ESTUDO DA VIABILIDADE POLÍNICA DE *Solanum paludosum* Moric. (Solanaceae) POR MEIO DE DISTINTOS MÉTODOS COLORIMÉTRICOS

Douglas Machado Leite¹, Weslaine de Almeida Macedo², Leila Pereira Neves Ramos³, Vanessa dos Santos de Mello⁴, Isane Vera karsburg⁵

¹Engenheiro Florestal, Mestrando pelo Programa de Pós Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus de Alta Floresta, MT – Brasil

^{2,3}Bióloga, Mestranda pelo Programa de Pós Graduação em Genética e Melhoramento de Plantas, Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus de Alta Floresta, MT – Brasil

^{4,5}Docente do departamento de Ciências Biológicas, Universidade do Estado de Mato Grosso. 78.580-000 Alta Floresta, MT – Brasil

*E-mail: douglasmachado_95@hotmail.com

Recebido em: 14/07/2018 – Aprovado em: 28/07/2018 – Publicado em: 31/07/2018
DOI: 10.18677/Agrarian_Academy_2018a24

RESUMO

Solanum paludosum Moric. popularmente conhecida como jurubeba-roxa, pertencente à família Solanaceae é uma espécie arbustiva amplamente distribuída na América do Sul, ocorrendo principalmente no Brasil. É uma espécie importante na medicina pelas atividades curarizante apresentada pelo extrato de suas raízes, mas cujos frutos são considerados tóxicos. O presente estudo objetivou estimar a viabilidade polínica de *S. paludosum* encontrada em três localidades no município de Alta Floresta-MT. Para o estudo foram utilizados a solução de 2,3,5 trifeniltetrazolio (TTC) nas concentrações (0,075% e 0,30%) com o material exposto em quatro tempos diferentes (6, 12, 18 e 24 horas) e os corantes Lugol 2%, Verde Malaquita 1% e Reativo de Alexander. Na preparação das lâminas com o TTC, adicionou-se uma gota de cada tratamento sobre a lâmina em seguida coberto com uma lamínula. No teste com Lugol 2%, Verde Malaquita 1% e Reativo de Alexander utilizou-se a técnica de esmagamento das anteras para a elaboração das lâminas. Para análise das lâminas foi utilizado o método de varredura, sendo contabilizados para ambos corantes, 250 grãos de pólen por lâmina com 10 repetições cada, perfazendo um total de 2.500 grãos de pólen para cada corante investigado. Na estimativa da viabilidade polínica das populações 01, 02 e 03 de *S. paludosum*, os testes colorimétricos: Lugol 2%, Verde Malaquita e Reativo de Alexander, mostraram-se eficientes ao distinguir os polens viáveis dos inviáveis, a solução de tetrazolio somente a 0,30% que foi eficaz na estimativa da viabilidade e facilidade da distinção do pólen viável variando do rosea ao vermelho intenso, para esta solução indica-se um tempo mínimo de 18 horas de exposição.

PALAVRAS-CHAVE: Jurubeba-roxa, Medicinal, Pólen, Tetrazolio.

STUDY OF THE POLYNICAL VIABILITY OF *Solanum paludosum* Moric. (Solanaceae) BY DIFFERENT COLORIMETRIC METHODS

ABSTRACT

Solanum paludosum Moric. popularly known as jurubeba-roxa, belonging to the family Solanaceae is a shrub species widely distributed in South America, occurring mainly in Brazil. It is an important species in medicine by the curarizante activities presented by the extract of its roots, but whose fruits are considered toxic. The present study aimed to estimate the pollen viability of *S. paludosum* found in three localities in the municipality of Alta Floresta-MT. For the study, the solution of 2,3,5-triphenyltetrazolium (TTC) in concentrations (0.075% and 0.30%) was used with the material exposed in four different times (6, 12, 18 and 24 hours) and Lugol dyes 2%, Malachite Green 1% and Alexander Reactive. In the preparation of the slides with TTC, one drop of each treatment on the slide was then covered with a cover slip. In the test with Lugol 2%, Malachite Green 1% and Alexander Reactive was used the technique of crushing the anthers for the preparation of the slides. For the analysis of the slides, the scanning method was used, accounting for both dyes, 250 pollen grains per slide with 10 replicates each, making a total of 2,500 pollen grains for each dye investigated. In the estimation of the pollen viability of populations 01, 02 and 03 of *S. paludosum*, the colorimetric tests: Lugol 2%, Malachite Green and Alexander Reactive, were efficient in distinguishing viable pollen from nonviable, tetrazolium solution only 0.30% that was effective in estimating the viability and ease of distinguishing viable pollen ranging from rosea to intense red for this solution indicates a minimum time of 18 hours of exposure.

KEYWORDS: Jurubeba-purple, Medicinal, Pollen, Tetrazolium.

INTRODUÇÃO

Solanum paludosum Moric. (Solanaceae) é uma espécie arbustiva neotropical, distribuída pela América do Sul, ocorrendo principalmente no Brasil, é conhecida popularmente como jurubeba-roxa, cujos frutos são considerados tóxicos, é uma espécie importante por possuir atividades curarizante apresentado no extrato de suas raízes (BASÍLIO et al., 2008). *S. paludosum* é rica em moléculas de interesse farmacêutico. Dentre estas, a solasodina que é um alcalóide esteroideal se apresenta *in natura* na forma glicosídica e constitui-se em matéria prima para a semi-síntese dos hormônios adrenocorticais e glicocorticais, usado como agente contraceptivo e também antiinflamatório (BELTRÃO et al., 2008).

Em relação ao uso de plantas medicinais que causam efeitos tóxicos, fazem-se necessários trabalhos de extensão junto à população, esclarecendo sobre alguns aspectos da utilização de fitoterápicos. As plantas medicinais representam um importante recurso terapêutico (OLIVEIRA et al., 2015). Portanto é necessária a realização de estudos, que estejam voltados para a observação de características que interferem no processo de polinização, como por exemplo, a viabilidade polínica (SANTOS et al., 2016a).

A viabilidade polínica é um fator importante para o melhoramento genético, a conservação e o cultivo de plantas aumentam a possibilidade de formação de diferentes combinações dos alelos podendo auxiliar na variabilidade genética e conservação das espécies (AULER et al., 2006). A estimativa da viabilidade polínica é importante para a análise citogenética em plantas, pois evidencia o potencial masculino de reprodução da espécie (FRESCURA et al., 2012). Há causas não

genéticas que podem levar à inviabilidade polínica, incluindo a idade do pólen, como a temperatura e a umidade (KELLY et al., 2002).

Para o processo de análise de viabilidade polínica, entre os corantes mais utilizados destacam-se, a solução de Reativo Alexander (ALEXANDER, 1980), Lugol, 2,3,5 cloreto de trifêniltetrazólio (TTC) dentre outros, promovendo diferenças na coloração dos grãos de pólen fornecendo resultados de forma rápida, segura e com baixo custo, sendo utilizados em estudos como indicativos da viabilidade polínica dos polens (SOARES et al., 2010). O trifêniltetrazólio (TTC) é muito utilizado por ser um método relativamente rápido, simples e eficaz (JESUS et al., 2011).

Neste sentido, o presente trabalho teve como objetivo analisar a viabilidade polínica de *S. paludosum*, distribuídos em populações naturais na cidade de Alta Floresta Mato Grosso, por meio do uso de três diferentes corantes: trifêniltetrazólio (TTC), Lugol 2%, Verde Malaquita e o Reativo de Alexander, a fim de averiguar e fornecer subsídios para a conservação da espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

O trabalho foi desenvolvido no Laboratório de Citogenética e Cultura de Tecidos Vegetais da Universidade do Estado de Mato Grosso, *Campus* de Alta Floresta-MT, Foram coletados 30 botões em estágio de pré-antese de *Solanum paludosum*, em três locais no município de Alta Floresta-MT (QUADRO1).

QUADRO 1. Identificação dos acessos, local de coleta dos botões florais em pré-antese das populações de *Solanum paludosum* Moric. e os dados de GPS.

População	Local de Coleta	Coordenadas
Pop.1	Alta Floresta - MT	Sul: 09°86'06,61 "Oeste: 56°06'81,99"
Pop. 2	Alta Floresta - MT	Sul: 09°85'77,51 "Oeste: 56°06'91,44"
Pop. 3	Alta Floresta - MT	Sul: 09°85'58,07 "Oeste: 56°07'02,20"

Os botões florais foram cortados transversalmente com o auxílio de um bisturi, para a retirada das anteras, depositadas em placa de petri e maceradas com um bastão de vidro para a liberação dos grãos de pólen na solução de 2,3,5 trifêniltetrazólio (TTC) em duas concentrações: 0,075% e 0,30%, que permaneceram em quatro horários de exposição a solução (6, 12, 18 e 24 horas), os corantes Lugol 2%, Verde Malaquita 1% e Reativo de Alexander, as anteras foram maceradas diretamente na lâmina com uma gota do corante.

Para a preparação das lâminas utilizando o trifêniltetrazólio (TTC) uma gota de cada tratamento foi depositada na lâmina, após o material foi coberto com uma lamínula. Já No preparo das lâminas com os corantes Lugol 2%, Verde Malaquita e Reativo de Alexander, as anteras foram cortadas transversalmente com o auxílio de um bisturi, para a liberação dos grãos de pólen, as anteras foram maceradas com um bastão de vidro, sobre uma gota de cada corante. Após, o material foi coberto com uma lamínula e observado ao microscópio. A fim de obter uma amostragem ao acaso dos grãos de pólen corados, foi utilizado o método de varredura, sendo contabilizados para ambos corantes, 250 grãos de pólen por lâmina com 10 repetições cada, perfazendo um total de 2.500 grãos de pólen para cada corante investigado. Todas as lâminas foram observadas no microscópio óptico na objetiva de 40x e as imagens foram digitalizadas utilizando o foto microscópio Leica, acoplado à câmera digital.

A viabilidade polínica foi determinada pela coloração dos grãos de polens, e foram considerados viáveis os polens que apresentaram coloração da exine e da intine ou protoplasma e inviáveis aqueles que não apresentaram coloração.

Por meio da estimativa polínica, calculou-se a porcentagem de polens viáveis através da fórmula: N° de grãos corados/ N° de grãos contados * 100 e os resultados foram submetidos à análise de variância pelo teste de Tukey em nível de 5% de probabilidade pelo programa R, versão 3.3.2 (R CORE TEAM, 2016), com o auxílio do pacote ExpDes, versão 1.1.2 (FERREIRA et al., 2013).

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Conforme a tabela 1, o corante que obteve maior número de polens viáveis para as populações 1 e 2 foi o Verde Malaquita 1%, o Lugol 2% e Reativo de Alexander apresentaram altas taxas de viabilidade contudo não diferiram entre si podendo ambos serem indicados para este tipo de experimento, na população 3 não houve diferença estatística dentre todos os corantes, podendo ser indicado qualquer um dos três.

De acordo com Souza et al. (2002), é considerada alta a viabilidade polínica se o percentual der acima de 70%, adequado para trabalhos referente ao melhoramento genético. Dentre as três populações avaliadas a terceira apresentou maior média de polens viáveis para os três corantes avaliados (Tabela 1).

Nota-se, que nas três populações estudadas e nos diferentes corantes ocorreu alta viabilidade polínica em todos os parâmetros estudados, no entanto houveram diferenças significativas entre as populações e corantes. Para Santos-Neto et al. (2006), quando há diferenças significativas em diferentes populações dentro de uma mesma espécie pode ser indicativo de variabilidade genética entre as mesmas, a qual pode ser resultante dos fatores abióticos.

TABELA 1 - Taxa média percentual de viabilidade polínica, com uso de corantes Verde Malaquita 1%, Lugol 2% e Reativo de Alexander de três populações de *Solanum paludosum* Alta Floresta – MT.

TESTES	POPULAÇÃO		
	1	2	3
VERDE MALAQUITA 1%	97.8 A a	99.3 A a	95 A b
LUGOL 2%	89.4 B b	86.5 B b	95.8 A a
REATIVO DE ALEXANDER	92.8 B a	84 B b	94.2 A a
CV (%)	4,62%	4,34%	3,49%

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas linhas e maiúscula nas colunas não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância.

Um alto percentual na viabilidade polínica de *Solanum paniculatum* L. foi encontrado no trabalho de Santos-Neto et al. (2006), corroborando com o presente trabalho, mostrando que estudos de diferentes espécies de *Solanum* e em distintas populações, há alto percentual dos grãos de pólen férteis, este alto percentual mostra que espécies de *Solanum* podem ter sucesso em futuros estudos no melhoramento genético.

Outro método de avaliar a fertilidade dos polens é com uso da solução de TTC nas concentrações 0,075% e 0,30% (2). Das duas concentrações avaliadas neste experimento a solução de 0,30% apresentou as maiores médias para as três

populações. Isso demonstra que esta concentração seja a mais indicada para avaliar a viabilidade dos grãos de pólen deste gênero.

O trifeniltetrazólio (TTC), permite uma avaliação confiável em testes de viabilidade polínica, sendo que este possui similaridade com resultados obtidos em teste de germinação dos polens, o qual pode ser utilizado como controle em estudos de viabilidade (BOLAT ; PIRLAK, 1999). A concentração de 0,30% tem apresentado maior viabilidade dos grãos de polens quando comparada com a concentração de 0,075%, como o trabalho de Macedo et al. (2016), que ressaltam que a eficiência em corar as células está diretamente ligada a constituição do pólen e a proporção intina e exina.

Apenas a população 3 apresentou diferença estatística para solução de 0,075%, contudo em todos os casos analisados essa solução não foi eficiente na coloração das células.

TABELA 2 - Taxa média percentual de viabilidade polínica, com uso de trifenil cloreto de tetrazolio, com as concentrações de 0,075% e 0,30%, de três populações de *Solanum paludosum* Alta Floresta – MT.

POPULAÇÃO	CONCENTRAÇÃO	TEMPOS			
		6	12	18	24
1	0,30%	86,5 a	76,6 b	84,01 ab	87,36 a
	0,075%	0,12 a	3,00 a	2,32 a	0,04 a
2	0,30%	73,84 b	74,2 b	71,36 b	95,96 a
	0,075%	0 a	0 a	2,64 a	2,64 a
3	0,30%	14,52 c	90,88 a	82,8 b	84,76 b
	0,075%	2,32c	2,6 bc	10,84 b	21,12 a
CV %					

Médias seguidas pela mesma letra minúscula nas linhas não diferem entre si, pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de significância.

Além da concentração o tempo de exposição a solução de TTC influencia na estimativa da viabilidade, a população 1 e 2 com 24 horas submersa em solução 0,30% apresentou alta viabilidade (Figura 1), isso ocorre por meio da embebição das células com a solução por um maior tempo reagindo as enzimas desidrogenases atribuindo a coloração vermelha, resultado semelhante foi observado com *Syzygium malaccense* (L.), em duas das três populações avaliadas houve aumento da viabilidade com o aumento no tempo de exposição a solução, para estas duas populações a solução de 0,075% não corou o pólen sendo considerado inviáveis.

Na população 3 a concentração de 0,075% de TTC corou uma pequena quantidade de células, sendo que o efeito dessa solução foi crescente de acordo com o tempo de exposição, contudo a coloração apresentada não facilitou na distinção das células viáveis, a solução 0,30% apresentou uma faixa ótima de 10 a 25 horas o que houve maior viabilidade diferindo das demais populações que apresentaram alta viabilidade após 20 horas corridas do experimento, esse efeito está ligado aos fatores ambientais, a constituição química e física da planta aumentando a permeabilidade do pólen.

FIGURA 1. Percentual de viabilidade polínica de *Solanum paludosum* com o uso de cloreto de 2,3,5-trifeniltetrazolio em função do tempo (horas), População 1, TTC 0,30%, População 2, TTC 0,30%, População 3, TTC 0,075% e TTC 0,30%.

Observa-se que na avaliação da viabilidade polínica de *S. paludosum* testando os diferentes corantes, trifeniltetrazolio (TTC), Lugol 2%, Verde Malaquita 1% e Reativo de Alexander, todos mostraram-se capazes de distinguir os polens viáveis dos inviáveis conforme demonstrado na Figura 1. A avaliação da viabilidade polínica refere-se à análise do percentual de grãos de pólen viáveis e inviáveis. Esse tipo de análise pode ser realizada por métodos de coloração ou também por análises de germinação do pólen (RODRIGUES et al., 2017).

Foi observado por Schmitt et al. (2015) ao testarem a viabilidade polínica de três populações de *Bixa orellana* com os corantes Carmin Acético, Lugol 2% e Reativo de Alexander, obtiveram resultados semelhantes e eficientes referente a coloração e diferenciação dos polens viáveis e inviáveis sendo, portanto estes corantes, recomendados para verificação da viabilidade polínica da espécie.

Lauton et al. (2016) ao estimarem a viabilidade polínica de *Plumeria alba* utilizando o método colorimétrico com quatro corantes: Lugol 2%, Verde malaquita 1%, Carmim 2% e Fucsina 0,5%, observaram que o corante Verde Malaquita 1% mostrou-se com o maior percentual de grãos de polens viáveis, porém o corante que melhor distinguiu os polens viáveis dos inviáveis foi o corante Lugol 2%. Cabral et al.

(2013) desenvolveram um trabalho de viabilidade polínica com a espécie *Theobroma cacao* L. empregando os corantes: Carmim Acético 2% e Lugol 2%, ambos foram capazes de distinguir com eficácia os polens viáveis dos inviáveis.

FIGURA 2 - Grãos de pólen de *Solanum paludosum* corados com diferentes corantes Lugol 2% a) inviável b) viável; Reativo de Alexander c) inviável d) viável. Verde Malaquita 1% e) inviável f) viável; TTC g) inviável h) viável. Barra = 10µm.

Santos et al. (2016b) desenvolveram um estudo com a espécie *Costus spiralis* com os respectivos corantes: Fucsina 1%, Verde Malaquita 1%, Lugol 2%, Azul de Astra, Carmim Acética, Reativo de Alexander e Orceína acética 2%, constatando que houve diferenciação entre corantes, sendo o Reativo de Alexander e o Lugol 2% que apresentaram maior distinção entre os grãos de polens viáveis dos inviáveis.

CONCLUSÃO

A viabilidade polínica avaliada por meio dos corantes Lugol 2%, Reativo de Alexander, e Verde Malaquita 1%, apresentaram alta viabilidade e fácil distinção dos viáveis e inviáveis podendo ser utilizado qualquer um dos corantes, devendo se atentar as características do pólen viável e do inviável. A solução de tetrazolio somente a 0,30% foi eficaz na estimativa da viabilidade e facilidade da distinção do pólen viável variando do rosea ao vermelho intenso, para esta solução indica-se um tempo mínimo de 18 horas de exposição a solução para obter um resultado acurado.

AGRADECIMENTOS

À CAPES, FAPEMAT e a Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT).

REFERÊNCIAS

ALEXANDER, M. P. A. Versatile stain for pollen fungi, yeast and bacterium. **Stain Technology** v.5, n.1, p.13-18, 1980. Disponível em: <<https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.3109/10520298009067890?journalCode=ibi h19>>.

AULER, N. M. F.; BATTISTIN, A.; REIS, M. S. Número de cromossomos, microsporogênese e viabilidade do pólen em populações de carqueja [*Baccharis*

trimera (Less.) DC.] do Rio Grande do Sul e Santa Catarina. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 8, n. 2, p. 55-63, 2006. Disponível em: <http://www.sbpmed.org.br/download/issn_06/artigo10_v8_n2.pdf>.

BASÍLIO, I. J. L. D.; AGRA, M. de F.; BHATTACHARYYA, J. Estudo fármaco botânico de folhas de *Solanum paludosum* Moric.(Solanaceae). **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n. S1, p. pg. 651-653, 2008. Disponível em: <<http://www.ufrgs.br/seerbio/ojs/index.php/rbb/article/viewFile/661/554>>.

BOLAT, .; PIRLAK, L. An investigation on pollen viability, germination and tube growth in some stone fruits. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry**, v. 23, n. 4, p. 383-388, 1999. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/273130262_An_Investigation_on_Pollen_Viability_Germination_and_Tube_Growth_in_Some_Stone_Fruits>.

BELTRÃO, A. E. S.; SANTIAGO BELTRAO, F. A.; LAMOCA-ZARATE, R. M. Cultura in vitro de *Solanum paludosum*: regeneração. **Revista Caatinga**, v. 21, n. 4, 2008. Disponível em: <<https://periodicos.ufersa.edu.br/index.php/caatinga/article/view/335>>.

CABRAL, J. C.; ROSSI, A. A. B.; KLEIN, M. E.; VIEIRA, F. S.; GIUSTINA, L. D. Estimativa da viabilidade polínica em acessos de *Theobroma cacao* L. baseada em testes calorimétricos. **Enciclopédia Biosfera**, v. 9, n. 17, p. 2780-2788, 2013. Disponível em: <<http://conhecer.org.br/enciclop/2013b/CIENCIAS%20BIOLOGICAS/estimativa%20da%20viabilidade.pdf>>.

FERREIRA, E. B.; CAVALCANTI, P. P.; NOGUEIRA, D. A. **ExpDes: Experimental Designs package**. R package version 1.1.2, 2013.

FRESCURA, V. D. S.; LAUGHINGHOUSE, I. V.; DAIL, H.; DOROW, T. S. D. C.; TEDESCO, S. B. Pollen viability of *Polygala paniculata* L. (Polygalaceae) using different staining methods. **Biocell**, v.36, n.3, p.143-145, 2012. Disponível em: <http://www.scielo.org.ar/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0327-95452012000300007>.

GIBBERT, L. F.; RIBEIRO, R.; FERNANDES, S. C.; MELLO, V. S.; KARSBURG, I. V. Viabilidade Polínica de *Syzygium malaccense* por métodos colorimétricos. **Agrarian Academy**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.4, n.7; p.474, 2017. Disponível em: <<http://www.conhecer.org.br/Agrarian%20Academy/2017a/viabilidade.pdf>>.

HISTER, C.; TEDESCO, S. B. Estimation of pollen viability of strawberry guava (*Psidium cattleianum* Sabine) through distinct staining methods. **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v. 18, n. 1, p. 135-141, 2016. Disponível em: <http://www.scielo.br/scielo.php?pid=S1516-05722016000100135&script=sci_arttext&lng=pt>.

LAUTON, D. de S.; SANTOS, A. C. dos.; KARSBURG, I. V.; DAMASIO, J. F. Estimativa da Viabilidade Polínica de Jasmim Manga em Diferentes

Corantes. **Ciência & Tecnologia Fatec-JB**, v. 8, n. esp. 2, 2016. Disponível em: <<http://www.citec.fatecjab.edu.br/index.php/files/article/view/999>>.

JESUS, O. N. de. SOARES, T. L.; DE OLIVEIRA, E. J.; MARTINS, C. A. D.; SEREJO, J. D. S. Comportamento germinativo e viabilidade polínica de passifloras oriundos de flores coletadas em diferentes estádios e horários. In: **Embrapa Mandioca e Fruticultura-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: Congresso Brasileiro de Melhoramento de plantas, 6., 2011. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/898968>>.

KELLY, J. K.; RASCH, A.; KALISZ, S. A method to estimate pollen viability from pollen size variation. **American Journal of Botany**, v. 89, n. 6, p. 1021-1023, 2002. Disponível em: <https://www.researchgate.net/profile/Susan_Kalisz/publication/51212091_A_method_to_estimate_pollen_viability_from_pollen_size_variation/links/0deec528d5c629cdb2000000.pdf>.

MACEDO, W. A.; SANTOS, B. N. V.; MELLO, V. S.; DAMASIO, J. F.; SANTOS, L. C. B.; LEITE, D. M.; KARSBURG, I. V. Teste do cloreto de Trifeniltetrazolio (TTC) na viabilidade polínica da Colônia. **Ciência & Tecnologia: Fatec-JB**. v. 8, n.1, p. 1-5. Número especial 2, 2016. Disponível em: <https://www.researchgate.net/publication/308020852_TESTE_DO_CLORETO_DE_TRIFENILTETRAZOLIO_TTC_NA_VIABILIDADE_POLINICA_DA_COLONIA_TEST_OF_TRIPHENYLTETRAZOLIUM_CHLORIDE_TTC_IN_POLLEN_VIABILITY_OF_COLONIA>.

OLIVEIRA, L. S. de. MUZITANO, M. F.; COUTINHO, M. A. S.; DE MELO, G. O.; COSTA, S. S. Plantas medicinais como recurso terapêutico em comunidade do entorno da reserva biológica do tinguá, RJ, Brasil—metabólitos secundários e aspectos farmacológicos. **InterSciencePlace**, v. 1, n. 17, 2015. Disponível em: <<http://www.interscienceplace.org/isp/index.php/isp/article/view/164>>.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria, 2016. Disponível em: <<https://www.Rproject.org/>>

RODRIGUES, M. A. SEHN, T. T.; VASCONCELOS, M. D. C.; SOUZA, E. L. de.; GUERRA, D. Análise Polínica de Guabijuzeiros (*Myrcianthes Pungens*) no Município de Três Passos RS. **Salão do Conhecimento**, v. 3, n. 3, 2017. Disponível em: <<https://www.publicacoeseventos.unijui.edu.br/index.php/salaconhecimento/article/viewFile/7916/6651>>.

SANTOS-NETO, O. D.; KARSBURG, I. V.; YOSHITOME, M. Y. Viabilidade e germinabilidade polínica de populações de jurubeba (*Solanum paniculatum* L.). **Revista de Ciências Agro-Ambientais, Alta Floresta**, v. 4, n. 1, p. 67-74, 2006. Disponível em: http://www.unemat.br/revistas/rcaa/docs/vol4/8_artigo_v4.pdf

SCHMITT, K. F. M.; PAULA, R. P. de.; MORENO, E. C.; TIAGO, A. V.; ROSSI, A. A. B. Uso de Testes Colorimétricos na Avaliação da Viabilidade Polínica do Urucum

(*Bixa orellana* L.). **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer - Goiânia, v.11 n.22; p, 2015. Disponível em:<<http://www.conhecer.org.br/enciclop/2015c/agrarias/uso%20de%20testes%20colorimetricos.pdf>>.DOI: http://dx.doi.org/10.18677/Enciclopedia_Biosfera_2015_243

SANTOS, L. C. B. dos.; FERNANDES, L.; ALMEIDA, M. W. de.; SANTOS, B. N. V. dos., LEITE, D. M.; KARSBURG, I. V.; PRAÇA-FONTE, M. M. I. Uso de Cloreto de Trifeniltetrazólio para Teste de Viabilidade Polínica de Maracujazeiro Doce. **Ciência & Tecnologia Fatec-JB**, v. 8, n. esp. 2, 2016a. Disponível em: <<http://citec.fatecjab.edu.br/index.php/files/article/view/1020>>.

SANTOS, B. N. V dos.; MACEDO, W. de A.; MELLO, V. D. S. de., DAMASIO, J. F.; SANTOS, L. C. B dos.; LEITE, D. M.; KARSBURG, I. V. Estimativa da Viabilidade dos Grãos de Pólen de *Cana-do-Brejo* Baseada em Distintos Métodos de Coloração. **Ciência & Tecnologia: Fatec-JB**, Jaboticabal, v. 7, 2016b. Disponível em: <[BREJO_BASEADA_EM_DISTINTOS_METODOS_DE_COLORACAO_ESTIMATE_THE_VIABILITY_OF_POLLEN_GRAIN_Caneswamp_BASED_ON_DIFFERENT_METHODS_OF_STAINING/links/57a7a12408ae3f4529390aa9/ESTIMATIVA-DA-VIABILIDADE-DOS-GRAOS-DE-POLEN-DE-CANA-DO-BREJO-BASEADA-EM-DISTINTOS-METODOS-DE-COLORACAO-ESTIMATE-THE-VIABILITY-OF-POLLEN-GRAIN-Cane-swamp-BASED-ON-DIFFERENT-METHODS-OF-STAINING.pdf](http://www.fatecjb.edu.br/index.php/files/article/view/1020)>.

SOARES, T.; COSTA, M. D. C.; SANTOS-SEREJO, J. A dos.; SILVA, S. D. O. Viabilidade de grãos de pólen de bananeira com diferentes corantes. In: **Embrapa Mandioca e Fruticultura-Artigo em anais de congresso (ALICE)**. In: JORNADA CIENTÍFICA EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA, 4., 2010. Disponível em: <<http://www.alice.cnptia.embrapa.br/alice/handle/doc/875292>>.

SOUZA, M. D.; PEREIRA, T. N. S.; MARTINS, E. R. Microsporogênese e microgametogênese associadas ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, n. 6, p. 1209-1217, 2002. Disponível em: <http://www.academia.edu/download/7655203/26-6-2002_13.pdf>.