

MEIO DE CULTURA E CONDIÇÃO IDEAIS PARA GERMINAR O PÓLEN DE *Lycopersicon esculentum* Mill. cv. SANTA CRUZ KADA¹

Cynthia Araújo de Lacerda²
Laede Maffia de Oliveira³
Élcio Cruz de Almeida⁴
José Oscar Gomes de Lima⁵

1. INTRODUÇÃO

Na germinação de pólen *in vitro*, dois fatores são de primordial importância: meio de cultura que possibilite o máximo de germinação e ambiente propício a sua ocorrência. Portanto, esta pesquisa objetiva encontrar o meio de cultura apropriado e a condição satisfatória para se obter a germinação de grãos de pólen de *Lycopersicon esculentum*, cv. Santa Cruz Kada.

CHARLES e HARRIS (3) estudaram o efeito das temperaturas de 10; 12,8; 18,3; e 26,7°C na germinação do pólen e ZAMIR *et alii* (9), a 5 e a 15°C, no escuro. MAISONNEUVE e DEN NIJS (4) estudaram a germinação do pólen de quatro grupos de duas linhas puras de variedades de tomate a 10, 14 e 22°C, sob luz natural e a cerca de 100% de umidade.

PRASAD e BATHAM (6) estudaram a germinação do pólen de 16 linhagens e de quatro cultivares de tomateiro, à temperatura ambiente, em soluções de sacarose a 5, 10, 15 e 20%. TRABELSI (8) elaborou o

¹ Parte de tese de mestrado em Entomologia apresentada à Universidade Federal de Viçosa. Aceito para publicação em 12.11.1994.

² Campus Experimental de Caruaru - IPA - Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária. Cx. Postal 125. 55000-000 Caruaru, PE. Bolsista da CAPES

³ Departamento de Matemática, Universidade Federal de Viçosa. 36571-000 Viçosa, MG.

⁴ Departamento de Biologia Vegetal, Universidade Federal de Viçosa.

⁵ Departamento de Biologia Animal, Universidade Federal de Viçosa.

estudo a 20°C, com 80% de umidade, nos meios de cultura contendo ágar a 1%, associado à sacarose (5, 10, 12 e 15%) e ao H₃BO₃ (100, 120 e 150 ppm), como também o fez na mesma temperatura e umidade, no meio com ágar a 1% associada a sacarose a 10% , ao H₃BO₃ (100 ppm), ao KNO₃ (100 ppm), ao Ca(NO₃)₂ . 4H₂O (300ppm) e ao MgSO₄ (200ppm).

2. MATERIAL E MÉTODOS

Tomateiros cv. Santa Cruz Kada cultivados em casa de vegetação do Departamento de Biologia Animal da Universidade Federal de Viçosa, em Viçosa, Minas Gerais, serviram de fonte de pólen necessário ao desenvolvimento desta pesquisa.

Mantiveram-se as plantas à temperatura de 18 a 23°C, ideal para o desenvolvimento do tomateiro (5).

O pólen utilizado neste estudo foi coletado de flores, quando no estádio 'K' do seu desenvolvimento, ideal para a coleta de pólen a ser germinado, no qual cada flor se apresenta com 19 mm de comprimento, totalmente aberta, com sépalas e pétalas totalmente reflexas; as pétalas possuem nervura central que se sobressai, por sua tonalidade verde-brilhante, do restante do limbo, de cor amarelo-limão. Tais cores contribuíram para atrair uma abelha, não se identificou a espécie, e que provavelmente seja um agente polinizador desta cultura. O inseto, em inflorescências com variados estádios de desenvolvimento, só visitava as flores do estádio 'K'. Neste estádio, o androceu é totalmente exposto; as anteras possuem a mesma tonalidade amarela das pétalas e iniciam a deiscência e a liberação do pólen, que se encontra pulverulento e em grande quantidade. O estigma encontra-se receptivo e fértil, já com grãos de pólen sobre ele, alguns em início de germinação, portanto com o aparelho reprodutor funcional.

Em Viçosa(MG), há grande oscilação de temperatura ambiente, o que poderia mascarar os resultados do presente trabalho. Optou-se, então, por germinar o pólen em estufa incubadora à temperatura controlada de 22 ± 2°C, considerada ideal para a germinação (7) e para o crescimento do tubo polínico do tomateiro (4).

Estudou-se, preliminarmente, durante 24 horas, e com leituras a intervalos de uma hora, a germinação do pólen em soluções de sacarose a 5, 10, 15, 20, 25, 40 e 60% de concentração, em laboratório, sob luz difusa e à temperatura ambiente.

Em etapa posterior, estudou-se a germinação do pólen em oito meios de cultura sólidos (Quadro 1), por um período de 36 horas e com leituras a intervalos de 12 horas, nas seguintes condições de germinação:

- 1 - à temperatura ambiente e sob luz difusa;
- 2 - à temperatura ambiente e sob luz fluorescente de 40 W, a 40 cm de distância da placa de Petri com o meio de cultura; e
- 3 - em estufa incubadora, à temperatura de $22 \pm 2^\circ\text{C}$ (5), e sob luz fluorescente de 40 W, a 40 cm de distância da placa de Petri com o meio.

No laboratório de Epidemiologia, autoclavaram-se estes meios de cultura a 121°C por 20 minutos. Em Câmara de Fluxo Translaminar, a

QUADRO 1 - Meios de cultura testados para a germinação do pólen do tomateiro, *Lycopersicon esculentum* Mill. cv. Santa Cruz Kada

Meio	Ágar	Ácido bórico	Cloreto de cálcio	Sacarose
	%	(H ₃ BO ₃) - ppm	(CaCl ₂) - ppm	%
A ₁	0,5	50	0	0,0
A ₂	0,5	50	0	2,5
A ₃	0,5	50	0	5,0
A ₄ *	0,5	50	0	10,0
B ₁	1,0	60	30	0,0
B ₂	1,0	60	30	2,5
B ₃	1,0	60	30	5,0
B ₄	1,0	60	30	10,0

* MAISONNEUVE e DEN NIJS (4)

$24 \pm 1^\circ\text{C}$, verteram-se os meios para placas de Petri de 4,5 cm de diâmetro por 2 cm de altura, previamente lavadas e esterilizadas a 120°C , por 210 minutos. Nessas placas e sobre o meio de cultura, espalhou-se o pólen com o auxílio de fino pincel de pêlos, imediatamente após o mesmo haver sido manualmente retirado das anteras, com o auxílio de duas agulhas de injeção previamente flambadas e acopladas a duas seringas descartáveis.

Ambas as operações foram realizadas sob lupa binocular da marca Wild Heerbrugg, à temperatura ambiente. Deixou-se, então, o pólen a germinar nas condições já descritas.

O pólen empregado foi coletado de flores de tomateiros cultivados em casa de vegetação, à temperatura de 18 a 23°C , ideal para o desenvolvimento dessas plantas quando cultivadas para a produção de pólen, segundo MINAMI e HAAG (5).

Às 12, 24 e 36 horas de incubação, observou-se a percentagem de germinação do pólen, colocando-se pequenas quantidades de cada meio, corado com Azul de Aman em lâminas, e observaram-nas ao microscópio óptico, no aumento 63. Considerou-se germinado o grão de pólen que

emitiu tubo polínico de, no mínimo, 3,2 μm de comprimento.

Com base nas maiores percentagens de germinação e nos tempos de incubação, selecionaram-se o meio de cultura mais favorável e a melhor condição para a germinação do pólen.

Paralelamente, testaram-se os efeitos dos meios de cultura, dos níveis de sacarose e dos tempos de incubação sobre a germinação do pólen do cv. Santa Cruz Kada, por meio de análise de variância e ajustamento de equações de regressão dos dados observados, usando as variáveis quantitativas, níveis de sacarose, tempos de incubação e a variável qualitativa meio de cultura. Para esta última foi utilizada a variável "dummy" ou zero-um (1, 2), em que se ajusta um único plano de regressão e dele se extraem equações pela substituição da variável qualitativa por variáveis codificadas quantitativamente. Este método permite o uso de regressão em presença de variáveis discretas. Foi utilizado um modelo que permite variações simultâneas nas declividades e nos interceptos das curvas. O modelo usado para o ajustamento das equações aos dados obtidos foi o seguinte:

$$y_i = b_0 + b_1x_{1i} + b_2x_{2i} + b_3d_i + b_4d_ix_{1i} + b_5d_ix_{2i} + b_6d_ix_{1i}x_{2i} + e_i, \text{ em que}$$

y_i = percentagem de germinação do pólen (variável dependente);

b_0 = constante de regressão;

b_i ($i = 1 \dots 6$) = coeficientes da regressão;

x_{1i} = níveis de sacarose (variável independente e quantitativa);

x_{2i} = tempo de incubação do pólen (variável independente e quantitativa);

d_i = variável "dummy" para o intercepto dos meios de cultura;

d_ix_{1i} = variável "dummy" que modifica a declividade de x_{1i} nos meios de cultura;

d_ix_{2i} = variável "dummy" que modifica a declividade de x_{2i} nos meios de cultura;

$d_ix_{1i}x_{2i}$ = variável "dummy" que modifica a declividade de $x_{1i}x_{2i}$ nos meios de cultura; e

e_i = erro aleatório, pressuposto normal e independentemente distribuído, com média zero e variância σ^2 .

O grau de ajustamento do modelo aos dados foi avaliado pelos coeficientes de determinação R^2 .

Para o teste de interceptos, declividade e interceptos e declividade simultaneamente, de cada condição de germinação, em relação ao modelo geral da equação de regressão, utilizou-se a estatística F:

$$F_{(n1; n2)} = \frac{\frac{\Delta SW - \Delta Sr}{\Delta Sr}}{\frac{n_2}{n_1}}, \text{ em que}$$

$\hat{S}W$ = soma dos quadrados dos desvios da regressão, baseada na equação de regressão estimada, quando se retira uma variável "dummy" do modelo completo;

$\hat{S}r$ = soma dos quadrados dos desvios da regressão, baseada no modelo completo;

n_1 = número de restrições independentes pela hipótese do modelo; e

n_2 = graus de liberdade do modelo completo.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

O pólen do cv. Santa Cruz Kada não germinou nas soluções de sacarose à temperatura ambiente e sob luz difusa. Todavia, dependendo da linhagem ou do cultivar estudado, foi conseguido até 70,8% de germinação de pólen de *L. esculentum*, em solução de sacarose a 10% (6).

A germinação do pólen nos meios de cultura sólidos encontra-se expressa em percentagem no Quadro 2. O pólen germinou mais (até 96%) no meio de cultura com 0,5% de ágar, 50 ppm de H_3BO_3 e 10% de sacarose, e incubado em estufa a $22 \pm 2^\circ C$, sob luz fluorescente de 40 W a 40 cm da placa de Petri com o meio.

Tem sido verificada a interferência da temperatura sobre a germinação do pólen de *L. esculentum*, que variou de 0 a $10^\circ C$, a 98%, a $18,3$ e a $26,7^\circ C$ (3) e de até 30%, a $10^\circ C$, para até 40%, a $14^\circ C$ (4), dependendo da seleção utilizada. ZAMIR *et alii* (9) verificaram redução de 89 a 100% na germinação do pólen a $5^\circ C$.

QUADRO 2 - Percentagem de germinação dos grãos de pólen nos meios de cultura "A" e "B" em 12, 24 e 36 horas de incubação, sob luz difusa e luz fluorescente à temperatura ambiente e sob luz fluorescente a $22 \pm 2^\circ C$.

Meio	Temperatura ambiente						$22 \pm 2^\circ C$		
	Luz difusa			Luz fluorescente			Luz fluorescente		
	12 h	24 h	36 h	12 h	24 h	36 h	12 h	24 h	36 h
A ₁	3	4	6	4	8	7	7	12	13
A ₂	30	47	43	57	67	48	67	72	88
A ₃	17	40	27	53	55	50	65	78	81
A ₄	55	48	62	76	57	65	78	75	96
B ₁	14	30	53	50	63	48	11	5	4
B ₂	39	44	58	33	40	45	26	34	24
B ₃	35	49	50	45	52	60	40	34	25
B ₄	35	48	40	31	35	45	49	58	36

MAISONNEUVE e DEN NIJS (4) obtiveram até 40% de germinação do pólen de quatro variedades de *L. esculentum* no mesmo meio de cultura utilizado nesta pesquisa, a 14°C e em seis horas de incubação. Essa diferença na percentagem de germinação, em relação à verificada nesta pesquisa, pode ser explicada pelas diferenças em relação às variedades, à temperatura e aos tempos de incubação, além da inobservância do estádio ideal de coleta do pólen. Esse também não foi considerado por TRABELSI (8), que em 24 horas, a 20°C, obteve no máximo 60% de germinação de *L. esculentum*, em meio de cultura com os mesmos componentes utilizados nesta pesquisa, em diferentes concentrações. STANLEY e LINSKENS (7) afirmam que é necessária uma taxa de germinação do pólen de tomateiro superior a 60% para se obter uma boa frutificação. Pelos nossos resultados, o cv. estudado ultrapassa esta taxa, o que nos leva a concluir que o pólen não é o fator limitante na produção das plantas.

Os coeficientes de regressão estimados e os de determinação para equações alternativas, bem como a análise de variância da regressão dos dados de percentagem de germinação do pólen do tomateiro, à temperatura ambiente e sob luz difusa, encontram-se no Quadro 3. Nota-se que há influência isolada do nível de sacarose, a 1% de probabilidade, na diferença das respostas da percentagem de germinação do pólen. A concentração de sacarose no meio de cultura, 10%, é considerada ótima para a germinação *in vitro* do pólen do tomateiro (4).

A análise estatística dos dados de percentagem de germinação do pólen do tomateiro, à temperatura ambiente e sob luz fluorescente, encontra-se no Quadro 4. Observa-se a influência do meio de cultura, em maior grau quando associado aos níveis de sacarose e aos tempos de incubação, e em menor grau, quando só associado aos níveis de sacarose, a 1% de probabilidade, na diferença das respostas da percentagem de germinação do pólen. Os níveis de sacarose influem, em mesmo nível de probabilidade, nas respostas da germinação do pólen em maior grau isoladamente e em menor grau, quando em associação com os meios de cultura e os tempos de incubação estudados.

Os coeficientes de regressão estimados, os de determinação para equações alternativas e a análise de variância dos dados do número de grãos de pólen do tomateiro transformados, de pólen incubado em estufa a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ e sob luz fluorescente, estão no Quadro 5. Verifica-se, a 1% de probabilidade, influência isolada do meio de cultura e do meio associado aos níveis de sacarose, na diferença das respostas da percentagem de germinação do pólen. Os níveis de sacarose influem, no mesmo nível de probabilidade, isoladamente e também quando em conjunto com os meios e com os tempos de incubação, na germinação do

QUADRO 3 - Coeficientes de regressão estimados, coeficientes de determinação para equações alternativas e análise de variância da regressão dos dados de percentagem de germinação do pólen do tomateiro, *Lycopersicon esculentum* Mill., cv. Santa Cruz Kada, deixado à temperatura ambiente e sob luz difusa

Equação nº	Parâmetros de regressão estimados						Coef. de determinação (R ²)	Soma dos quadrados dos desvios da regressão	GL dos desvios da regressão	F
	\hat{b}_0	\hat{b}_1	\hat{b}_2	\hat{b}_3	\hat{b}_4	\hat{b}_5				
1	4,9503	4,2590	0,3437	0,9832	-0,6438	1,0312	-0,1286	69,85	2032,9260	17
2	4,9501	4,2590	0,3437	14,4833	-3,7295	0,4687	-	65,99	2293,2730	18
3	-2,3292	4,2590	0,6470	25,7332	-2,9732	-	-0,0315	64,51	2393,2540	18
4	5,3023	4,1785	0,3437	-1,8333	-	1,1193	-0,1487	69,73	2041,4220	18
5	-0,6748	4,2590	0,5781	25,7333	-3,7295	-	-	64,12	2419,8400	19
6	13,1084	2,3943	0,3437	-1,8333	-	0,4687	-	49,08	3434,2640	19
7	-4,1282	3,7213	0,8200	21,0283	-	-	0,1106	60,62	2655,5380	19
8	7,4834	2,3943	0,5781	9,4167	-	-	-	47,20	3560,8270	20
9	31,8333	-	-	9,4167	-	-	-	07,89	6211,8830	22
10	13,2001	4,2590	-	25,7333	-3,7295	-	-	52,70	3189,8990	20
11	23,5833	-	0,3437	-1,8333	-	0,4687	-	21,18	5315,2580	20
12	12,1917	2,3943	0,5781	-	-	-	-	39,31	4092,8680	21
13	26,0667	2,3943	-	-	-	-	-	27,89	4862,9260	22
14	22,6667	-	0,5781	-	-	-	-	11,42	5973,8630	22

n.s. Não-significativo, a 1 % de probabilidade, pelo teste F.

** Significativo, a 1 % de probabilidade, pelo teste F.

QUADRO 4 - Coeficientes de regressão estimados, coeficientes de determinação para equações alternativas e análise de variância dos dados de percentagem de germinação do pólen do tomateiro, *Lycopersicon esculentum* Mill., cv. Santa Cruz Kada, deixado à temperatura ambiente e sob luz fluorescente

Equação	Parâmetros de regressão estimados	Coef. de determinação (R^2)						Soma dos quadrados dos desvios da regressão	GL dos desvios da regressão	F
		\hat{b}_0	\hat{b}_1	\hat{b}_2	\hat{b}_3	\hat{b}_4	\hat{b}_5			
1	29,0668	4,9181	-0,2083	18,1336	-7,5162	0,3666	0,0567	56,99	3403,3550	17
2	29,0668	4,9181	-0,2083	12,1833	-6,1562	0,6146	-	56,35	3453,9380	18
3	26,4786	4,9181	-0,1005	26,9333	-8,3444	-	0,0912	56,42	3448,9100	18
4	33,1772	3,9785	-0,2083	-14,7500	-	1,3943	-0,1782	42,35	4561,9060	18
5	21,6918	4,9181	0,0989	26,9333	-6,1562	-	-	53,61	3671,4920	19
6	42,5333	1,8400	-0,2083	14,7500	-	0,6146	-	17,07	6562,7890	19
7	21,4297	3,4090	0,3850	13,7287	-	-	-0,1307	30,31	5514,8670	19
8	35,1584	1,8400	0,0989	0,0000	-	-	-	14,32	6780,3480	20
9	45,5833	-	-	0,0000	-	-	-	00,00	7913,8050	22
10	24,0668	4,9181	-	26,9333	-6,1562	-	-	53,32	3694,0550	20
11	50,5833	-	-0,2083	-14,7500	-	0,6146	-	03,03	7673,6800	20
12	35,1584	1,8400	0,0989	-	-	-	-	03,03	6780,3480	21
13	37,5334	1,8400	-	-	-	-	-	14,04	6802,9100	22
14	43,2083	-	0,0989	-	-	-	-	00,28	7891,2420	22

n.s. Não-significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste F.

** Significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste F.

QUADRO 5 - Coeficientes de regressão estimados, coeficientes de determinação para equações alternativas e análise de variância dos dados do número de grãos de pólen do tomateiro, *Lycopersicon esculentum* Mill., cv. Santa Cruz Kada, transformados em arco-seno $\sqrt{(x + 3/8) / (n + 3/4)}$ em radianos, de pólen colocado em estufa incubadora a $22 \pm 2^\circ\text{C}$ e sob luz fluorescente*

Equação nº	Parâmetros de regressão estimados					Coef. de determinação (R ²)	Soma dos quadrados dos desvios da regressão	GL dos desvios da regressão
	\hat{b}_0	\hat{b}_1	\hat{b}_2	\hat{b}_3	\hat{b}_4			
1	1,4006	0,1247	0,0072	-0,3046	-0,0148	-0,0098	0,0003	58,58
2	1,4006	0,1247	0,0072	-0,3284	-0,0094	-0,0084	-	58,56
3	1,4504	0,1247	0,0043	-0,4739	0,0011	-	-0,0006	58,28
4	1,4131	0,1218	0,0072	-0,3695	-	-0,0075	-0,0002	58,51
5	1,4733	0,1247	0,0030	-0,4739	-0,0094	-	-	24,2546
6	1,4211	0,1200	0,0072	-0,3695	-	-0,0084	-	24,1223
7	1,4503	0,1250	0,0043	-0,4714	-	-	-0,0006	58,20
8	1,4939	0,1200	0,0030	-0,5149	-	-	-	58,50
9	2,0707	-	-	-0,5149	-	-	-	24,3059
10	1,5251	0,1247	-	-0,4739	-0,0094	-	-	24,1318
11	1,9462	-	0,0072	-0,3695	-	-0,0084	-	58,13
12	1,2364	0,1200	0,0030	-	-	-	-	24,2548
13	1,2881	0,1200	-	-	-	-	-	24,4134
14	1,7615	-	0,0030	-	-	-	-	124

* X = Número de grãos de pólen germinados.

n.s. Não-significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste F.

n = Número total dos grãos de pólen germinados e não-germinados.

** Significativo, a 1% de probabilidade, pelo teste F.

pólen. Quando em associação com os níveis de sacarose, o tempo de incubação influiu nas respostas da percentagem de germinação do pólen.

4. CONCLUSÕES

1. O pólen do tomateiro cv. Santa Cruz Kada germinou melhor no meio de cultura com 0,5% de ágar, 50 ppm de H_3BO_3 e 10% de sacarose e incubado em estufa, a $22 \pm 2^\circ C$, sob luz fluorescente de 40 W a 40 cm da placa de Petri com o meio.
2. À temperatura ambiente e sob luz difusa, verificou-se a influência dos níveis de sacarose, a 1% de probabilidade, na diferença das respostas da percentagem de germinação do pólen do mesmo cultivar.
3. À temperatura ambiente e sob luz fluorescente de 40 W a 40 cm da placa de Petri com o meio de cultura, houve influência do meio associado aos níveis de sacarose e aos tempos de incubação; do meio associado aos níveis de sacarose, e dos níveis de sacarose; isoladamente, a 1% de probabilidade, na diferença das respostas da germinação do pólen do mesmo cultivar.
4. Quando incubado em estufa a $22 \pm 2^\circ C$, e sob luz fluorescente de 40 W a 40 cm da placa de Petri com o meio, o pólen do mesmo cultivar sofreu influência do meio de cultura, isolado e em conjunto com os níveis de sacarose; dos níveis de sacarose isoladamente; e associados aos meios de cultura e aos tempos de incubação ou associados somente aos tempos de incubação, a 1% de probabilidade, na diferença das respostas da percentagem de sua germinação.

5. RESUMO

Na germinação de pólen *in vitro*, dois fatores são de primordial importância: um meio de cultura que possibilite o máximo de germinação, e o ambiente propício à sua ocorrência. Com o objetivo de encontrá-los, foi feita esta pesquisa. Observou-se a taxa de germinação de pólen de plantas do cv. Santa Cruz Kada em soluções de sacarose a várias concentrações, em laboratório, sob luz difusa e à temperatura ambiente com leituras de hora em hora por 24 horas; em oito meios de cultura sólidos, por 36 horas e com leituras a intervalos de 12 horas; à temperatura ambiente, sob luz difusa e sob luz fluorescente de 40 W a 40 cm da placa de Petri com o meio; e em estufa incubadora a $22 \pm 2^\circ C$ e sob luz fluorescente de 40 W a 40 cm da placa com o meio. O pólen foi coletado quando fértil e viável. Paralelamente, testaram-se os efeitos dos meios de cultura, dos níveis de sacarose e dos tempos de incubação sobre a germinação do pólen, por meio de análise de variância e ajustamento de

equações de regressão dos dados, usando as variáveis quantitativas níveis de sacarose, tempos de incubação e a variável qualitativa meio de cultura. Para esta, utilizou-se a variável "dummy" em que se ajusta um plano de regressão e dele se extraem equações, substituindo-se a variável qualitativa por variáveis codificadas quantitativamente. O pólen germinou mais (até 96%) no meio com 0,5% de ágar, 50 ppm de H₃BO₃ e 10% de sacarose e incubado em estufa, a 22 ± 2°C, sob luz fluorescente de 40 W a 40 cm da placa com o meio. Nesta condição, o pólen do mesmo cultivar sofreu influência do meio de cultura isolado e em conjunto com os níveis de sacarose; dos níveis de sacarose isoladamente e associados aos meios e aos tempos de incubação ou só associados aos tempos de incubação, a 1% de probabilidade, na diferença das respostas da percentagem de sua germinação.

6. SUMMARY

This study emphasizes the need of a culture medium, good temperature and light as indispensable factors for in vitro pollen germination of the tomato cultivar Santa Cruz Kada. It was observed that the ideal medium is composed of 0.5% agar, 50 ppm boric acid and 10% saccharose, stove- incubated at 22 ± 2°C, under 40 W fluorescent light.

7. LITERATURA CITADA

1. BEN-DAVID, S. & TOMEK, W. G. *Allowing for slope and intercept changes in regression analysis*. Ithaca, Cornell University, 1975. 22p. (Tech. Bull. 179).
2. CAIXETA, T. J. *Estudo Comparativo entre Sistemas de Irrigação por Sulco e Gotejamento e Efeito da Lâmina de Água e Freqüência de Irrigação por Gotejamento na Cultura do Pimentão*. Viçosa, UFV, 1978. 60p. (Tese Mestrado).
3. CHARLES, W. B. & HARRIS, R. E. Tomato fruit-set at high and low temperatures. *Canadian Journal of Plant Science*, 52:497-506, 1972.
4. MAISONNEUVE, B. & DEN NIJS, A. P. M. In vitro pollen germination and tube growth of tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.) and its relation with plant growth. *Euphytica*, 33:833-840, 1984.
5. MINAMI, K. & HAAG, H. P. *O Tomateiro*. 2 ed. Campinas, Cargill, 1989. 397p.
6. PRASAD, A. & BATHAM, R. D. Studies on pollen morphology, viability and germination in tomato (*Lycopersicon esculentum* Mill.). *Plant Science*, 7:71-75, 1975.
7. STANLEY, R. G. & LINSKENS, H. F. *Pollen biology, biochemistry, management*. New York, Springer-Verlag, 1974. 307p.
8. TRABELSI, M. A reliable method for testing fruit setting ability in tomato using in vitro pollen germination. *Mededelingen Faculteit Landbouwwetenschappen*, 50:1343-1356, 1985.
9. ZAMIR, D.; TANKSLEY, S.D. & JONES, R.A. Low temperature effect on selective fertilization by pollen mixtures of wild and cultivated tomato species. *Theoretical and Applied Genetics*, 59:235-238, 1981.