquisa foi avaliar o comportamento do pólen de bacurizeiro em meio de cultura artificial.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido no Laboratório de Citogenética do Departamento de Fitotecnia, do Centro de Ciências Agrárias da Universidade Federal do Piauí, localizado em Teresina-PI, com 05° 05' 12" latitude sul e 42° 48' 42" de longitude oeste, a uma altitude de 78 m. A região apresenta clima tropical, com precipitação média anual de 1.377 mm. Apresenta evapotranspiração potencial média anual de 2.973 mm ano⁻¹, umidade relativa do ar média de 69,9%, insolação total de 2.625 h, temperatura média anual de 28° C, fotoperíodo médio anual de 12 horas e 19 minutos dia⁻¹ (MEDEIROS, 2006).

O pólen de bacurizeiro foi retirado de plantas de pés-francos, oriundos da Fazenda Jardineira, do município de Palmeirais-PI, e de plantas enxertadas da área de plantio da EMBRAPA MEIO-NORTE, em Teresina-PI.

A coleta de flores, uma para cada tratamento, foi realizada quando estas estavam em pré-antese (24 h antes da abertura), antese (0 h) e pós-antese (24 h após) e entre as 7 e 8 h. Utilizando tesoura esterilizada em álcool etílico, coletaram-se as flores com corte em seu pedicelo, sendo acondicionadas em saco de plástico bem fechado e colocadas em caixas de poliestireno expandido (Isopor[®]). Em seguida,

foram conduzidas ao laboratório.

Os meios de cultura utilizados na germinação dos grãos de pólen variaram quanto às concentrações de sacarose: 0; 7,5; 10 e 20%, dissolvidas, respectivamente, em 100 mL de água destilada com o auxílio de agitador magnético e esterilizadas em autoclave. O pH da solução foi ajustado para $7 \pm 0,2$, com a utilização de NaOH ou HCl, ambos a 0,5N. Os meios de cultura foram aquecidos em forno micro-ondas até atingir o ponto de fervura, adicionando-se o ágar (0,5%) lentamente e, concomitantemente, promovendo a agitação com bastão de vidro. Em seguida, foram transferidos para “erlenmeyers” e, após resfriarem, foram vedados e estocados em congelador até serem usados.

Para a extração do pólen das flores, fez-se uso de um pincel nº 4, pincelando-se as anteras abertas sobre 96 placas de Petri, colocando o meio de cultura sobre os polens. As placas foram mantidas em incubadora do tipo B.O.D, com temperatura de 27 °C, iniciando-se as observações quatro horas após a inoculação.

As observações foram realizadas em microscópio “Spencer”, com objetiva de aumento 10X, dividindo-se o campo do microscópio em 10 partes, com avaliações independentes. A média das observações constituiu a média da parcela.

A avaliação da germinação do pólen foi feita pelo percentual de germinação, obtido pela razão entre o número de pólenes germinados e o número total de pólenes tomados ao acaso na objetiva do microscópio.

Segundo a metodologia de Cook e Stanley (1960), que foi enfatizada por Sprague (1977), o grão de pólen foi considerado germinado quando o comprimento de seu tubo polínico emitido ultrapassou a máxima extensão do grão de pólen correspondente. As porcentagens de germinação foram calculadas sobre lotes de polens que variaram de 100 a 300 grãos tomados ao acaso na objetiva do microscópio óptico. Esta quantidade utilizada avalia satisfatoriamente a porcentagem de germinação para os limites normalmente encontrados, segundo relato de Stanley e Linskens (1974).

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em esquema fatorial 2 (formas de propagação) x 3 (estágios da antese) x 4 (concentrações de sacarose) com 4 placas para cada combinação de forma de propagação, estágio da antese e meio de cultura, realizando-se 10 leituras em cada placa de Petri., totalizando 960 leituras. Os dados foram avaliados estatisticamente, por meio de análise de variância, utilizando o teste F, seguindo o modelo de blocos casualizados, em esquema fatorial. As médias

oriundas dos diferentes tratamentos foram comparadas pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade. A análise estatística foi efetuada pelo uso do software estatístico AGROSTAT (BARBOSA; MALDONADO JUNIOR, 2008).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Constatou-se efeito significativo de todos os fatores estudados (forma de propagação, estágio da antese e concentração de sacarose no meio de cultura), bem como da interação entre eles sobre a germinação de pólen de bacuri (Tabela 1). Na referida tabela, é apresentada a análise de variância para porcentagem de germinação de pólen em doses de sacarose, em plantas de bacuri de pés-francos e enxertadas onde houve diferença significativa no percentual de germinação do pólen do bacuri entre plantas de pés-francos e enxertadas ao nível de 5% de probabilidade ($p=2,55\%$), sendo que, para plantas de pés-francos, o percentual de germinação de pólen foi de 21,67%, enquanto para plantas enxertadas foi de 19,74% de acordo com teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade (Tabela 2). Esta variabilidade de resposta quanto às diferentes plantas também foi observada por Sales et al. (2006), ao estudarem o pólen da variedades de citros: pera, natal e valência.

Quanto ao estágio da antese, também houve diferença significativa, ao nível de 1% de probabilidade ($p>0,0001$) do percentual de germinação entre os estágios da antese (pré-antese, antese e pós-antese), sendo que, na antese, o percentual de germinação de pólen (28,71%) foi superior aos demais, sendo que, na pré-antese (17,81%) e na pós-antese (15,61%), não diferiram entre si significativamente (Tabela 3).

Considerando o efeito do meio de cultura na germinação do pólen de bacuri, a concentração de sacarose de 7,5 g/100 mL proporcionou um percentual de 42,60 %, sendo superior estatisticamente a 10 g/100 mL, que resultou no percentual de 26,36%, e aos tratamentos 20 e 0 g/100 mL, que proporcionaram, respectivamente, percentual de germinação de 7,10 e 6,77% (Tabela 4).

Observa-se que o percentual de germinação para as diferentes formas de propagação é influenciado pelo estágio da antese. Quanto ao estágio da antese, somente na pré-antese houve diferença significativa entre forma de propagação das plantas; nos demais estágios da antese, não houve diferença significativa entre formas de propagação de plantas (enxertada e pé-franco). Para as duas formas de propagação, os maiores valores de germinação de pólen foram obtidos no estágio da antese (29,39% em plantas enxertadas e 28,01% em plantas de pés-francos) (Figura 1).

Quanto aos meios de cultura, para as duas formas de propagação, as maiores germinações foram obtidas para a concentração de sacarose 7,5 %, com 44,30 e 40,91% para pé-franco e enxertada, respectivamente, seguida da concentração de 10 g de sacarose com percentual de 31,40 e 21,33% (Figura 2). Para tais concentrações (7,5 e 10 g) de sacarose no meio de cultura, a forma de propagação pé-franco proporcionou maiores taxas de germinação, sendo estatisticamente superior ao nível de 5% de probabilidade do que a forma enxertada. Já para as concentrações (0 e 20 g) de sacarose no meio de cultura, a forma de propagação enxertada apresentou maior percentual de germinação do que a forma pé-franco, sendo que as mesmas não diferiram estatisticamente entre si.

Observando a relação entre estágio da antese e meios de cultura, representada na Figura 3, a antese proporcionou maiores taxas de germinação em relação às demais, independentemente da concentração de sacarose, sendo estatisticamente superiores aos demais estágios da antese, exceto na concentração 0 g/100 mL de sacarose.

O número de grãos de pólen germinados, independentemente da planta de origem, se pé-franco ou enxertada, tem o mesmo comportamento, havendo um aumento de resposta até a concentração de 7,5 g, a partir da qual se tem um decréscimo acentuado.

No entanto, os polens coletados de flores de plantas não enxertadas tiveram maior germinação em meio com 7,5 g de sacarose, provavelmente em função da variabilidade, o que não acontece com pólen das flores de plantas enxertadas (Figura 2). Esta variabilidade de resposta quanto às diferentes plantas também foi observada por Sales et al. (2006), ao estudarem o pólen das variedades de citros: pera, natal e valência.

A época de coleta de pólen tem efeito significativo na porcentagem de germinação, uma vez que os melhores resultados são observados quando ela foi realizada na antese, e os piores, quando em pré-antese.

Brasileiro e Amaral (2009), trabalhando com estimativa do sistema reprodutivo e da convergência floral de espécies do gênero *Ocimum*, com vistas ao melhoramento genético, concluíram que a antese, em *O. canum*, ocorreu entre 9 e 10 h, em *O. officinalis* entre 9h30 e 10h30, e a viabilidade polínica em *O. canum*, *O. officinalis* e *O. selloi* foi de, respectivamente, 97%, 96% e 98% e que, na pré-antese, houve a liberação dos grãos de pólen e a deposição destes sobre os estigmas, que já se encontravam receptivos nas três espécies.

Em programas de hibridação, sugere-se que o processo de polinização artificial pode ser realizado na pré-antese, pois os estigmas encontram-se receptivos e os grãos de pólen possuem alta viabilidade em todas as espécies estudadas (BRASILEIRO; AMARAL, 2009)

Quanto à concentração de sacarose no meio de cultura, observa-se que há correspondência positiva entre porcentagem de germinação e concentração até 7,5 g, a partir de quando se tem diminuição de resposta, atingindo 0% de germinação a 20 g para os polens coletados em pré e pós-antese e para ambos os tipos de plantas (Figura 3). Consoante DERIN e ETI (2001), estudando taxa de germinação de grãos de pólen de romã, concluíram que os melhores resultados foram obtidos em meio de cultura contendo 10 g L⁻¹ de sacarose.

TABELA 1 – Análise de variância para porcentagem de germinação de pólen em doses de sacarose, em plantas de bacuri de pés-francos e enxertadas. UFPI, Teresina-PI.

Causas de Variação	GL	SQ	QM	F
Efeito Fator A	1	223,977	223,977	5,06*
Efeito Fator B	2	7868,321	3934,160	88,87**
Efeito Fator C	3	53448,401	17816,134	402,48**
Ef. Int. Ax B	2	605,452	302,726	6,84**
Ef. Int. Ax C	3	1720,349	573,450	12,95**
Ef. Int. Bx C	6	4042,156	673,693	15,22**
Ef. Int. Ax Bx C	6	1983,854	330,642	7,47**

Coefficiente de Variação(%): 32,13

Fator A – Plantas enxertadas e pés-francos

Fator B – Estágios da antese

Fator C – Meios de cultura

TABELA 2 - Teste para comparação das médias de porcentagem de germinação de pólen para plantas de pé-franco e enxertada de bacuri. Teresina-PI, 2010.

Teste de Tukey	
Forma de propagação	germinação (%)
Pé-franco	21,67 a
Enxertada	19,74 b

DMS(5%) = 1,69

TABELA 3 - Teste para comparação das médias de porcentagem de germinação para estágios da antese em plantas de pé-franco e enxertada de bacuri. Teresina-PI, 2010.

Teste de Tukey	
Estágio da antese	germinação (%)
Antese	28,70 a
Pós-antese	17,81 b
Pré-antese	15,61 b

DMS(5%) = 2,48

TABELA 4- Teste para comparação das médias de porcentagem de germinação em meio de cultura, para diferentes concentrações de sacarose. Teresina-PI, 2010.

Teste de Tukey	
Meio de cultura	germinação (%)
7,5	42,60 a
10	26,36 b
20	7,09 c
0	6,77 c

DMS(5%) = 3,14

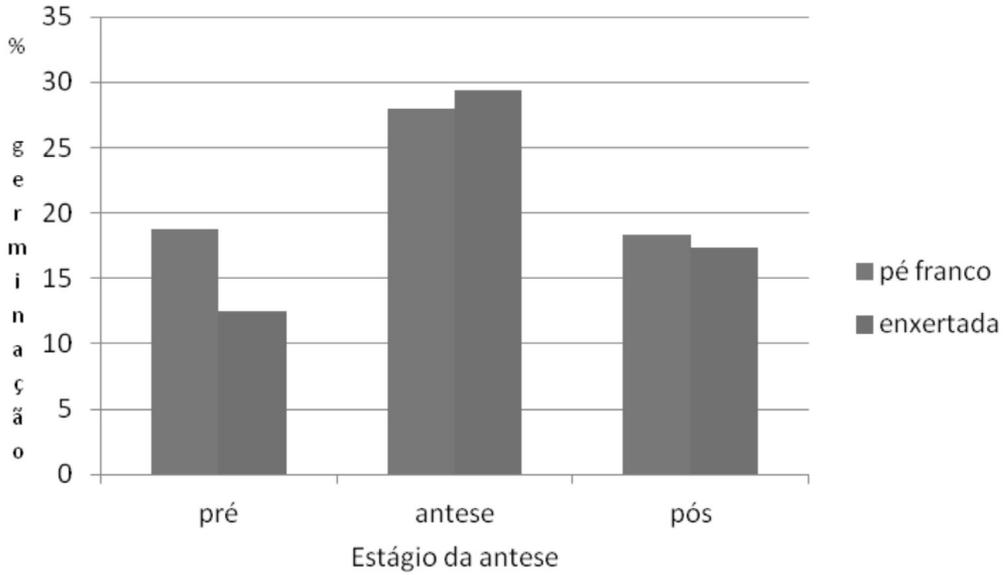


FIGURA 1 - Porcentagens de germinação de pólen de bacuri de flores de pé-franco e enxertada, em pré-antese, antese e pós-antese. UFPI, Teresina-PI, 2010.

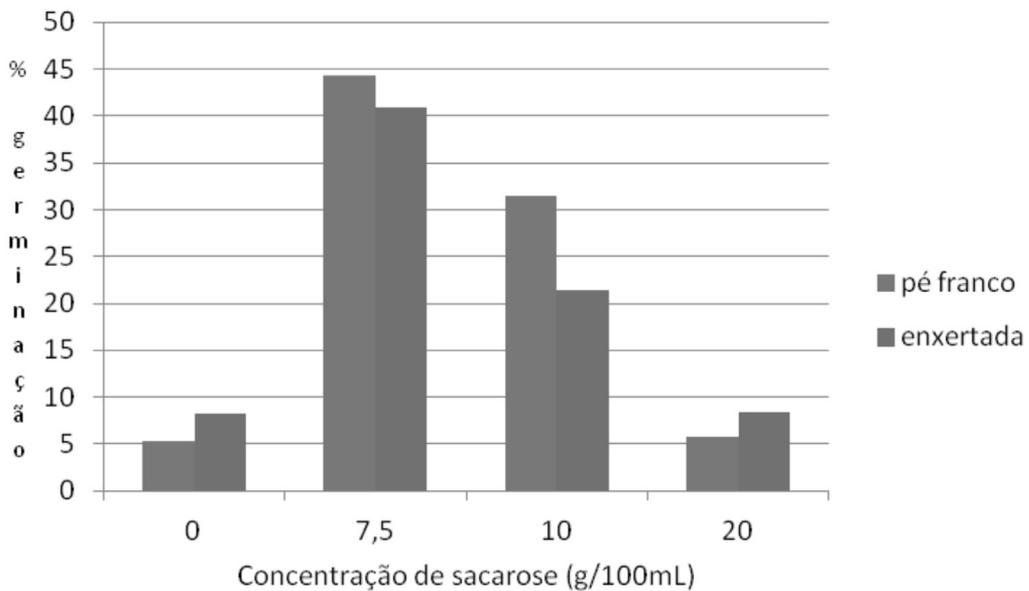


FIGURA 2 - Porcentagens de germinação de pólen de bacuri de flores de pé-franco e enxertadas, nos meios de cultura com diferentes concentrações de sacarose. UFPI, Teresina-PI, 2010.

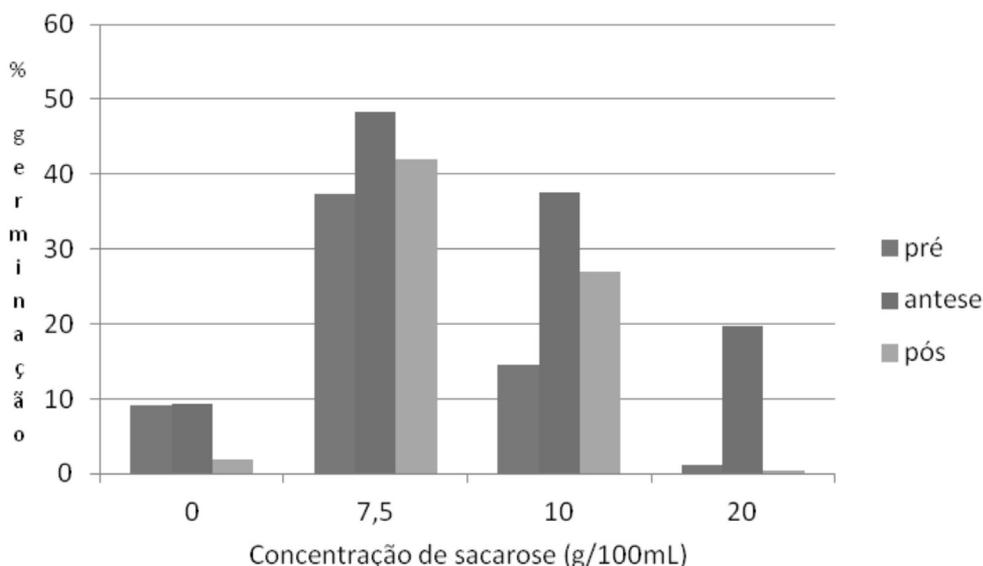


FIGURA 3 -Porcentagens de germinação de pólen de bacuri de flores de pé-franco e enxertadas, em pré-antese, antese e pós-antese e nos meios de cultura com as diferentes concentrações de sacarose. UFPI, Teresina-PI, 2010.

CONCLUSÕES

1- Há diferença significativa na porcentagem de germinação de grãos de pólen entre plantas oriundas de diferentes formas de propagação.

2- Para a polinização manual de bacurizeiro, o pólen deve ser coletado durante a antese.

3- O melhor meio de cultura para a germinação de polens de bacurizeiro é com 7,5 g L⁻¹ de sacarose.

REFERÊNCIAS

BARBOSA, J.C.; MALDONADO JÚNIOR. **Sistemas para análises estatísticas de ensaios agrônômicos (AgroEstat)**. Jaboticabal: FCAV,UNESP,Câmpus de Jaboticabal. 2008

BISSIRI, M. K.; NIKNEJAD, M. Effects temperature and humidity on pollen viability of six rose. *Especies. Canadian Journal of Plant Science*, Ottawa, v. 56, p. 517-523, 1976.

BODEN, R. W. Handling and storage of pollen in *Eucalyptus* breeding. **Australian Forestry**, Camberra, v.12, n.2, p.73-81, 1958.

BRASILEIRO, P. B.; AMARAL, C. L. F. Estimativa do sistema reprodutivo e da convergência floral de espécies do gênero *Ocimum*, com vistas ao melhoramento genético. In.: REUNIÃO ANUAL DA SOCIEDADE BRASILEIRA PROGRESSO DA CIÊNCIA. 59., 2009, Salvador. **Resumos...** Disponível em: <<http://www.servicos.sbpnet.org.br/sbpc/59ra/senior/livroeletronico/resumos/R6069-1.html>>. Acesso em: 01 out. 2009.

COOK, S. A.; STANLEY, R. G. Tetrazolium chloride as an indicator of pine pollen germinability. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v.9, n.5, p.134-136, 1960.

DANTAS, A. C. M.; PEIXOTO, M. L.; NODARI, R. O.; GUERRA, M. P. Viabilidade do pólen e desenvolvimento do tubo polínico em macieira (*Malus spp.*) **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal. v.27, n.3, p. 356-359, dez. 2005.

DERIN, K.; ETI, S. Determination of pollen quality, quantity and effect of cross pollination on the fruit set and quality in the pomegranate. **Turkish-journal-of-Agriculture-and-Forestry**, Adana, v.25, n.3, p. 169-173, 2001.

- HARRINGTON, I. F. Seed and pollen storage. In: FRANKEL, O. K.; BENNET, E. **Genetic resources in plants: their exploration and conservation.** Oxford: Blackwell, 1970. p. 469-489.
- KING, J. R. The storage of pollen particularly by the freeze-drying method. **Bulletin of the Torrey Botanical Club**, Lawrence, v.92, p.270-287, 1965.
- KLAEHN, F.W.; NEU, R.L. Hardwood pollen study. **Silvae Genetica**, Frankfurt, v.9, n.2, p.44-48, 1960.
- KOBEL, F. **Lehrbuch des Obstes auf physiologischer Grundlage.** Zweite Auflage, Berlin: Springer Verlag, 1954.
- MEDEIROS, R. M. **Climatologia do município de Teresina.** Teresina: Secretaria do Meio Ambiente e Recursos Naturais do Estado do Piauí, 2006, 28p.
- MONTEIRO, A. R. **Estudo da cinética de extração dos sólidos da casca do fruto de bacuri (*Platonia insignis*, Mart.) com CO₂ líquido.** 1995. 66 f. Dissertação (Mestrado)-Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1995.
- MOURÃO, K. S. M.; BELTRATI, C. M. Morfologia dos frutos, sementes e plântulas de *Platonia insignis*, Mart. (Clusiaceae). II. Morfoanatomia dos frutos e sementes maduros. **Acta Amazônica**, Manaus, v. 25, n. 1/2, p. 33-45, 1995.
- NAZARÉ, R. F. R. de; MELO, C. F. M. de. **Extração do aroma de bacuri e sua utilização como flavorizante em iogurte natural.** Belém: Embrapa-CPATU, 1981. 13 p. (Circular Técnico, 15).
- PIO, L. A. S.; RAMOS, J. D.; HALFE, O. M.; MOREIRA, R. A.; SANTOS, V. A. dos; PASQUAL, M. Estudo da viabilidade do pólen de maracujá-doce (*Passiflora edulis Sims f. flavicoupa*) In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 20., 2008. Vitória. **Anais...** 2008. Disponível em: <http://200.137.78.15/cd_XXCBF/paginas/MelhorGenBioestatistica/20080707_153913.pdf>. Acesso em: 07 nov. 2009.
- SALLES, L.; RAMOS, J. D.; PASQUAL, M.; JUNQUEIRA, K. P.; SILVA, A. B. da. Sacarose e pH na germinação *in vitro* de grãos de pólen de citros. **Ciência Agrotecnica**, Lavras, v.30, n.1, p. 170-174, 2006.
- SANDSTEN, E. P. Some conditions which influence the germination and fertility of pollen. **Research Bulletin Wisconsin Agricultural Experiment Station**, Madison, v. 1, n. 6, p. 149-172, 1909.
- SILVA, J. F. da. **Germinação de pólen de algodão (*Gossypium hirsutum* L.).** 1985. 51 f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal do Ceará, Fortaleza, 1985.
- SOUZA, V. A. B. de; ARAÚJO, E. C. E.; VASCONCELOS, L. F. L.; ALVES, R. E. **Bacurizeiro (*Platonia insignis*, Mart.).** Jaboticabal: Funep, 2000. 72 p. (Série Frutas Nativas, 11).
- SPRAGUE, H. Seed and pollen handling. In: TREE IMPROVEMENT SHORT COURSE. Raleigh: Carolina State University, 1977. p. 90-102.
- STANLEY, R.G.; LINSKENS, H. F. **Pollen biology biochemistry management.** Berlin: Springer-Verlag, 1974. 307p.