

# EFEITO DA CONCENTRAÇÃO DE SACAROSE NA GERMINAÇÃO *in vitro* DO PÓLEN DE CINCO ACESSOS DE BACURIZEIRO (*Platonia insignis* MART.)<sup>1</sup>

VALDOMIRO AURÉLIO BARBOSA DE SOUZA<sup>2\*</sup>, ELLEN DE MOURA VALE<sup>3</sup>,  
SULIMARY OLIVEIRA GOMES<sup>4</sup>, MARIA DO PERPETUO SOCORRO DAMASCENO COSTA<sup>5</sup>,  
ALANE ROSANE CASTRO GUIMARÃES<sup>4</sup>

**RESUMO** – O bacurizeiro é uma das espécies fruteiras nativas de maior importância socioeconômica das regiões Norte e Meio-Norte do Brasil. No entanto, ainda há carência de conhecimentos científicos sobre a espécie, especialmente sobre sua biologia floral, mecanismos reprodutivos e viabilidade do pólen. O conhecimento sobre a viabilidade do pólen é fundamental para o melhoramento genético, especialmente quando se tem em mente a realização de hibridizações controladas. O objetivo deste trabalho foi avaliar o efeito da sacarose e de acessos na viabilidade do pólen de bacurizeiro por meio da germinação *in vitro*. Avaliaram-se cinco acessos (BGB 6, BGB 11, BGB 48, BGB 32 e BGB 16) de bacurizeiro combinados com um tratamento-controle, sem sacarose, e quatro concentrações de sacarose (5; 7,5; 10 e 20%), em delineamento inteiramente ao acaso, em arranjo fatorial 5 x 5, com oito repetições. Na maioria dos acessos, a germinação *in vitro* do pólen atingiu um máximo (71,1 e 63,0%) entre as concentrações de sacarose de 9,4 e 9,7% e, a partir daí, caiu de forma drástica até atingir um percentual inferior a 10% de germinação na concentração de 20% de sacarose. Foram encontrados bons percentuais de germinação (entre 63,0 e 77,1%) para todos os acessos, com exceção do acesso BGB 16, que não alcançou 50%.

Palavras-chave: Clusiaceae, viabilidade do pólen, melhoramento genético, meio de cultura, pólen fresco.

## EFFECT OF SUCROSE CONCENTRATION ON POLLEN *IN VITRO* GERMINATION OF FIVE BACURY (*Platonia insignis* MART.) ACCESSES

**ABSTRACT** – The bacury tree is a native fruit species of great socio-economic importance of North and Mid-North regions of Brazil. However, there is insufficient scientific knowledge on the species, especially on its floral biology, reproductive mechanisms and pollen viability. Knowledge about pollen viability is essential for the genetic breeding, especially for controlled hybridizations. The aim of this study was to evaluate the effect of sucrose and of access on the viability of bacury pollen by *in vitro* germination. Five bacury accessions (BGB 6, BGB 11, BGB 48, BGB 32 and BGB 16) and five sucrose concentrations (0, 5, 7.5, 10, and 20%) were evaluated in a completely randomized design in a 5 x 5 factorial arrangement, with eight replications. In the majority of the accessions, pollen germination *in vitro* reached a maximum (71.1 to 63.0%) sucrose concentrations between 9.4 and 9.7% and from then fell dramatically until a percentage lower than 10% germination at a concentration of 20% sucrose. Showed good germination percentages (between 63.0 and 77.1%) for all accessions, except access BGB 16 did not reach 50%.

**Index terms:** Clusiaceae, pollen viability, breeding, culture medium, fresh pollen.

<sup>1</sup>(Trabalho 168-13). Recebido em: 13-05-2013. Aceito para publicação em: 06-09-2013.

<sup>2</sup>Eng. Agr., PhD., Embrapa Meio-Norte, (*In memoriam*). E-mail: valdo@cpamn.embrapa.br

<sup>3</sup>Mestranda em Genética e Melhoramento de Plantas, LBT/CBB, Universidade Estadual do Norte Fluminense Darcy Ribeiro, Campos dos Goytacazes-RJ. E-mail: ellenmoura27@hotmail.com

<sup>4</sup>Mestranda, Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Petrônio Portela, Teresina-PI. E-mail: sgomes\_pi@hotmail.com; agroalane@hotmail.com

<sup>5</sup>Mestranda, Universidade Federal da Paraíba, Areia-PB. E-mail: agro26@yahoo.com.br

## INTRODUÇÃO

O bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.) é uma espécie frutífera e madeireira originária da Amazônia, mas com dispersão nas regiões adjacentes do cerrado dos Estados do Maranhão e Piauí (SOUZA et al., 2013). Apresenta elevado potencial de uso na alimentação das populações das regiões Norte e Nordeste Ocidental dada a grande apreciação de seus frutos, que podem ser utilizados tanto para consumo *in natura* quanto para processamento. Estimativas indicam que somente na cidade de Belém-PA, são comercializados, anualmente, em torno de sete milhões de frutos, com valor total de US\$ 1,61 milhão (CARVALHO et al., 2002).

O fruto do bacuri é usado na fabricação principalmente de sucos e doces, e das sementes é extraída uma banha que, ao ser aquecida, solubiliza-se e é usada na medicina popular para o tratamento de várias doenças (AGRA et al., 2007). Já sua madeira, considerada como madeira de lei, apresenta boas propriedades, podendo ser utilizada na construção civil e naval (SARAIVA et al., 2013).

O bacurizeiro é uma planta predominantemente alógama, com autoincompatibilidade esporofítica que apresenta flores grandes, actinomorfas, hermafroditas, com cinco pétalas carnudas, androceu com numerosos estames, gineceu sincárpico, estigma ramificado (SARAIVA, et al., 2013), e seu pólen é pegajoso, o que dificulta a polinização anemófila.

A análise da fertilidade do pólen é um dos fatores importantes para se estabelecer as estratégias de um programa de melhoramento para a espécie, como, por exemplo, número de genótipos a serem envolvidos nos cruzamentos, quantidade de cruzamentos, condições e necessidade de armazenamento do pólen, técnica, ou técnicas, de polinização a ser empregada, entre outros. Esse conhecimento da viabilidade do pólen também é importante em testes de procedência e de progênie.

Por isso, diversos estudos sobre a viabilidade polínica em diferentes espécies frutíferas, como pessegueiro (RASEIRA; NAKASU, 2002), cerejeira (FRANZON; RASEIRA, 2006), guabirobeira (FRANZON et al., 2006), pitangueira (FRANZON et al., 2007), romanzeiro (PRAKASH et al., 2010) e bacurizeiro (SINIMBÚ NETO et al., 2011), e não frutíferas, como espinheira (SHARAFI, 2010) e pinhão-manso (LYRA et al., 2011), vêm sendo realizados, e a análise da viabilidade do pólen tem sido empregada com o objetivo de subsidiar, direta ou indiretamente, os programas de melhoramento.

Segundo Galletta (1983), diversos métodos que podem ser empregados para determinar a

viabilidade do pólen, sendo a germinação *in vitro* capaz de determinar a real capacidade de germinação do pólen em condições adequadas, e por isso, muito utilizada para determinar a viabilidade do pólen em programas de melhoramento genético. Esse método, porém, pode sofrer influência de vários fatores, como, por exemplo, espécie, meio de cultura, temperatura, tempo de incubação, condições de armazenamento do pólen e, ainda, estágio de desenvolvimento da flor quando da coleta do pólen (ALMEIDA et al., 2011).

O principal componente do meio de cultura para a germinação do pólen são os açúcares (LYRA et al., 2011), que, além de desempenhar papel nutritivo para a germinação de pólen, atuam no estabelecimento do equilíbrio osmótico que facilita a difusão dos nutrientes para os grãos de pólen (TAYLOR; HEPLER, 1997; ALCARAZ et al., 2011).

O objetivo deste trabalho foi avaliar a viabilidade de pólen de cinco acessos de bacurizeiro, utilizando a técnica de germinação *in vitro* com diferentes concentrações de sacarose.

## MATERIAL E MÉTODOS

O pólen foi coletado em flores de cinco acessos de bacurizeiro do Banco de Germoplasma da Embrapa Meio-Norte, provenientes de diferentes áreas de coleta, do Maranhão e Piauí (Tabela 1), logo após a antese. Depois de coletadas, as flores foram acondicionadas em sacos plásticos e levadas para o laboratório, onde foram depositadas em bandejas de isopor. O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Cultura de Tecidos Vegetais da Embrapa Meio-Norte, em Teresina-PI.

A germinação foi realizada em placas de Petri, utilizando-se de pólen fresco dos seguintes acessos de bacurizeiro: BGB 6, BGB 11, BGB 16, BGB 32 e BGB 48. Esses acessos foram recentemente caracterizados quanto à divergência genética através de marcadores moleculares (ISSR) por Souza et al. (2013).

Os meios de cultura utilizados na germinação *in vitro* do pólen foram: (1) 0,5% de Ágar, sem sacarose (controle); (2) 0,5% de Ágar + 5% de sacarose; (3) 0,5% de Ágar + 7,5% de sacarose; (4) 0,5% de Ágar + 10% de sacarose e (5) 0,5% de Ágar + 20% de sacarose.

Os componentes do meio de cultura foram dissolvidos em água destilada e aquecidos em forno micro-ondas até a dissolução por completo do Ágar. Devido à elevada oleosidade, o pólen foi espalhado sobre a superfície das placas de Petri com o auxílio de um pincel, antes da distribuição do meio de cultura nestas. Utilizou-se, aproximadamente, de

10 mL de meio por placa. Em seguida, as placas de Petri contendo o pólen foram colocadas sobre bandejas de isopor com papel-filtro umedecido, e transferidas para sala de crescimento, à temperatura de  $25^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$ , sob intensidade luminosa de 1.000 lux, por três horas.

A avaliação da germinação foi realizada em microscópio óptico, com objetiva de aumento de 10x, por meio da contagem dos grãos de pólen. As contagens foram feitas em oito campos de visão, focalizados ao acaso, onde se contaram o número total de grãos de pólen e o número de grãos de pólen germinados. Para efeito de contagem, consideraram-se apenas campos de visão com, no mínimo, 30 grãos de pólen, sendo que cada campo constituiu uma repetição. Foram considerados germinados os grãos de pólen cujo comprimento do tubo polínico ultrapassava o diâmetro do próprio grão de pólen. O delineamento experimental foi o inteiramente ao acaso, em arranjo fatorial 5 x 5, com oito repetições.

Os dados foram submetidos à análise de variância, para avaliação dos efeitos de acesso e de concentração de sacarose, bem como da interação entre esses dois fatores, sendo as médias de acessos comparadas pelo teste de Duncan, a 5% de probabilidade. Em seguida, o efeito de concentração de sacarose foi avaliado por meio da análise de regressão polinomial, mais apropriada para esse fim. As análises foram realizadas, utilizando o programa SAS (SAS Institute, 2001), sendo os gráficos obtidos com o auxílio dos programas TableCurve 2D, versão 2.0 e Excel, versão 2007.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

A análise de variância indicou efeitos significativos ( $P < 0,01$ ) de acesso e de concentração de sacarose, bem como da interação entre eles, na germinação *in vitro* do pólen dos cinco acessos de bacurizeiro estudados (Tabela 2).

Os resultados médios da germinação *in vitro* do pólen para cada um dos cinco acessos, nos diferentes níveis de sacarose, bem como a germinação com base na média dos cinco acessos, estão apresentados na Figura 1. Observa-se, com base nas equações de predição, que o efeito da sacarose na germinação *in vitro* do pólen mostrou efeito quadrático, indicando que há um ponto de máxima para a concentração de sacarose, que maximiza a germinação do pólen, e a partir do qual a germinação decresce até o limite em que a germinação é completamente inibida.

Em todos os acessos, exceto BGB 16, e, também, na média destes, a germinação do pólen

aumenta, atingindo um máximo com a concentração de sacarose a 9,4 e 9,7%, e, a partir daí, cai de forma drástica até atingir um percentual de germinação inferior a 10% na concentração de 20% de sacarose. No acesso BGB 16, a germinação máxima foi obtida na concentração de 12,7% de sacarose, e o limite a partir do qual não haverá mais germinação do pólen deve ser atingido entre 25 e 26% de sacarose. Nos demais acessos e na média destes, esse limite deve ser atingido numa concentração muito próxima de 20%. O acesso BGB 16 foi o único em que a germinação do pólen ficou acima de 30% na concentração de 20% de sacarose, percentual esse que é, pelo menos, três vezes superior aos obtidos nos demais acessos e na média destes (Figura 1). Em damasco, Asma (2008) obteve maiores médias de germinação *in vitro* do pólen de oito cultivares com 15% de sacarose. Em *Jatropha L.*, Lyra et al. (2011) encontraram o maior índice de germinação em 10% de sacarose, não observando germinação na concentração de 30%. Já em romã, Prakash et al. (2010) obtiveram as maiores médias de germinação do pólen na concentração de 15% de sacarose, porém esses autores obtiveram germinação inferior a 50%. Estes resultados evidenciam que a exigência de sacarose, para que o pólen germine corretamente, pode variar entre espécies e até mesmo dentro da mesma espécie (ROSELL et al., 1999).

Os coeficientes de determinação ( $R^2$ ) das equações de predição da germinação *in vitro* do pólen variaram de 0,85 (acesso BGB 32) a 0,97 (acesso BGB 6), sendo de 0,98 na equação que representa a germinação com base na média dos acessos (Figura 1), indicando ajustes muito bons dos modelos aos dados.

Na Figura 2, são apresentados os resultados da germinação *in vitro* do pólen dos cinco acessos de bacuri, em cada concentração de sacarose. Observa-se que a sacarose influenciou na porcentagem de germinação *in vitro* do pólen e, também, como o comportamento dos acessos foi diferenciado dentro de cada nível de sacarose, evidenciando a interação acesso x concentração de sacarose.

Na ausência e na presença de 20% de sacarose, a germinação *in vitro* do pólen foi, em média, muito pobre (10,5 e 12,8% de média dos acessos, respectivamente) (Figura 2), confirmando a importância da adequação da concentração de sacarose no meio para o desenvolvimento do tubo polínico. O ajuste da concentração de sacarose para a germinação do pólen é essencial, pois, além de seu papel osmótico, ela também atua na indução de modificações fisiológicas e metabólicas, como o aumento da permeabilidade do tubo polínico

(RODRIGUEZ-ENRIQUEZ et al., 2013), que podem levar desde o crescimento do tubo polínico, até o rompimento dos grãos de pólen.

Na concentração de 5% de sacarose, os maiores percentuais de germinação *in vitro* do pólen foram obtidos para os acessos BGB 11 (66,7%) e BGB 48 (62,0%), os quais não diferiram entre si, porém, diferiram dos demais acessos. O acesso BGB 6, com 54,7% de germinação, também apresentou um nível satisfatório de viabilidade do pólen nessa concentração de sacarose.

As concentrações de 7,5 e 10% proporcionaram os maiores percentuais de germinação *in vitro* do pólen (73,1 e 77,1%), respectivamente, para o acesso BGB11. O acesso BGB 32, com médias de 66,84 e 64,11% em 7,5 e 10% de sacarose, respectivamente, teve a segunda melhor performance de germinação *in vitro* do pólen nessas concentrações, dentre os acessos avaliados (Figura 2). Por sua vez, no caso do acesso BGB 48, apenas a concentração de 7,5% de sacarose permitiu ao pólen alcançar seu melhor desempenho, com 65,98% de germinação. De acordo com García et al. (2012), a sacarose é um dos componentes essenciais à germinação do pólen, fornecendo energia para o crescimento do tubo polínico com a síntese de novas células da parede celular.

Esses resultados indicam que os acessos de bacuri estudados, à exceção do BGB 16, apresentam pólen com índice satisfatório de viabilidade, posto que um grão de pólen de boa qualidade apresenta germinação acima de 50% (SCORZA; SHERMAN, 1995; RASEIRA; NAKASU, 2002). De acordo com Nascimento et al. (2012), grãos de pólen com baixa viabilidade resultam, geralmente, em um pobre pegamento de frutos. Os percentuais de germinação *in vitro* obtidos no presente estudo são similares aos encontrados na literatura para cerejeira-do-rio-grande (FRANZON; RASEIRA, 2006) e superiores aos encontrados em pitangueira (FRANZON et al., 2007), romanzeira (PRAKASH et al., 2010) e bacurizeiro (SINIMBÚ NETO et al., 2011). Neste último, as médias de germinação não alcançaram 50%, mesmo utilizando as concentrações de 7,5 e 10% de sacarose no meio de cultura. Esses resultados reforçam que a resposta do pólen à germinação pode sofrer influência de outros fatores, como o próprio genótipo utilizado, já que, utilizando as mesmas condições descritas aqui, esses autores tiveram uma germinação muito inferior.

Essa grande diferença na porcentagem de germinação do pólen encontrada por Sinimbú Neto et al. (2011), quando comparada ao encontrado no presente trabalho, pode ser devido à grande

variabilidade genética encontrada para esta espécie. Souza et al. (2013), estudando a diversidade genética de 72 genótipos de bacurizeiro provenientes do banco de germoplasma da Embrapa Meio Norte, identificaram grande variabilidade genotípica, mesmo entre genótipos provenientes do mesmo local de coleta. Tal fato pode ser observado entre o genótipo BGB 16 (44,2%) e os genótipos BGB 6 e 11 (63,0 e 77,1%, respectivamente) que, embora provenientes do mesmo local de coleta (Barras-PI), apresentaram grande variação na porcentagem de germinação utilizando a mesma concentração de sacarose:10%. Ainda segundo esses autores, as plantas provenientes da cidade de Barras-PI, obtiveram os maiores índices de diversidade intrapopulacional.

O acesso BGB 48 mostrou-se bem mais sensível a alterações nos níveis dessa fonte de carbono que os demais acessos, havendo grande alteração na germinação do pólen quando o mesmo foi submetido a 5 e 10% de sacarose. Por outro lado, o pólen do acesso BGB 16, cuja média de germinação *in vitro* (33,11%) obtida na concentração de 20% de sacarose não difere muito daquelas obtidas nas demais concentrações, aparentemente mostra menor sensibilidade a alterações nos níveis de sacarose (Figura 2). Contudo, os percentuais médios de germinação do pólen deste acesso obtidos no presente trabalho indicam que seu pólen tem baixa viabilidade, o que pode trazer problemas para o emprego desse acesso em cruzamentos.

Deve-se notar, contudo, que além dos efeitos genéticos, é possível que outros fatores, por exemplo, o tempo de incubação, tenham contribuído para o baixo percentual de viabilidade do pólen para o acesso BGB 16. De acordo com Franzon e Raseira (2006) e Franzon et al. (2007), o tempo de incubação necessário para o pólen de germinação *in vitro* varia com a espécie e mesmo dentro de cada espécie. O tempo de incubação de três horas, utilizado no presente estudo, foi escolhido com base em testes iniciais, que mostraram que a germinação *in vitro* dos grãos de pólen de bacuri tem início após uma hora de incubação e que, após duas horas de incubação, os tubos polínicos podiam alcançar, na maioria dos casos, o comprimento de, pelo menos, 3-4 vezes o diâmetro do grão de pólen. Isto indica, portanto, que três horas de incubação, é tempo longo o suficiente para determinar a viabilidade do pólen desta espécie. No entanto, como a germinação de pólen também pode variar dentro da espécie, como já mencionado por Franzon e Raseira (2006) e Franzon et al. (2007), é possível que, no caso do acesso BGB 16, o tempo requerido pode ser de mais de três horas.

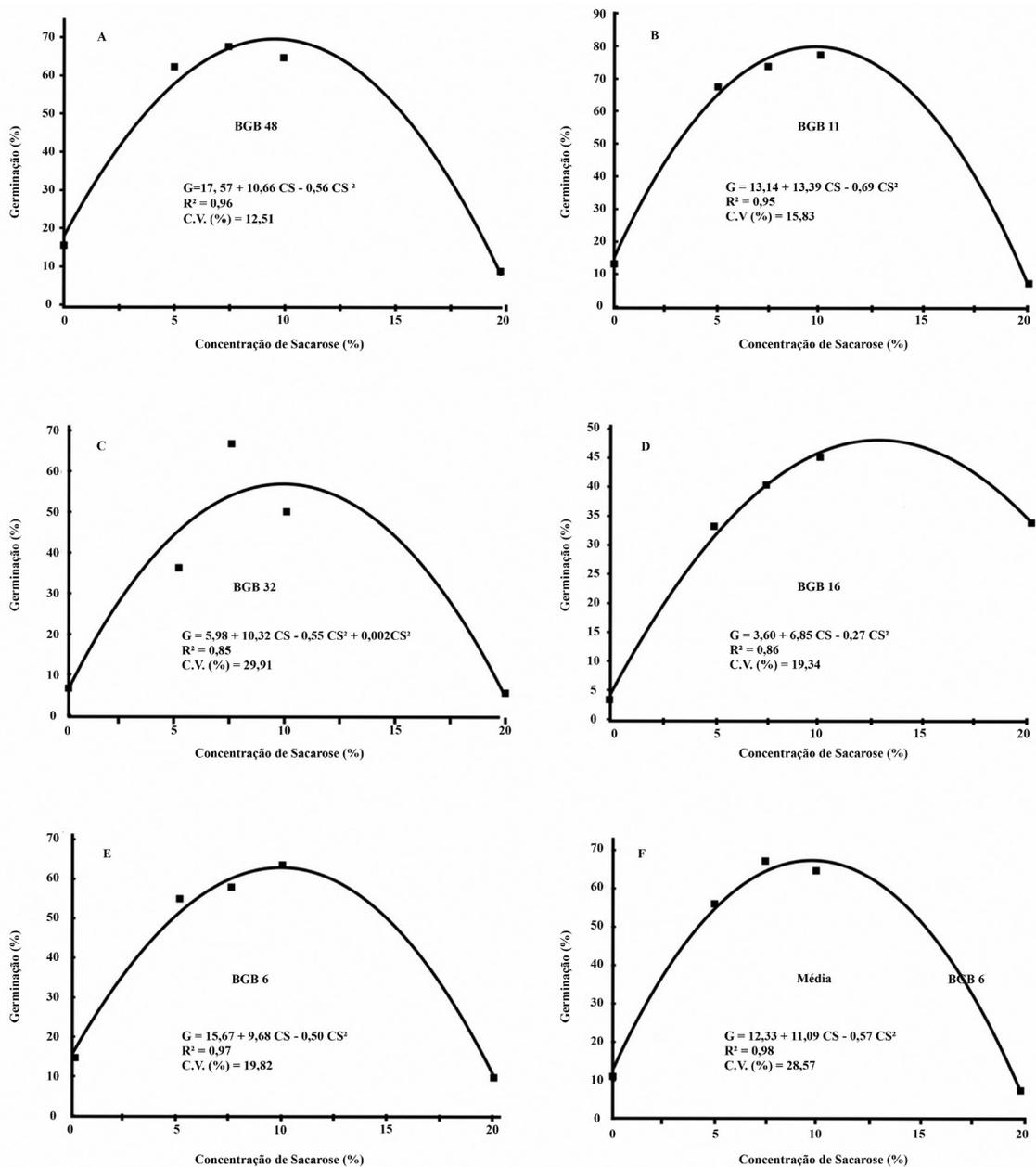


FIGURA 1 - Germinação *in vitro* de cinco acessos de bacurizeiro em função da concentração de sacarose.

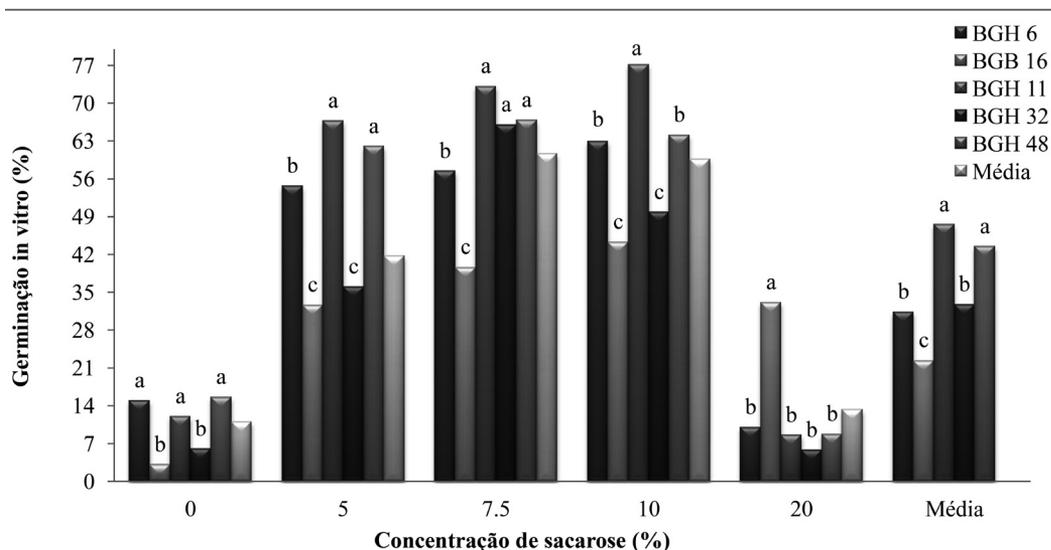


FIGURA 2- Efeito de acesso dentro de concentração de sacarose na germinação *in vitro* do pólen de bacurizeiro.

TABELA 1- Locais de coleta de acessos de bacurizeiro analisados no presente estudo.

Acesso	Localização da coleta (coordenadas)
BGB 6	Barras-PI (04°14'49"S; 42°17'45"W)
BGB 11	Barras-PI (04°14'49"S; 42°17'45"W)
BGB 16	Barras-PI (04°14'49"S; 42°17'45"W)
BGB 32	Timon-MA (05°05'38"S; 42°50'13"W)
BGB 48	Santa Quitéria-MA (03°30'57"S; 42°32'49"W)

TABELA 2- Resumo da análise de variância dos dados de germinação *in vitro* do pólen de bacurizeiro.

Fonte de Variação	GL	QM
Acesso (A)	4	3606,683**
Concentração de sacarose (CS)	4	26089,389**
A x CS	16	1388,171**
Rep	7	56,486
Resíduo	160	35,353
Total	191	-

\*\*Significativo a 1% pelo teste F.  
CV (%) = 16,11

## CONCLUSÕES

1-A germinação *in vitro* do pólen da maioria dos acessos de bacuri analisados aumenta, atingindo um máximo com a concentração de sacarose de 9,4 e 9,7% e, a partir daí, cai de forma drástica até atingir um percentual de germinação inferior a 10% na concentração de 20%.

2-Com exceção do acesso BGB16, todos os acessos avaliados apresentam pólen com boa viabilidade, porém os acessos BGB 11, BGB 32 e BGB 6 são os que têm pólen com as melhores taxas de germinação *in vitro*.

3-As combinações envolvendo os acessos BGB 11 em meio com 10% de sacarose, e os acessos BGB 11, BGB 32 e BGB 48, em meio com 7,5% de sacarose, resultaram nas maiores médias de germinação *in vitro* do pólen de bacuri.

4-Mesmo sob as mesmas concentrações de sacarose, a porcentagem de germinação do pólen pode variar de acordo com o acesso utilizado.

## REFERÊNCIAS

- AGRA, M. de F.; FREITAS, P. F. de; BARBOSA-FILHO, J. M. Synopsis of the plants known as medicinal and poisonous in Northeast of Brazil. **Brazilian Journal of Pharmacognosy**, Curitiba, v. 17, n. 1, p. 114-140, 2007.
- ASMA, B. M. Determination of pollen viability, germination ratios and morphology of eight apricot genotypes. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 3, n. 23, p. 4.269-4.273, 2008.
- ALCARAZ, M.L.; MONTSERRAT, M.; HORMAZA, J.I. In vitro pollen germination in avocado (*Persea americana* Mill.): Optimization of the method and effect of temperature. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 130, p. 152-156, 2011.
- ALMEIDA, C.; AMARAL, A. L. do; NETO, J. F. B.; SERENO, M. J. C. de M. Conservação e germinação *in vitro* de pólen de milho (*Zea mays* subsp. *mays*). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 34, n. 4, p. 493-497, 2011.
- CARVALHO, J. E. U. de; ALVES, S. de M.; NASCIMENTO, W. M. O. do; MULLER, C. H. Características físicas e químicas de um tipo de bacuri (*Platonia insignis* Mart.) sem sementes. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 24, n. 2, p. 573-575, 2002.
- FRANZON, R. C.; RASEIRA, M. do C. M. Germinação *in vitro* e armazenamento do pólen de *Eugenia involucrata* de (myrtaceae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 1, p. 18-20, 2006.
- FRANZON, R. C.; RASEIRA, M. do C. M.; WAGNER JÚNIOR, A. Testes de germinação *in vitro* e armazenamento de pólen de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.). **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 29, n. 2, p. 251-255, 2007.
- GARCÍA, C. C.; GUARNIERI, M.; PACINI, E. Tomato pollen tube development and carbohydrate fluctuations in the autotrophic phase of growth. **Acta Physiologiae Plantarum**, Kraków, v. 34, n. 6, p. 2341-2347, 2012.
- GALETTA, G. J. Pollen and seed management. In: MOORE, J.N.; JANIK, J. (Ed.). **Methods in fruit breeding**. Indiana: Purdue University Press, 1983. p. 23-47.
- LYRA, D. H.; SAMPAIO, L. S.; PEREIRA, D. A.; SILVA, A. P.; AMARAL, C. L. F. Pollen viability and germination in *Jatropha ribifolia* and *Jatropha mollissima* (Euphorbiaceae): Species with potential for biofuel production. **African Journal of Biotechnology**, Nairobi, v. 10, n. 3, p. 368-374, 2011.
- NASCIMENTO, W. M.; GOMES, E. M. L.; BATISTA, E. A.; FREITAS, R. A. Utilização de agentes polinizadores na produção de sementes de cenoura e pimenta-doce em cultivo protegido. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.30, n.3, p. 494-498, 2012.
- PRAKASH, A.; CHAUHAN, S.; RANA, A.; CHAUDHARY, V. Study of In vitro Pollen Germination and Pollen Viability in *Punica granatum* L. (Punicaceae). **Research Journal of Agricultural Sciences**, Awantipora, v.1, n.3, p. 224-226, 2010.

- RASEIRA, M.C.B.; NAKASU, B.H. Pessegueiro. In: BRUCKNER, C. H. (Ed.). **Melhoramento de fruteiras de clima temperado**. Viçosa: UFV, 2002. p. 89-126.
- RODRIGUEZ-ENRIQUEZ, M.J.; MEHDI, S.; DICKINSON, H.G.; GRANT-DOWNTON, H.T. A novel method for efficient *in vitro* germination and tube growth of *Arabidopsis thaliana* pollen. **New Phytologist**, Cambridge, v. 197, p. 668–679, 2013.
- ROSELL, P.; HERRERO, M.; SAÚCO, V.G. Pollen germination of cherimoya (*Annona cherimola* Mill.). In vivo characterization and optimization of *in vitro* germination. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 81, p. 251-265, 1999.
- SARAIVA, R.V.C.; ALBUQUERQUE, P.M.C. de; GIMOS, E.C. Floral and vegetative morphometrics of three *Platonia insignis* Mart. (Clusiaceae) populations, a native tree from the Brazilian Amazon. **Plant Biosystems**, 2013. DOI:10.1080/11263504.2013.791648.
- SAS INSTITUTE. **SAS user's guide**: statistics version 8 for Windows. Cary, 2001.
- SHARAFI, Y. Suitable *in vitro* medium for studying pollen viability in some of the Iranian hawthorn genotypes. **Journal of Medicinal Plants Research**, Nusska, v. 4, n. 19, p. 1.967-1.970, 2010.
- SCORZA, R.; SHERMAN, W. B. Peaches. In: JANIK, J.; MOORE, J.N. (Ed.). **Fruit breeding**. New York: John & Sons, 1995. p. 325-440.
- 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, p. 593-600, 2011.
- SOUZA, I.G.B.; SOUZA, V.A.B.; LIMA, P.S.C. Molecular characterization of *Platonia insignis* Mart. (“Bacurizeiro”) using inter simple sequence repeat (ISSR) markers. **Molecular Biology Reports**, New York, n. 40, p. 3835-3845, 2013.
- TAYLOR, L.P.; HEPLER, P.K. Pollen germination and tube growth. *Ann. Rev. Plant Physiol.* **Plant Molecular Biology**, Dordrecht, v. 48, p. 461–491, 1997.