

GERMINAÇÃO *in vitro* DE PÓLEN DE CAIAUÉ

Alex Queiroz Cysne^{1*}, Flávia Batista Gomes¹, Wanderlei Antonio Alves de Lima², Cristiane Krug¹

SAP 19741 Data envio: 18/10/2017 Data do aceite: 09/01/2018
Sci. Agrar. Parana., Marechal Cândido Rondon, v. 17, n. 3, jul./set., p. 305-310, 2018

RESUMO - O caiaué, palmeira nativa das Américas, é essencial para o melhoramento genético do dendezeiro, sendo seu pólen indispensável no desenvolvimento de híbridos. Em virtude da relevância desta espécie para a palmicultura, objetivou-se avaliar os efeitos da concentração de sacarose, quantidade de pólen e fotoperíodo na germinação de grãos de pólen de caiaué com vistas no estabelecimento de procedimentos adequados para a obtenção da máxima expressão da viabilidade. Foram realizados três experimentos que avaliaram o teor de sacarose (0, 5, 10, 15 e 20%) no meio de cultura para germinação de grãos de pólen; número de grãos de pólen para contagem (50, 100, 200, 300 e 400) em teste de germinação e um esquema fatorial 2 x 2 para avaliar o efeito do fotoperíodo (luz e escuro) e do tempo de incubação (1 e 2 h) na germinação. A percentagem ideal de sacarose no meio de cultura para que ocorra a germinação de grãos de pólen de caiaué é 8,1%. O número ideal de grãos de pólen a serem contabilizados é 50. A presença ou a ausência de luz não interferiram na germinação e os grãos de pólen devem ser incubados por 2 h.

Palavras-chave: *Elaeis oleifera* (Kunth) Cortés, sacarose, viabilidade polínica.

In vitro GERMINATION OF AMERICAN OIL PALM POLLEN

ABSTRACT - The American oil palm, native palm tree, is essential for the genetic improvement of the oil palm, being its essential pollutant for the development of hybrids. Given the considerable importance of this species for palm culture, the objective was to evaluate the effects of sucrose concentration, amount of pollen and photoperiod on the germination of American oil palm pollen grains, with a view to establishing adequate procedures to obtain maximum expression of viability. Were evaluated three experiments that evaluated the sucrose content (0, 5, 10, 15 and 20%) in the culture medium for germination of American oil palm pollen grains; Number of pollen grains for counting (50, 100, 200, 300 and 400) in germination test and factorial design 2 x 2 to evaluate the effect photoperiod (light and dark) and of incubation time (one and two hours) on germination. The ideal percentage of sucrose in the culture medium for germination of American oil palm pollen grains is 8.1%; the ideal number of pollen grains to be counted is 50 grains; the presence or absence of light does not interfere with germination; and the pollen grains should be incubated for 2 h.

Keywords: *Elaeis oleifera* (Kunth) Cortés, sucrose, pollen viability.

INTRODUÇÃO

O caiaué (*Elaeis oleifera* (Kunth) Cortés), também conhecido como dendezeiro americano, é uma palmeira oleaginosa nativa das Américas do Sul e Central que pertence ao mesmo gênero do dendezeiro africano (*E. guineensis* Jacq.) (BARCELOS et al., 2015). O caiaué ainda não é explorado em cultivos comerciais devido, principalmente, à sua baixa produtividade em óleo, quando comparado ao seu parente africano. Entretanto, a espécie americana tem menor porte em altura, garantindo maior vida útil para exploração comercial e destacando-se também na resistência a doenças, particularmente ao amarelecimento fatal (AF), de etiologia ainda desconhecida e que, representa o maior problema da dendeicultura da América Latina (LOPES et al., 2012).

Além disso, essa palmeira apresenta outras características valiosas como: melhor qualidade de óleo; baixa atividade de lipases no mesocarpo dos frutos maduros, o que permite um maior tempo entre a colheita e o processamento dos frutos; considerável valor nutricional,

devido ao alto teor de vitamina A e E, alta adaptabilidade ambiental, visto que apresenta maior tolerância ao déficit hídrico, solos encharcados e manejo deficiente, e apresenta tolerância ou resistência a doenças e insetos-praga (CORLEY; TINKER, 2015).

Diante do potencial da introdução de características de interesse do caiaué no germoplasma de dendezeiro, programas de melhoramento genético tanto no Brasil como em outros países das Américas têm trabalhado com a hibridação entre espécies (LIMA et al., 2017). Sendo assim, a sustentabilidade da dendeicultura depende de avanços na área do melhoramento genético, que por sua vez, está diretamente ligado ao caiaué, que devido à sua ampla variabilidade pode gerar ganhos genéticos suficientes para obtenção de híbridos interespecíficos (HIEs) tão produtivos quanto os híbridos intraespecíficos de dendê (LOPES et al., 2012).

Nesta perspectiva, a utilização de pólen de caiaué com alta viabilidade torna-se indispensável para o sucesso do melhoramento genético, tanto para a obtenção de

¹Mestre em Agronomia, Analista A, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA/Amazônia Ocidental), rodovia AM-010, km 29, estrada Manaus/Itacoatiara, caixa postal 319, CEP 69010-970, Manaus, Amazonas, Brasil. E-mail: alex.cysne@embrapa.br.

*Autor para correspondência.

²Doutor, Pesquisador, Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária (EMBRAPA/Cerrados), rodovia BR-020, km 18, caixa postal 08223, CEP 73310-970, Planaltina, Distrito Federal, Brasil. E-mail: wanderlei.lima@embrapa.br.

híbridos intra como interespecíficos de caiaué, sendo este último o doador de gametas masculinos, como o HIE, conhecido como Brunca, onde o parental feminino é um híbrido intraespecífico de caiaué resultante de cruzamentos de materiais da Costa Rica, Panamá e Colômbia (ALVARADO et al., 2010). Além disso, recentemente procedimentos específicos, com vistas no aumento da taxa de germinação de sementes de caiaué estão sendo desenvolvidos (LIMA et al., 2017), a exemplo do que já vem ocorrendo para dendezeiro e HIE.

Assim, a análise da viabilidade polínica, por meio da germinação dos grãos de pólen, é fundamental para o sucesso da realização de cruzamentos, em programas de melhoramento entre as espécies caiaué e dendê, sendo recomendada uma viabilidade de no mínimo 70% de germinação dos grãos de pólen de dendezeiro (CUNHA et al., 2007).

Nas palmeiras, as condições para germinação de pólen são consideradas amplas e resultados são obtidos utilizando-se diversos açúcares (REED, 1979). Geralmente são utilizados meios de cultura semisólidos preparados com ágar e sacarose, que além de fornecerem energia para o desenvolvimento do tubo polínico, são responsáveis pelo equilíbrio osmótico entre o pólen e o meio de cultura (CHIA et al., 2009). Soares et al. (2008) apontam que a germinação *in vitro* do pólen está associada à diversos fatores, como a espécie vegetal, o horário e o método de coleta, o fotoperíodo, a temperatura, o período de incubação e a presença de nutrientes no meio. Chagas et al. (2010) complementam destacando ainda a necessidade de ajustes na composição dos meios de cultura de acordo com cada espécie.

Apesar da extensa literatura abordando germinação de pólen *in vitro* de diversas espécies florestais e agrícolas, para o caiaué, apenas alguns estudos apresentam a viabilidade de seu pólen, sempre em comparação ou utilizando da metodologia para o pólen de dendezeiro, e fazendo uso de meios de cultura adaptados para testes de germinação de pólen para esta segunda espécie (ALVARADO et al., 2000; CHIA et al., 2009). Assim, até o momento, para o caiaué, as condições adequadas para a realização de testes *in vitro* de viabilidade polínica, não estão definidas.

Diante do exposto, objetivou-se com o presente trabalho avaliar os efeitos da concentração de sacarose, quantidade de pólen e fotoperíodo na germinação de grãos de pólen de caiaué com vistas no estabelecimento de procedimentos adequados para a obtenção da máxima expressão da viabilidade.

MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi conduzido na Embrapa Amazônia Ocidental, Manaus (AM). Os pólenes utilizados foram originários de plantas de caiaué, com idade superior a 30 anos, pertencentes ao banco de germoplasma existente no Campo Experimental do Rio Urubu, pertencente à Embrapa e localizado no município de Rio Preto da Eva (AM).

A inflorescência masculina foi isolada, utilizando-se saco de lona, específico para este gênero (n.8), em torno de 10 dias antes da antese. Quando a inflorescência apresentou dois terços de suas flores no estágio de antese completa foi realizada sua colheita, permanecendo ensacada durante 4 h em sala climatizada. Após este período os pólenes foram coletados em recipiente plástico, anexado ao saco de lona. Em seguida foi submetido a uma secagem de 18 h sobre sílica gel, peneirado (peneira de 170 mesh) e submetido a mais uma secagem de 24 h sobre sílica gel. Depois de seco, os pólenes foram transferidos para microtubo tipo Eppendorf® e acondicionados a vácuo em frascos tipo Castellani e armazenados em freezer a -5°C (CUNHA et al., 2007).

Para realização deste trabalho foram realizados três experimentos consecutivos e interdependentes onde foram avaliados os efeitos dos tratamentos na germinação do grão de pólen de caiaué. Em cada experimento foi preparada uma suspensão em água destilada com 0,010 g mL⁻¹ de pólen de caiaué, 160 µL desta suspensão foi pipetada sobre a superfície do meio de cultura, em cada placa de Petri e distribuída com o auxílio de uma alça de Drigalsky.

Após inoculação, as placas foram incubadas em câmara climatizada regulada para temperatura de 40°C ± 2°C, em escotofase contínua por 2 h nos experimentos um e dois. Para realizar a contagem e estimar a percentagem de grãos de pólen germinados, utilizou-se microscópio óptico com objetiva de 10x. Considerou-se germinados os grãos de pólen cujo comprimento do tubo polínico tivesse ultrapassado seu diâmetro.

No primeiro experimento foi testado o teor de sacarose presente no meio de cultura, que propiciasse a obtenção da melhor taxa de germinação dos grãos de pólen. Utilizou-se o meio de cultura sacarose-ágar (1,2 g de ágar em 100 mL de água destilada) e sacarose nas concentrações de 0%, 5%, 10%, 15% e 20% (p/v). Após o preparo, os meios de cultura foram vertidos na quantidade de 15 mL por placa de Petri de 90 mm de diâmetro. Para cada concentração foram realizadas quatro repetições, sendo cada placa de Petri considerada uma unidade experimental. A avaliação constou da contagem aleatória de 100 grãos de pólen em cada placa de Petri.

No segundo experimento foi determinada o tamanho ideal da amostra de grãos de pólen a ser utilizada no teste de determinação da viabilidade polínica. Foram avaliadas cinco quantidades de grãos de pólen: 50, 100, 200, 300 e 400 grãos de pólen, por placa de Petri. O meio de cultura adotado neste experimento baseou-se na melhor combinação de concentração de sacarose obtida no primeiro experimento: 1,2 g de ágar, 8% de sacarose e 100 mL de água destilada. Para cada quantidade de pólen avaliada, foram realizadas quatro repetições, de forma que, cada repetição foi representada por uma placa de Petri.

No terceiro experimento foi observada a influência do tempo de incubação e o regime de luz na taxa de germinação dos grãos de pólen. O experimento foi realizado em um esquema fatorial 2 x 2, onde foi testado o

efeito do fotoperíodo (1 e 2 h de luz; 1 e 2 h de escuro) e o tempo de incubação (1 e 2 h em câmara climatizada regulada em temperatura de $40^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$). Foi utilizado o meio de cultura sacarose-ágar (1,2 g de ágar, 8% de sacarose e 100 mL de água destilada) e realizada a contagem de 50 grãos de pólen em cada placa de Petri, como definido nos ensaios anteriores. Cada tratamento foi composto por seis repetições, sendo, cada placa de Petri uma parcela.

O delineamento experimental utilizado foi inteiramente casualizado, os dados obtidos foram submetidos à análise de variância sem transformação, uma vez que, a pressuposição de normalidade do desvio (ϵ) foi satisfeita pelo teste de Shapiro-Wilk nos três experimentos. No experimento um as médias foram submetidas à análise de regressão e nos experimentos dois e três as médias foram comparadas pelo teste de Tukey a 5% de

probabilidade de erro, com auxílio do programa estatístico Sisvar 5.6 (FERREIRA, 2014).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

O percentual de germinação de pólen para os diferentes níveis de sacarose variou de 19 a 49% (Figura 1). O coeficiente de determinação (r^2) foi de 0,91, demonstrando um bom ajuste de dados ao modelo polinomial de terceiro grau. A considerável amplitude observada entre o meio de cultura sem sacarose e o encontrado na concentração de 5% (49% de viabilidade do pólen) justifica a relevante necessidade deste componente na composição do meio, corroborando com Chia et al. (2009), que associaram à sacarose a promoção do equilíbrio osmótico entre o pólen e o meio, o que, segundo os autores, facilita a difusão dos nutrientes para o grão de pólen, favorecendo a germinação polínica.

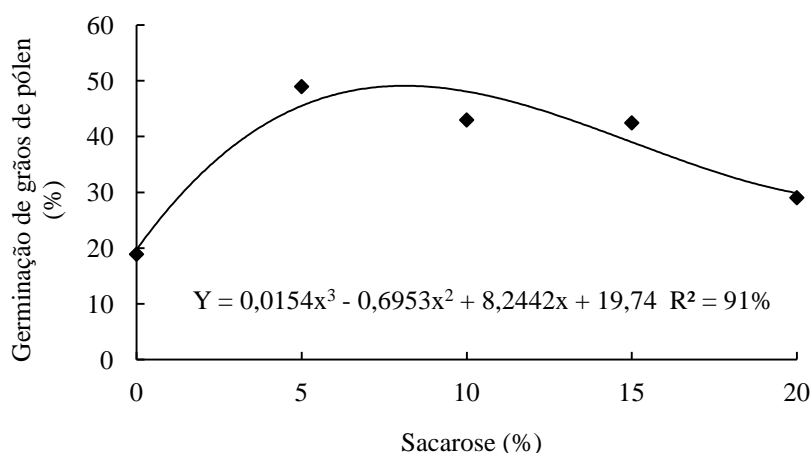


FIGURA 1 - Germinação de grãos de pólen de caiaué (%) em função do teor de sacarose no meio de cultura.

Para Chagas et al. (2010), a adição de sacarose como fonte de carboidratos visa suprir as necessidades metabólicas do pólen, participando na geração de energia ou como fonte de esqueletos carbônicos para processos biossintéticos envolvidos na diferenciação celular. Assim, um aumento no percentual de germinação, devido a elevação da concentração de sacarose, pode estar associado a maior disponibilidade de energia na forma de carboidrato.

Considerando o intervalo estudado, observa-se que o ponto de máxima da curva é de 8,1% de sacarose, ou seja, é o teor de sacarose ideal a ser utilizado no preparo do meio de cultura para análise da germinação de grãos de pólen em caiaué, para que o mesmo expresse todo seu potencial germinativo. Considerando a importância da sacarose para a germinação de grãos de pólen, esta determinação é de fundamental importância na caracterização fidedigna da viabilidade polínica para diferentes culturas.

Trabalhos são realizados nesse intuito, como verificado por Silva et al. (2017), que obtiveram uma máxima germinação de pólen de espécies de fisális ao utilizar meios de cultura que variavam de 5,63 a 7,82% de sacarose; Nogueira et al. (2016), estudando taxa de

germinação de grãos de pólen em pereira, concluíram que os melhores resultados foram obtidos em meio de cultura contendo 11,1% de sacarose; e Nogueira et al. (2015), verificaram que, para nespereira, o melhor meio de cultura para germinação de pólen continha apenas 5% de sacarose.

Apesar de serem palmeiras do mesmo gênero, a concentração de sacarose ideal para o caiaué aqui encontrada difere dos valores utilizados para a cultura do dendê, uma vez que, Youmbi et al. (2015) observaram uma germinação ótima dos grãos de pólen ao utilizarem meios de cultura com 15% de sacarose. Já Alvarado et al. (2000) e Chia et al. (2009) utilizaram meio de cultura contendo 10% de sacarose para comparar a germinação de pólen entre dendê, caiaué e seu híbrido. No entanto, Sinimbú Neto et al. (2011), destacam que cada espécie requer um ajuste próprio quanto a concentração de sacarose em meio e Ramos et al. (2008) são mais específicos ainda, ao afirmarem que esta especificidade pode ser requerida a diferentes genótipos em uma mesma espécie.

Ainda é possível observar que a partir da concentração de 8,1% de sacarose no meio de cultura até a maior concentração de sacarose testada (20%), há uma redução gradativa da germinação dos grãos de pólen. Este comportamento dos grãos de pólen em diferentes

concentrações de sacarose pode ser explicado pelo desequilíbrio osmótico entre o meio de cultura e o conteúdo dos grãos de pólen. Pio et al, (2004), apontaram que tanto o excesso como a deficiência dos constituintes do meio, associado à temperatura e à alta umidade, podem causar o aumento da pressão osmótica e a redução na resistência da parede celular, podendo resultar no rompimento dos grãos de pólen, impedindo sua germinação. Assim, com estes resultados, se confirma a necessidade de ajuste na concentração de sacarose para a germinação *in vitro* de pólen de caiaué.

Ao considerar o número de grãos de pólen para contagem em teste de germinação, não foi observada diferença significativa na germinação de grãos de pólen

nas quantidades de grãos avaliadas (Figura 2). Após a contagem de diferentes quantidades de grãos de pólen, foi observado que a taxa de germinação variou de 76% a 79,7%. Sendo assim, pode-se contabilizar 50 grãos de pólen por placa de Petri e garantir um resultado mais rápido e eficiente.

Segundo Stanley e Linskens (1974), para tornar o teste válido é necessária a contagem de dois campos contendo 200 grãos. Antônio (2004), testando diferentes quantidades de pólen em cacauzeiro, recomenda a utilização de 300 grãos de pólen, quantidade esta que apresentou a mesma proporção de grãos de pólen viáveis quando comparada à contagem de 600, 900 e 1200 grãos.

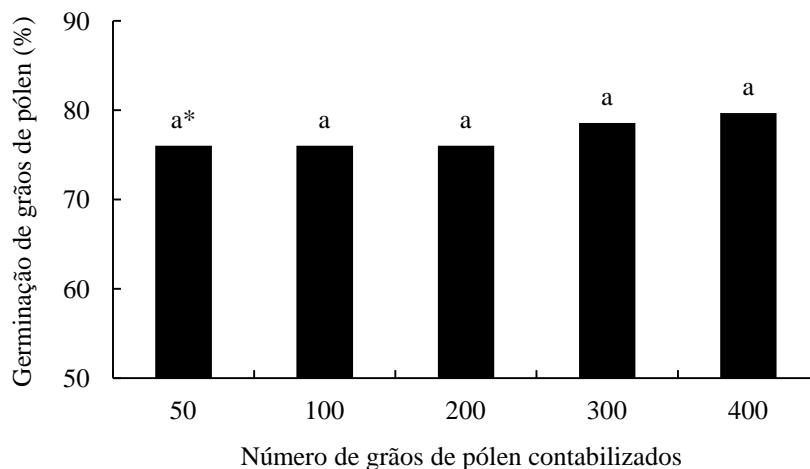


FIGURA 2 - Germinação de grãos de pólen de caiaué (%) em relação ao número de grãos de pólen contabilizados. *Letras iguais não diferem estatisticamente entre si pelo teste de Tukey, a 5% de probabilidade de erro.

Em espécies de palmeiras observa-se que são utilizadas diferentes quantidades de pólen. Em Jerivá (*Syagrus romanzoffiana* Cham.), Sousa et al. (2010) contabilizaram 200 grãos de pólen, Oliveira et al. (2001) chegaram a utilizar uma contagem de 500 grãos em genótipos de açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.). Para dendê a ausência de padronização é evidente, uma vez que, Alvarado et al. (2000) contabilizaram 250 grãos de pólen, enquanto Tandon et al. (2007) contabilizaram 200 grãos de

pólen por amostra e Sousa et al. (2016) apenas 100 grãos para cada repetição do experimento.

Para o efeito do fotoperíodo e tempo de incubação na germinação de grãos de pólen, foi verificado que a presença ou ausência de luz durante a incubação não influenciou a taxa de germinação (Tabela 1). Para tempo de incubação verificou-se diferença estatística significativa, sendo que os grãos incubados por 2 h apresentaram maior percentagem de germinação (34,7%) do que aqueles incubados por apenas 1 h (28,2%).

TABELA 1 - Germinação de grãos de pólen de caiaué (%) em função do fotoperíodo e do tempo de incubação.

Regime Luminoso	Tempos de incubação		Médias
	1 h	2 h	
Luz	28,5 Aa*	34,8 Ab	31,7 A
Escuro	27,8 Aa	34,5 Ab	31,2 A
Médias	28,2 a	34,7 b	

*Letras minúsculas iguais na linha e maiúsculas iguais na coluna não diferem estatisticamente pelo teste de Tukey ($p \leq 0,05$).

Quanto ao fotoperíodo, o pólen demonstrou não ser sensível ao efeito da presença/ausência da luz, diferentemente do observado em pólen de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal.), que para germinação polínica necessita de 16 h de luz (LUZ et al., 2008), ou para germinação do pólen de mandioca (*Manihot esculenta*

Crantz.), que segundo Vieira et al. (2012), em sua metodologia utilizaram 24 h de escuro, assim como Sousa et al. (2016) na germinação de grãos de pólen de dendê.

Entretanto, em relação ao tempo de incubação dos grãos de pólen em câmara climatizada, os resultados corroboram em parte com a metodologia utilizada por Chia

et al. (2009) ao manter as amostras de grãos de pólen de dendê e caiaué por 2 h a 40°C.

Ressalta-se mais uma vez que, atualmente, não há uma padronização para o teste de viabilidade polínica específica para o caiaué. Assim, de forma pioneira, foram aqui definidas teor de sacarose no meio, fotoperíodo, tempo de incubação em câmara climatizada e tamanho da amostra, condições básicas e ideais para maximizar a germinação dos grãos de pólen, embasando futuros estudos voltados a programas de melhoramento genético interspecífico de caiaué versus dendê, em virtude da importância do desenvolvimento desses híbridos para a sustentabilidade do cultivo da palma de óleo no Brasil.

CONCLUSÕES

A percentagem ideal de sacarose no meio de cultura para que ocorra a germinação de grãos de pólen de caiaué é 8,1%.

O número ideal de grãos de pólen a serem contabilizados é 50.

A presença ou a ausência de luz não interferiram na germinação e os grãos de pólen devem ser incubados por 2 h.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALVARADO, A.; BULGARELLI, J.; MOYA, B. Pollen germination in populations derived from a hybrid of *Elaeis guineensis* and *E. oleifera*. **ASD Oil Palm Papers**, v.20, n.1, p.32-34, 2000.
- ALVARADO, A.; ESCOBAR, R.; PERALTA, F. ASD's oil palm breeding program and its contributions to the oil palm industry. **ASD Oil Palm Papers**, v.34, n.1, p.1-16, 2010.
- ANTONIO, I.C. Germinação *in vitro* do pólen de *Theobroma grandiflorum* (Willdenow ex Sprengel) Schumann. **Científica**, v.32, n.2, p.101-106, 2004.
- BARCELOS, E.; RIOS, S.A.; CUNHA, R.N.V.; LOPES, R.; MOTOIKE, S.Y.; BABIYCHUK, E.; SKIRYCZ, A.; KUSHNIR, S. Oil palm natural diversity and the potential for yield improvement. **Frontiers in Plant Science**, v.6, n.190, p.1-16, 2015.
- CHAGAS, E.A.; PIO, R.; CHAGAS, P.C.; PASQUAL, M.; BETTIOL NETO, J.E. Composição de meio de cultura e condições ambientais para germinação de grãos de pólen de porta-enxertos de pereira. **Ciência Rural**, v.40, n.2, p.231-236, 2010.
- CHIA, G.S.; LOPES, R.; CUNHA, R.N.V.; ROCHA, R.N.C. Germinação *in vitro* de pólen de híbridos interespecíficos entre o caiaué e o dendezeiro. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.39, n.5, p. 1569-1571, 2009.
- CORLEY, R.H.V.; TINKER, P.B. **The Oil Palm**. Oxford: Blackwell, 2015. 680p.
- CUNHA, R.N.V.; LOPES, R.; DANTAS, J.C.R.; ROCHA, R.N.C. Procedimentos para produção de sementes comerciais de dendezeiro na Embrapa Amazônia Ocidental. Embrapa Amazônia Ocidental. **Série Documentos**, n.54. 30p. 2007.
- FERREIRA, D.F. Sisvar: A Guide for its Bootstrap procedures in multiple comparisons. **Ciência e agrotecnologia**, v. 38, n. 2, p. 109-112, 2014.
- LIMA, W.A.A.; GREEN, M.; ZEVIANI, W.M.; LOPES, R.; RIOS, S.A. Teor de água e tempo de exposição ao tratamento térmico na germinação de sementes de caiaué. **Revista de Ciências Agrárias**, v.6, n.2, p.192-198, 2017.
- LOPES, R.; CUNHA, R.N.V.; RESENDE, M.D.V. Produção de cachos e parâmetros genéticos de híbridos de caiaué com dendê. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.47, n.10, p.1496-1503, 2012.
- LUZ, C.L.; SCHUELTER, A.R.; LUZ C.L.; DAL'MASO, A.; VIEIRA, E.S.N.; BARRETO, R.R. Germinação *in vitro* de grãos de pólen e efeito da proteção das plantas na frutificação de cubiu (*Solanum sessiliflorum* Dunal). **Acta Scientiarum Agronomy**, v.30, n.4, p.539-545, 2008.
- NOGUEIRA, P.V.; SILVA, D.F.; PIO, R.; SILVA, P.A.O.; BISI, R.B.; BALBI, R.V. Germinação de pólen e aplicação de ácido bórico em botões florais de nespereiras. **Bragantia**, v.74, n.1, p.9-15, 2015.
- NOGUEIRA, P.V.; COUTINHO, G.; PIO, R.; SILVA, D.F.; ZAMBON, C.R. Establishment of growth medium and quantification of pollen grains and germination of pear tree cultivars. **Revista Ciência Agronômica**, v.47, n.2, p.380-386, 2016.
- OLIVEIRA, M.S.P.; MAUÉS, M.M.; KALUME, M.A.A. Viabilidade de pólen *in vivo* e *in vitro* em genótipos de açaizeiro. **Acta Botânica Brasiliensis**, v.15, n.1, p.27-33, 2001.
- PIO, L.A.S.; RAMOS, J.D.; PASQUAL, M.; SANTOS, F.C.; JUNQUEIRA, K.P. Receptiveness of the stigma and *in vitro* germination of orange pollen, submitted to different temperatures. **Ciência e Agrotecnologia**, v.28, n.5, p.1087-1091, 2004.
- RAMOS, J.D.; PASQUAL, M.; SALLES, L.A.; CHAGAS, E.A.; PIO, R. Receptividade do estigma e ajuste de protocolo para germinação *in vitro* de grãos de pólen de citros. **Interciência**, v.33, n.1, p.51-55, 2008.
- REED, W.R. Live storage of palm pollen. **Principes**, v.23, n.1, p.33-35, 1979.
- SILVA, D.F.; PIO, R.; NOGUEIRA, P. V.; SILVA, P.A.O.; FIGUEIREDO, A.L. Viabilidade polínica e quantificação de grãos de pólen em espécies de fisális. **Revista Ciência Agronômica**, v.48, n.2, p.365-373, 2017.
- SINIMBÚ NETO, F.A.; MARTINS, A.B.G.; BARBOSA, J.C. Viabilidade *in vitro* de grãos de pólen de bacurizeiro - Clusiaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, n.2, p.593-600, 2011.
- SOARES, T.L.; SILVA, S.O.; COSTA, M.A.P.C.; SANTOS-SEREJO, J.A.; SOUZA, A.S.; LINO, L.S.M.; SOUZA, E.H.; JESUS, O.N. *In vitro* germination and viability of pollen grains of banana diploids. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, v.8, n.1, p.111-118, 2008.
- SOUZA, A.S.; SANTOS, M.G.M.; PELACANI, C.R.; SANTOS, F.A.R. Testing culture media for pollen germination of *Elaeis guineensis* Jacq. (oil palm, Arecaceae). **Botanical Journal of the Linnean Society**, v.1, n.1, p.1-7, 2016.

SOUSA, V.A.; SCHEMBERG, E.A.; AGUIAR, A.V. Germinação *in vitro* do pólen de jerivá (*Syagrus romanzoffiana* (S.) Cham). **Scientia Forestalis**, v.38, n.86, p.147-151, 2010.

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

TANDON, R.; CHAUDHURY, R.; SHIVANNA, K.R. Cryopreservation of oil palm pollen. **Current Science**, v.92, n.2, p.182-183, 2007.

VIEIRA, L.J.; SOARES, T.L.; ROSSI, M.L.; ALVES, A.A.C.; SANTOS, F.A.R.; SOUZA, F.V.D. Viability, production and morphology of pollen grains for different species in the genus *Manihot* (Euphorbiaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v.26, n.2, p.350-356, 2012.

YOUMBI, E.; TABI, KINGSLEY; EBONGUE, N.; FRANK, G.; TONFACK, L.B.; NTSOMBOH, G. Oil palm (*Elaeis guineensis* Jacq.) improvement: pollen assessment for better conservation and germination. **Journal of Oil Palm Research**, v.27, n.3, p.212-219, 2015.