

Morfologia, viabilidade, índice meiótico e citoquímica polínica de sangra d'água

(*Croton urucurana* Baill)

Morphology, viability, meiotic index and pollen cytochemistry of sangra d'água (*Croton urucurana* Baill)

Morfología, viabilidad, índice meiótico y citoquímica del polen de sangra d'água (*Croton urucurana* Baill)

Recebido: 26/10/2022 | Revisado: 10/11/2022 | Aceitado: 11/11/2022 | Publicado: 18/11/2022

Edimilson Leonardo Ferreira

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-5398-4347>
Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil
E-mail: edimilson_bio@outlook.com

Elisa dos Santos Cardoso

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-9477-1743>
Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil
E-mail: elisabyo@gmail.com

Giseudo Aparecido de Paiva

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-8905-220X>
Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil
E-mail: giseudo.paiva@hotmail.com

Ana Paula Roveda

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-4752-7128>
Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil
E-mail: anapaularoveda@hotmail.com

Kelli Evelin Müller Zortéa

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-0545-6130>
Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil
E-mail: kellimuller@hotmail.com

Tânieli de Souza Corbulin

ORCID: <https://orcid.org/0000-0001-6519-8941>
Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil
E-mail: tanieli.corbulin@unemat.br

Angelo Gabriel Mendes Cordeiro

ORCID: <https://orcid.org/0000-0003-2657-7994>
Universidade Federal de Viçosa, Brasil
E-mail: angelo.cordeiro@ufv.br

Ana Aparecida Bandini Rossi

ORCID: <https://orcid.org/0000-0002-8318-5375>
Universidade do Estado de Mato Grosso, Brasil
E-mail: anabanrossi@unemat.br

Resumo

A sangra d'água (*Croton urucurana* Baill) é uma espécie arbórea, utilizada na medicina tradicional e com potencial para uso em reflorestamento. Informações sobre aspectos reprodutivos da espécie, como morfologia, viabilidade e citoquímica do pólen fornecem dados que podem ser utilizadas em projetos que visem a sua conservação. Este trabalho objetivou utilizar testes colorimétricos para avaliar a viabilidade polínica, índice meiótico e identificar as substâncias de reserva nutritiva dos grãos de pólen, bem como caracterizar a morfologia do pólen de sangra d'água. Foram coletados botões florais em pré-antese de dez indivíduos localizados no município de Alta Floresta-MT. Para a análise morfológica dos polens foi utilizado o método de acetólise, enquanto que para avaliação da viabilidade polínica foram utilizados o reativo de Alexander e o carmim acético 2%, sendo este utilizado também para estimativa do índice meiótico. Para análise das substâncias de reserva utilizou-se o lugol 2% e o sudan IV. Os polens de sangra d'água foram classificados como esféricos do subtipo prolato-esferoidal. Todos os corantes utilizados se mostraram eficientes na distinção entre polens viáveis e inviáveis e também na detecção da substância de reserva. A espécie apresentou média de 98,9% de viabilidade polínica e de 94,67% para o índice meiótico, indicando regularidade meiótica. A análise citoquímica revelou que a espécie possui amido e lipídio como substâncias de reserva. A alta porcentagem de polens viáveis indica que a sangra d'água apresenta estabilidade reprodutiva, estando adaptada reprodutivamente ao meio onde encontra-se naturalmente no município de Alta Floresta, MT.

Palavras-chave: Grão de pólen; Testes colorimétricos; Estabilidade reprodutiva.

Abstract

The sangra d'água (*Croton urucurana* Baill) is a tree species, used in traditional medicine and with potential for use in reforestation. Information on reproductive aspects of the species, such as morphology, viability and pollen cytochemistry provide data that can be used in projects aimed at its conservation. This work aimed to use colorimetric tests to evaluate pollen viability, meiotic index and identify the nutrient reserve substances of pollen grains, as well as to characterize the morphology of pollen from bleeds. Flower buds were collected in pre-anthesis from ten individuals located in the municipality of Alta Floresta-MT. For the morphological analysis of pollens, the acetolysis method was used, while for the evaluation of pollen viability, Alexander's reagent and acetic carmine 2% were used, which was also used to estimate the meiotic index. For analysis of reserve substances, lugol 2% and sudan IV were used. Bleeding pollens were classified as spherical of the prolate-spheroidal subtype. All dyes used proved to be efficient in distinguishing between viable and non-viable pollens and also in detecting the reserve substance. The species showed an average of 98.9% for pollen viability and 94.67% for the meiotic index, indicating meiotic regularity. The cytochemical analysis revealed that the species has starch and lipid as reserve substances. The high percentage of viable pollens indicates that the sangra d'água has reproductive stability, being reproductively adapted to the environment where it is naturally found in the municipality of Alta Floresta, MT.

Keywords: Pollen grain; Colorimetric tests; Reproductive stability.

Resumen

La sangra d'água (*Croton urucurana* Baill) es una especie arbórea, utilizada en medicina tradicional y con potencial de uso en reforestación. La información sobre aspectos reproductivos de la especie, como la morfología, la viabilidad y la citoquímica del polen, proporciona datos que pueden ser utilizados en proyectos destinados a su conservación. Este trabajo tuvo como objetivo utilizar pruebas colorimétricas para evaluar la viabilidad del polen, el índice meiótico e identificar las sustancias de reserva de nutrientes de los granos de polen, así como caracterizar la morfología del polen de sangrado. Se recolectaron botones florales en preantesis de diez individuos ubicados en el municipio de Alta Floresta-MT. Para el análisis morfológico de los pólenes se utilizó el método de la acetólisis, mientras que para la evaluación de la viabilidad del polen se utilizó el reactivo de Alexander y carmín acético al 2%, el cual también se utilizó para estimar el índice meiótico. Para el análisis de sustancias de reserva se utilizó lugol 2% y sudan IV. Los pólenes sangrantes se clasificaron como esféricos del subtipo prolado-esferoidal. Todos los colorantes utilizados demostraron ser eficientes para distinguir entre pólenes viables y no viables y también para detectar la sustancia de reserva. La especie mostró un promedio de 98,9% para la viabilidad del polen y 94,67% para el índice meiótico, lo que indica regularidad meiótica. El análisis citoquímico reveló que la especie tiene almidón y lípidos como sustancias de reserva. El alto porcentaje de pólenes viables indica que la sangra d'água tiene estabilidad reproductiva, estando reproductivamente adaptada al ambiente donde se encuentra naturalmente en el municipio de Alta Floresta, MT.

Palabras clave: Grano de polen; Pruebas colorimétricas; Estabilidad reproductiva.

1. Introdução

Croton urucurana Baill., conhecida popularmente como sangra d'água, sangue-de-dragão, capixingui e urucurana, pertence à família Euphorbiaceae, é uma planta arbórea nativa do Brasil e pode atingir 14 m de altura (Flora e Funga do Brasil, 2022). A espécie apresenta ampla ocorrência em território brasileiro, o que está diretamente relacionado ao fato de ser uma espécie pioneira, bem como por ser uma planta decídua, heliófita, seletiva higrófila, bem adaptada à terrenos úmidos e importante para as formações ciliares (Lorenzi, 2016; Flora e Funga do Brasil, 2022).

A espécie pode ser plantada nas proximidades das cabeceiras e margens de rios, sendo que estes contribuem para a disseminação de sementes que atuam na regeneração de margens degradadas, possibilitando sua recuperação de forma natural, por meio de processos normais de sucessão (Assad-Ludewigs et al., 1989; Pires et al., 2004), uma vez que suas sementes são produzidas em grande número, viáveis e dispersas por autocoria (Lorenzi, 1992; Takahasi e Fina, 2004). Além da importância ecológica, a espécie possui grande importância para medicina popular, sendo a seiva, as cascas e as folhas utilizadas de diferentes formas para o tratamento de várias enfermidades como gastrite, hemorroidas, hematomas, infecções cutâneas, dores nas pernas, reumatismos, depurativo do sangue, anti-hemorrágico, antisséptico, analgésico, dentre outras (Vieira et al., 2018).

Diante da importância da espécie, é fundamental obter dados sobre a morfologia do pólen, o que possibilita identificar alterações morfológicas que possam comprometer o seu sucesso reprodutivo (Knox, 1984), bem como sobre aspectos reprodutivos relacionados ao grão de pólen e assim fornecer informações para projetos que visam a conservação e melhoramento genético da espécie, sobretudo para aqueles que tem como objetivo manter o pólen conservado para posterior

uso em pesquisas, testes alergênicos, auxílio na rastreabilidade e conservação de germoplasmas (Souza et al., 2015; Volk, 2011). Com esse intuito diversos estudos vêm sendo realizados com espécies vegetais nativas (Costa et al., 2020; Furini et al., 2020; Roelis et al., 2022; Zortéa et al., 2022).

Estudos relacionados à biologia reprodutiva a nível de espécie e gênero de sangra d'água são escassos (Pimentel & Castro, 2009), sendo descritos alguns trabalhos relacionados a família, onde Souza & Lorenzi (2005) descrevem as flores como unissexuadas, geralmente monoperiantadas, ocorrendo em plantas monoicas ou dioicas, com presença ou ausência de vestígio relacionado ao sexo atrofiado, e dispostas em inflorescências racemosas ou cimosas. Os autores relatam ainda, que as flores masculinas possuem número variável de estames, e as femininas são tricarpelares, com fruto, comumente, tipo cápsula.

Para obtenção de informações sobre a biologia reprodutiva de espécies vegetais é importante realizar o estudo da viabilidade polínica, que evidencia o potencial masculino de reprodução, podendo ser útil em diferentes estudos (Frescura et al., 2012). Outra maneira para obter tais informações é a avaliação citoquímica do grão de pólen maduro, que identifica, por meio dos corantes lugol e sudan IV, a presença de substâncias de reserva como amido e lipídios, respectivamente, sendo importante para o conhecimento de aspectos ecológicos relacionados a polinização (Pagliarini & Pozzobon, 2005; Oliveira & Pierre, 2018).

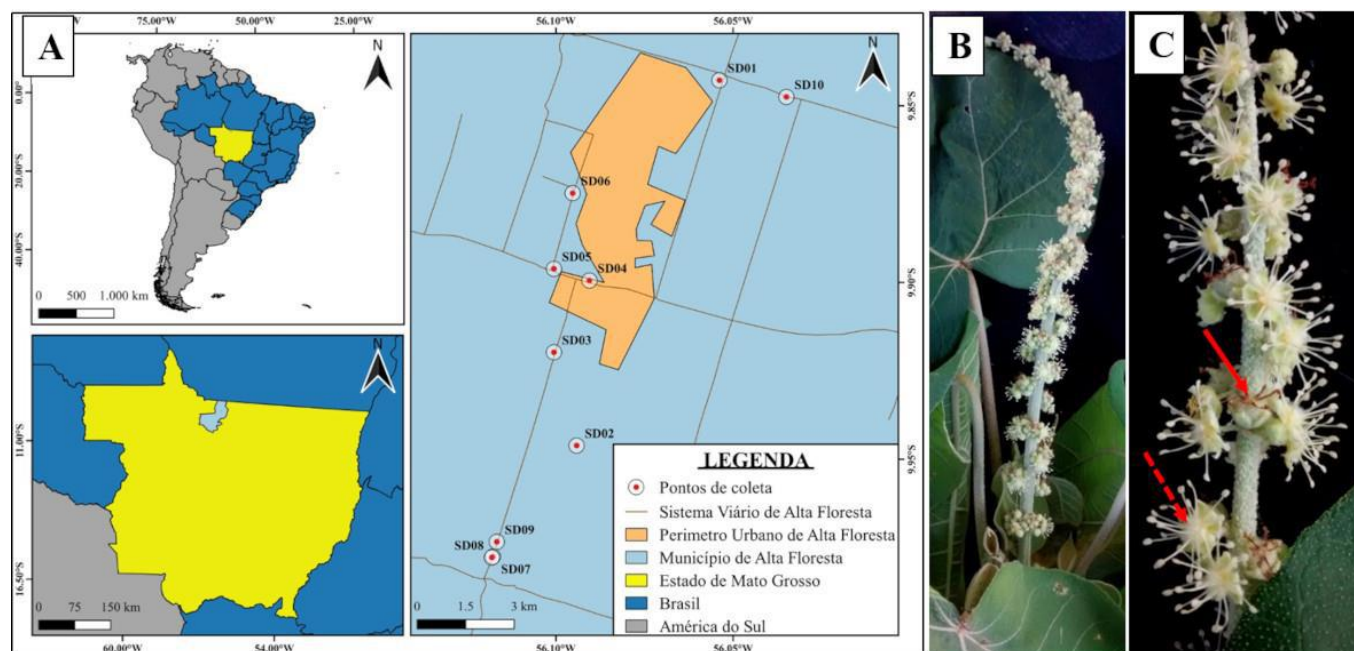
Neste sentido, este estudo teve por objetivo avaliar, por meio de testes colorimétricos, a viabilidade polínica e o índice meiótico, bem como identificar as substâncias de reserva nutritiva dos grãos de pólen de sangra d'água e caracterizá-los morfológicamente.

2. Metodologia

2.1 Área de estudo

Foram coletados botões florais em pré-antese de dez indivíduos de sangra d'água localizados no município de Alta Floresta (09° 02' 29" S a 11° 15' 45" S e 54° 44' 55" W a 58° 45' 10" W), Mato Grosso, Brasil (Figura 1). Os botões florais foram armazenados em frasco de vidro, fixados em etanol e ácido acético (3:1, v/v), mantidos em temperatura ambiente por 24 horas, sendo então transferidos para álcool 70% e mantidos sob refrigeração para posterior uso. As análises foram realizadas no Laboratório de Genética Vegetal e Biologia Molecular (GenBioMol) da Universidade do Estado de Mato Grosso Carlos Alberto Reyes Maldonado (UNEMAT), Campus Universitário de Alta Floresta.

Figura 1 - Localização geográfica da área de estudo. A) Pontos de coleta das flores de sangra d'água; B) Inflorescência; C) Flor masculina (seta pontilhada), Flor feminina (seta contínua).



Fonte: Autores.

2.2 Caracterização morfológica do pólen

Para a análise morfológica dos polens foi utilizado o método de acetólise, descrito por Erdtman (1943), e, com a finalidade de evitar erros devido à intumescência e alterações no seu tamanho, as lâminas contendo os grãos de pólen foram fotografadas no mesmo dia da realização do método de acetólise. As lâminas foram visualizadas em microscópio óptico binocular com magnitude de 400x (Biocam), sendo as imagens obtidas por uma câmera (CMOS 1.3) acoplada ao microscópio, com a auxílio do sistema de captura de imagem Tsviiew 7.

Foram mensurados os diâmetros maior e menor e a espessura da exina em 25 grãos de pólen de sangra d'água. As medidas foram realizadas com auxílio do software de análise quantitativa Anati Quanti 2® UFV (Aguiar et al., 2007). Os grãos de pólen foram classificados de acordo com a presença ou ausência e tipos de aberturas (Punt et al. 2007), o tamanho (Erdtman, 1945) e a forma (Erdtman, 1943). As descrições e terminologias adotadas foram baseadas no glossário de Barth (1965) e Punt et al. (2007).

2.3 Testes colorimétricos

As análises de viabilidade polínica (VP), índice meiótico (IM) e citoquímica foram realizadas por meio de um mix de botões florais. Para todas as análises foi utilizada a técnica de esmagamento descrita por Guerra e Souza (2002), onde as anteras foram colocadas sobre lâminas e os grãos de pólen foram liberados, em cerca de 100 µL de corante, com auxílio de um bastão de vidro, sendo posteriormente cobertos por uma lamínula e observados em microscópio óptico (aumento de 400x) utilizando a técnica de varredura. Para cada corante foram preparadas oito lâminas e analisadas 300 polens por lâmina.

Para VP foram utilizados os corantes carmim acético 2% (Pagliarini & Pozzobon, 2005) e reativo de Alexander (Alexander, 1980), sendo que à partir dos dados obtidos, a VP foi calculada conforme a fórmula: $VP (\%) = (n^\circ \text{ de grãos de pólen viáveis} / n^\circ \text{ de grãos de pólen contados}) \times 100$.

Já para o IM foi utilizado o corante carmim acético 2% e, após a contagem dos produtos pós-meióticos, o IM foi calculado conforme Love (1951), utilizando a fórmula: $IM = (n^\circ \text{ de tétrades normais} / n^\circ \text{ total de produtos pós-meióticos}) \times 100$.

Para as análises, tétrades com quatro células do mesmo tamanho foram consideradas normais e mônades, díades, tríades e políades foram consideradas anormais.

Por fim, a análise citoquímica foi realizada conforme o protocolo de Baker e Baker (1979) com alteração na porcentagem do corante lugol, onde os grãos de pólen foram corados com lugol 2% para verificar a presença de amido e sudan IV, para identificar lipídios, sendo classificados como positivos ou negativos para amido e lipídios.

2.4 Análise estatística

Para a caracterização morfológica do pólen, as medidas foram submetidas à análise estatística descritiva no programa Genes (Cruz, 2016), sendo este utilizado também para obtenção das médias e seus respectivos desvios padrões, bem como do coeficiente de variação e do intervalo de confiança.

Os dados da viabilidade polínica e índice meiótico foram organizados e calculados utilizando-se o software Microsoft Excel (2016), posteriormente submetidos à análise de variância (ANOVA), e as médias comparadas ao teste de Tukey a 1% de probabilidade pelo programa estatístico Genes (CRUZ, 2016).

3. Resultados e Discussão

3.1 Caracterização morfológica do pólen

Os grãos de pólen de sangra d'água são sem abertura (colpo e poro ausentes) e apresentaram média de diâmetro entre 125,01 – 128,54 μm (Tabela 1), sendo considerados muito grandes, de acordo com a classificação de Erdtman (1945). A exina apresentou, em média, 10,12 μm de diâmetro.

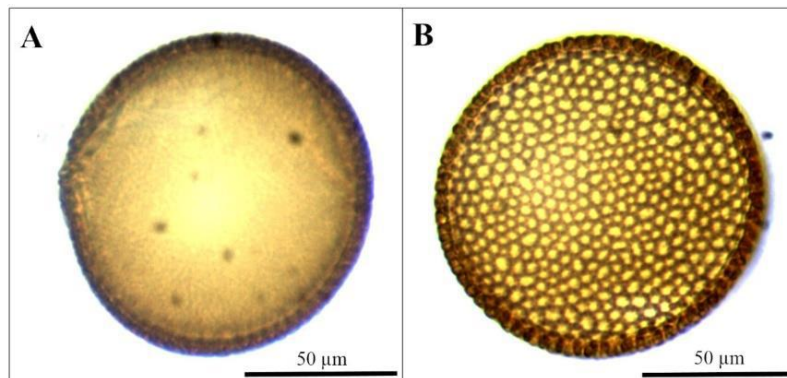
Tabela 1 - Medidas dos polens de sangra d'água coletados no município de Alta Floresta, Mato Grosso, e submetidos ao método de acetólise.

Variável	Mín. - Máx. (μm)	Média \pm DP (μm)	IC(95%)	CV (%)
D>	97,04 – 153,47	128,54 \pm 12,95	122,79 - 133,72	10,07
D<	92,20 – 150,68	125,01 \pm 13,45	119,04 - 130,39	10,76
D>/D<	1 – 1,10	1,03 \pm 0,02	1,02 - 1,04	2,29
EX	5,80 – 13,33	10,12 \pm 1,62	9,40 - 10,77	15,99

Mín. - Máx = mínimo e máximo; DP = desvio padrão; IC = intervalo de confiança; CV (%) = coeficiente de variação; D> = diâmetro maior; D< = diâmetro menor; D>/D< = relação entre diâmetro maior e diâmetro menor; EX = diâmetro da exina. Fonte: Autores.

Quanto à forma, os polens de sangra d'água, foram classificados como esféricos do subtipo prolato-esferoidal, conforme a classificação de Erdtman (1952) e, segundo o glossário palinológico de Barth (1965), apresentam ornamentação da superfície insulada e a exina do tipo padrão-Croton (Figura 2B). Lima e Pirani (2008) ao analisarem a morfologia polínica de 22 espécies do gênero *Croton* revelaram que os grãos de pólen são esféricos, com variações nos subtipos, diâmetro de médio a grande, e ornamentação da exina do tipo padrão-Croton, o que também foi verificado neste estudo com a sangra d'água (*C. urucurana*).

Figura 2 - A) Grão de pólen de sangra d'água; B) Ornamentação da superfície insulada.

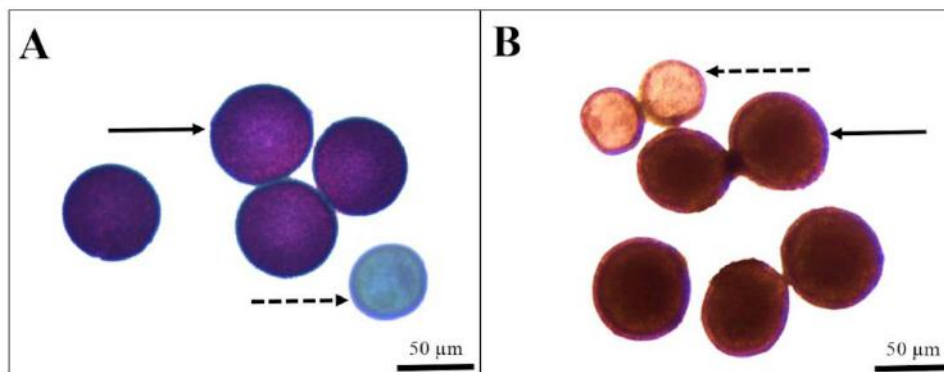


Fonte: Autores.

3.2 Testes colorimétricos

Os testes de viabilidade polínica utilizando o corante carmim acético 2% e o reativo de Alexander, mostraram-se eficientes na distinção entre grãos de pólen viáveis e inviáveis (Figura 3), considerando que ambos possibilitam avaliar a integridade de constituintes celulares como núcleo e parede celular (Peñaloza et al., 2005). O reativo de Alexander reage com o protoplasma e com a parede celular, corando-os de púrpura e verde, respectivamente, quando o grão de pólen se encontra íntegro e viável, e corando de verde os polens inviáveis, que não apresentam protoplasma (Alexander, 1980). O carmim acético 2%, por sua vez, reage com a cromatina íntegra, corando-a de vermelho, indicando que o grão de pólen está viável, e os inviáveis, não apresentam coloração (Pagliarini & Pozzobon, 2005).

Figura 3 - A) Grãos de pólen de sangra d'água corados com reativo de Alexander; B) Carmim acético 2%. Setas contínuas e tracejadas indicam, respectivamente, grãos de pólen viáveis e inviáveis.



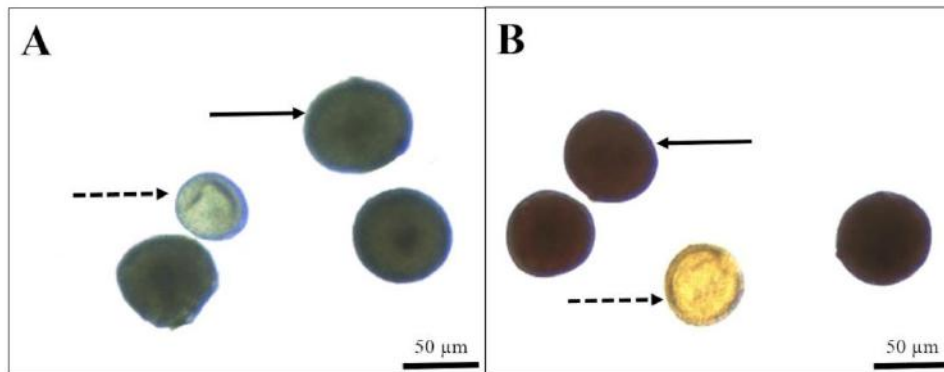
Fonte: Autores.

O corante carmim acético 2% indicou uma taxa de viabilidade de 99,17%. Resultados semelhantes foram descritos por Pimentel e Castro (2009), que ao investigarem a viabilidade polínica de *Croton sellowii* utilizando o mesmo corante identificaram uma alta viabilidade média dos grãos de pólen (93,70%). O reativo de Alexander identificou viabilidade média de 98,9% de grãos de polens. Ambos os corantes utilizados neste estudo indicaram alta viabilidade polínica da espécie sangra d'água, com médias superiores a 98%, o que, de acordo com Souza et al. (2002), indica eficiência no processo de fertilização, uma vez que esta, é diretamente proporcional à viabilidade polínica da espécie.

O teste citoquímico indicou que 98,75% dos grãos de pólen corados com lugol 2% testaram positivo para a presença de amido e 99,46% dos grãos de pólen corados com sudan IV testaram positivo para a presença de lipídio (Figura 4). Estudos relacionados a aspectos reprodutivos com o gênero *Croton* não foram encontrados na literatura, todavia trabalhos realizados

com os gêneros *Manihot* (Wolf et al., 2020) e *Ricinus* (Braga et. al. 2020), da família Euphorbiaceae, e utilizando os mesmos testes colorimétricos, verificaram que os grãos de pólen dos mesmos também apresentam amido e lipídios como substâncias de reserva.

Figura 4 - Identificação da substância de reserva nutritiva do pólen de sangra d'água. A) Lipídios; B) Amido. Setas contínuas e tracejadas indicam, respectivamente, grãos de pólen positivos e negativos para a substância de reserva.



Fonte: Autores.

De acordo com Pacini et al. (2006), durante o desenvolvimento do grão de pólen o amido é acumulado e convertido em pectinas, glicose, frutose e sacarose, aumentando a resistência do pólen em ambientes adversos e auxiliando na germinação do tubo polínico. Já os lipídios vão auxiliar na adesão dos grãos de pólen à antera e ao estigma, protegendo-os contra a radiação UV e perda de água, além de mantê-los unidos durante o transporte do pólen pelos insetos polinizadores (Pacini & Hesse, 2005). Pimentel & Castro (2009), ao investigarem a biologia reprodutiva de *Croton sellowii* verificaram a presença de vários polinizadores pertencentes às ordens Hymenoptera, Diptera, Lepidoptera, e Hemiptera, além de aracnídeos, o que também foi observado em flores de sangra d'água (*C. urucurana*), conforme demonstrado na Figura 5.

Figura 5 - Visitantes florais em sangra d'água.



Fonte: Autores.

Em relação ao índice meiótico, os botões florais utilizados mediam entre 1,96 mm e 2,07 mm. A média do índice meiótico de sangra d'água foi de 94,67% (Tabela 2), constatando que a espécie apresenta regularidade meiótica, o que foi corroborado pelo alto percentual de polens viáveis. Segundo Love (1951), plantas com IM acima de 90% apresentam alta estabilidade meiótica.

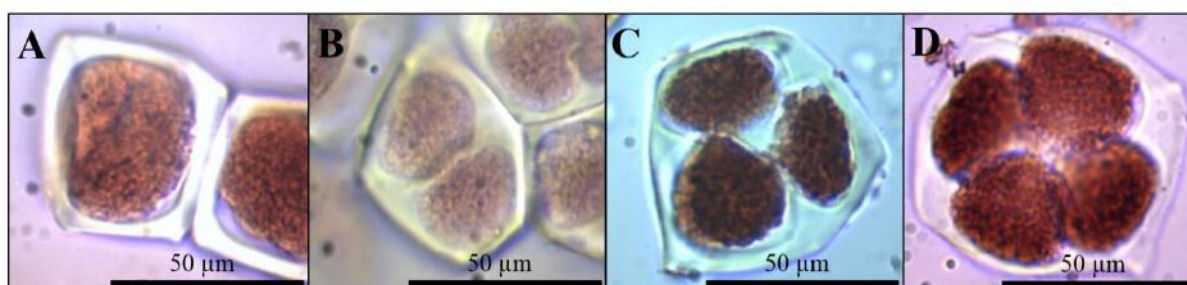
Tabela 2 - Número de produtos pós-meióticos normais e anormais e índice meiótico de sangra d'água.

Lâmina	Mônades	Díades	Tríades	Tétrades	Políades	Total	IM (%)
1	5	0	12	283	0	300	94,33
2	16	0	1	282	1	300	94,00
3	11	0	3	286	0	300	95,33
4	19	0	1	280	0	300	93,33
5	4	1	5	290	0	300	96,67
6	0	2	17	281	0	300	93,67
7	6	3	5	286	0	300	95,33
8	7	5	4	284	0	300	94,67
Média							94,67

Fonte: Autores.

A avaliação dos produtos pós-meióticos identificou, além de tétrades, produtos anormais como mônades, díades, tríades e políade, porém em pequena quantidade (Figura 6), segundo Pagliarini (2000), estas anormalidades podem estar relacionadas a problemas na citocinese, como a segregação cromossômica irregular, caracterizada pela migração precoce ou por cromossomos retardatários em metáfase I e anáfase I.

Figura 6 - Produtos pós-meiótico de sangra d'água. A) Mônade; B) Díade; C) Tríade; D) Tétrade.



Fonte: Autores.

Estes resultados são semelhantes aos encontrados por Braga et al. (2020) que ao estudarem o índice meiótico de *Ricinus communis* L. (Euphorbiaceae), também observaram irregularidades como mônades, díades e tríades, onde o IM médio foi de 78,30%, que apesar de ter ficado abaixo de 90% não influenciou na viabilidade polínica. Embora estudos sobre índice meiótico em espécies vegetais ser amplamente citado na literatura, não foram encontrados trabalhos realizados com a sangra d'água.

4. Considerações Finais

A espécie sangra d'água apresenta grãos de pólen do subtipo prolato-esferoidal, com a superfície insulada, contendo amido e lipídio como substâncias de reserva. A estabilidade meiótica, refletida pela alta porcentagem de polens viáveis e alto

índice meiótico, indica que a espécie está adaptada reprodutivamente ao meio onde encontra-se naturalmente no município de Alta Floresta, MT, Brasil. Portanto se faz necessários mais estudos com a espécie em diferentes regiões, afim de obter novas informações sobre seus aspectos reprodutivos visando traçar estratégias de conservação ou até mesmo programas de melhoramento genético.

Referências

- Aguiar, T. V., Santana-Santos, B. F., Azevedo, A. A., & Ferreira, R. S. (2007). Anati Quanti: software de análises quantitativas para estudos em anatomia vegetal. *Planta daninha*, 25, 649-659.
- Alexander, M. P. (1980). A versatile stain for pollen fungi, yeast and bacteria. *Stain technology*, 55(1), 13-18.
- Assad-Ludewigs, I. Y., Pinto, M., Silva Filho, N. L., Gomes, E., & Kanashiro, S. (1989). Propagação, crescimento e aspectos ecofisiológicos em *Croton urucurana* Baill. (Euphorbiaceae), arbórea nativa pioneira de mata ciliar. *Simpósio Sobre Mata Ciliar*, 284-298.
- Baker, H. G., & Baker, I. (1979). Starch in angiosperm pollen grains and its evolutionary significance. *American Journal of Botany*, 66(5), 591-600.
- Barth, O. M. (1965). Catálogo sistemático dos polens das plantas arbóreas do Brasil Meridional – Glossário Palinológico. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz*, 63(1), 133-162.
- Braga, L. N., Zortéa, K. É., Bispo, R., & Rossi, A. (2020). Estimativa da viabilidade polínica e índice meiótico em *Ricinus communis* L. por métodos colorimétricos. *Enciclopédia biosfera*, 17(32).
- Caruzo, M. B. R.; Secco, R. S.; Medeiros, D.; Riina, R.; Torres, D. S. C.; Santos, R. F. D.; Pereira, A. P. N.; Rossine, Y.; Lima, L. R.; Muniz Filho, E.; Valduga, E. *Croton* in Flora e Funga do Brasil (2022). *Jardim Botânico do Rio de Janeiro*. Disponível em: <https://floradobrasil.jbrj.gov.br/FB17546>
- Costa, P. M. A., Souza, V. C., Oliveira, I. S. S., Costa, V. S., & Barros, E. S. (2020). Viabilidade polínica e biologia floral de Mandacaru (*Cereus jamacaru* (DC)(Cactaceae)) Pollen viability and floral biology of Mandacaru (*Cereus jamacaru* (DC)(Cactaceae)) Viabilidad del polen y biología floral de Mandacaru (*Cereus jamacaru* (DC)(Cactaceae)). *Research, Society and Development*, 9(8), e997986671.
- Cruz, C. D. (2016). Genes Software-extended and integrated with the R, Matlab and Selegen. *Acta Scientiarum. Agronomy*, 38, 547-552.
- Erdtman, G. (1943). *An introduction to pollen analysis*. CBC. ABNT.
- Erdtman, G. (1945). Pollen morphology and plant taxonomy IV. Labiatae, Verbenaceae and Avicenniaceae. *Svenk Botanisk Tidskr*, 39, 279-285.
- Erdtman, G. (1952). Pollen morphology and plant taxonomy Angiosperms. Almqvist e Wiksell, *Stockholm*, 539p.
- Frescura, V. D. S., Laughinghouse IV, H. D., Dorow, T. S. D. C., & Tedesco, S. B. (2012). Pollen viability of *Polygala paniculata* L. (Polygalaceae) using different staining methods. *Biocell*, 36(3), 143-145.
- Furini, T., Pecegueiro, M. S., Herrmann, F., Silva, J. C., Barros, J. O., Domingues, S. C. O., & Karsburg, I. V. (2020). Métodos colorimétricos sob uso de reagentes sintéticos e alternativos para viabilidade polínica de *Bixa orellana* L. *Research, Society and Development*, 9(8), e330985817-e330985817.
- Guerra, M., & Souza, M. D. (2002). Como observar cromossomos: um guia de técnicas em citogenética vegetal, animal e humana. *Ribeirão Preto: FUNPEC*, 201.
- Knox, R. B. (1984). The pollen grain. In *Embryology of angiosperms* (pp. 197-271). Springer, Berlin, Heidelberg.
- Lima, L. R., & Pirani, J. R. (2008). Revisão taxonômica de *Croton* sect. *Lamprocroton* (Müll. Arg.) Pax (Euphorbiaceae ss). *Biota Neotropica*, 8(2), 177-231.
- Lorenzi, H. (1992). *Árvores Brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. São Paulo, Nova Odessa, Editora Plantarum, 352.
- Lorenzi, H. (2016). *Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil*. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 1(7), 384.
- Love, R. M. (1951). Varietal Differences in Meiotic Chromosome Behavior of Brazilian Wheats I. *Agronomy Journal*, 43(2), 72-76.
- Oliveira, L. B. P., & Pierre, P. M. O. (2018). Índice meiótico e palinologia de cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata* DC-Myrtaceae). *Revista de Ciências Agroveterinárias*, 17(4), 481-490.
- Pacini, E., & Hesse, M. (2005). Pollenkitt—its composition, forms and functions. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 200(5), 399-415.
- Pacini, E., Guarnieri, M., & Nepi, M. (2006). Pollen carbohydrates and water content during development, presentation, and dispersal: a short review. *Protoplasma*, 228(1), 73-77.
- Pagliarini, M. S. (2000). Meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility. *Genetics and Molecular biology*, 23, 997-1002.
- Pagliarini, M. S.; Pozzobon, M. T. (2005). II Curso de Citogenética Aplicada a Recursos Vegetais. *Brasília: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia*. 89.
- Peñaloza, A. (2005). II Curso de citogenética aplicada a recursos genéticos vegetais. *Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia—DF*.

- Pimentel, K. G. M., & Castro, C. C. (2009). Biologia reprodutiva de *Croton sellowi* Baill. (Euphorbiaceae) em uma restinga de Pernambuco.
- Pires, M. M. Y., de Souza, L. A., & Terada, Y. (2004). Biologia floral de *Croton urucurana* Baill. (Euphorbiaceae) ocorrente em vegetação ripária da ilha Porto Rico, Porto Rico, Estado do Paraná, Brasil. *Acta Scientiarum. Biological Sciences*, 26(2), 209-215.
- Punt, W., Hoen, P. P., Blackmore, S., Nilsson, S., & Le Thomas, A. (2007). Glossary of pollen and spore terminology. *Review of palaeobotany and palynology*, 143(1-2), 1-81.
- Roelis, B. V., Paiva, G. A., Roveda, A. P., Baldoni, A. B., Bispo, R. B., & Rossi, A. A. B. (2022). Meiose e viabilidade polínica de Castanheira-do-Brasil (*Bertholletia excelsa* Bonpl.). *Research, Society and Development*, 11(8), e4111830545-e4111830545.
- Souza, E. H., Souza, F. V. D., Rossi, M. L., Brancalleao, N., da Silva Ledo, C. A., & Martinelli, A. P. (2015). Viability, storage and ultrastructure analysis of *Aechmea bicolor* (Bromeliaceae) pollen grains, an endemic species to the Atlantic forest. *Euphytica*, 204(1), 13-28.
- Souza, M. D., Pereira, T. N. S., & Martins, E. R. (2002). 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*, 26(6), 1209-1217.
- Souza, V. C., & Lorenzi, H. (2005). Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. *Instituto Plantarum*.
- Takahasi, A., & Fina, B. G. (2004). Síndromes de dispersão de sementes de uma área do Morro do Paxixi, Aquidauana, MS, Brasil. In: *IV Simpósio sobre recursos naturais e sócio-econômicos do Pantanal [IV Symposium on the natural and economical resources of the Pantanal]*. MS, Brasil: Corumbá.
- Vieira, R. F., Camillo, J., Coradin, L., & Vieira, R. F. (2018). Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro: Região Centro-Oeste. Brasília, DF: MMA.
- Volk, G. M. (2011). Collecting pollen for genetic resources conservation. *Collecting plant genetic diversity: technical guidelines*, 1-10.
- Wolf, M., Santos, L., Pedri, E. C., Tiago, A., & Rossi, A. (2020). Citoquímica e viabilidade polínica de etnovarietades de mandioca (*Manihot esculenta* Crantz). *Enciclopédia Biosfera*, 17(32).
- Zortéa, K. É. M., Rossi, A. A. B., Cordeiro, A. G. M., Sander, N. L., Cardoso, E. S., & Silva, C. J. (2022). Pollen morphology, meiotic index and pollen viability in individuals of *Vochysia divergens* Pohl. native to the Amazon and the Pantanal. *Research, Society and Development*, 11(4), e51511427540-e51511427540.