



UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
DEPARTAMENTO DE CIÊNCIA FLORESTAL

POLINIZAÇÃO E MANEJO DE PÓLEN DE *Psidium cattleyanum* SABINE

Maurício Mateus Rios de Souza

RECIFE
2024

Maurício Mateus Rios de Souza

POLINIZAÇÃO E MANEJO DE PÓLEN DE *Psidium cattleianum* SABINE

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Departamento de Ciência Florestal como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Engenharia Florestal.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Gallo

Co-orientador: Me. Ramôn da Silva Santos

RECIFE
2024

Dados Internacionais de Catalogação na
Publicação Sistema Integrado de Bibliotecas da
UFRPE Bibliotecário(a): Lorena Teles – CRB-4
1774

S719p Souza, Maurício Mateus Rios de.
Polinização e manejo de pólen de *Psidium cattleianum*
Sabine / Maurício Mateus Rios de Souza. – Recife, 2024.

37 f.; il.

Orientador(a): Ricardo Gallo.

Co-orientador(a): Ramôn da Silva Santos.

Trabalho de Conclusão de Curso
(Graduação) – Universidade Federal Rural de
Pernambuco, Bacharelado em Engenharia
Florestal, Recife, BR- PE, 2025.

Inclui referências.

1. Araçá. 2. Fertilização de plantas. 3.
Plantas - Melhoramento genético. 4. Plantas -
Reprodução 5. Polinização. I. Gallo, Ricardo,
orient. II. Santos, Ramôn da Silva, coorient. III.
Título

POLINIZAÇÃO E MANEJO DE PÓLEN DE *Psidium cattleianum* SABINE

Aprovada em 27 de setembro de 2024

BANCA EXAMINADORA

MSc. Moema Barbosa de Sousa
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Examinadora

Prof. Dr. Richieli Arlbert Rodrigues Silva
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Examinador

Prof. Dr. Ricardo Gallo
Universidade Federal Rural de Pernambuco
Orientador

RECIFE 2024

AGRADECIMENTOS

Ao orientador Ricardo Gallo, pela sua valiosa compreensão, e ao coorientador Ramon Santos, pela paciência incansável, determinação em ensinar e constante encorajamento. À Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE e aos professores do Departamento de Ciência Florestal – DCFL, por proporcionarem e compartilharem experiências que me motivaram a seguir em frente.

À minha amiga Eliene Francelino, que sempre esteve ao meu lado, oferecendo apoio e tornando este percurso mais leve e divertido. À Sarah Aylana, pelos conselhos valiosos e pela ajuda prestada durante este período.

À minha mãe, Ana Rios, que sempre esteve disposta a me escutar e apoiar quando eu mais precisava. Sem ela, este trabalho não estaria concluído; ela foi meu exemplo e suporte incondicional.

RESUMO

A família Myrtaceae abriga uma ampla diversidade de espécies com frutos comestíveis, com destaque para o araçá amarelo (*Psidium cattleianum* Sabine), que apresenta potencial econômico nas regiões Nordeste e Sul do Brasil. Diversas metodologias estão sendo desenvolvidas para a aplicação de técnicas de controle de polinização, visto que o pólen é um fator que se torna crucial na produção de frutos, podendo ser utilizado no aperfeiçoamento de genótipos. Nesse sentido o estudo do manejo polínico também se vê necessário, uma vez que são raras a ocorrência de doenças transmitidas via pólen, permitindo a transferência segura de gametas. Assim, o presente estudo tem por objetivo avaliar técnicas de polinização e manejo do pólen de *P. cattleianum* para utilização em programas de melhoramento na Zona da Mata Norte Pernambucana. Para a biologia floral foram utilizados 5 botões florais para cada tratamento, totalizando 11 tratamentos e 3 técnicas de polinização (polinização aberta, autopolinização e polinização cruzada), utilizando acessos do banco germoplasma do Instituto Agrônomo de Pernambuco (IPA) na estação experimental de Itambé-PE. Foram calculados os índices de autoincompatibilidade (IAI) e o de eficiência reprodutiva (ER). Para conservação do pólen foram testados três diferentes meios de cultura. Assim como coleta de botões florais de *P. cattleianum*, nos meses de julho e agosto. O pólen extraído foi dividido em três frascos e armazenado em diferentes temperaturas (24°C, 5°C e -18°C). A viabilidade do pólen foi avaliada a cada 30 dias até atingir a inviabilidade. A germinação *in vitro* sendo avaliada 24 horas após a inoculação, considerando-se germinados os grãos de pólen com tubos polínicos iguais ou superiores ao diâmetro do próprio grão. Se utilizou um microscópio óptico com aumento de 200x para a contagem dos grãos de pólen. O araçá-amarelo apresentou polinização facultativa, utilizando tanto a autopolinização quanto a polinização cruzada para sucesso reprodutivo. É auto compatível, com índice de autoincompatibilidade (IAI) de 0,88, e possui alta eficiência reprodutiva (ER) de 1,50, evidenciando eficácia na transferência de pólen pelos polinizadores. Não houve diferença significativa entre os meios de cultura 1 e 2 em relação ao percentual de germinação do pólen. A análise da viabilidade polínica após desidratação de 4 horas em bancada seguida por 24 horas no dessecador não foi adequada, pois não foram obtidos resultados significativos de germinação. Na análise de viabilidade do pólen após 24 horas de incubação em câmara úmida de flores em antese e pré antese, observou maior número de pólen germinado das flores em anteses. O armazenamento em temperaturas mais baixas prolonga a durabilidade do material, permitindo observar a germinação por um período mais longo. O número de pólenes germinados diminuiu em cada teste realizado durante os períodos de armazenamento em bancada, geladeira e freezer. Os resultados auxiliam na compreensão significativa sobre a reprodução e o armazenamento do pólen de *P. cattleianum*, contribuindo para o manejo produtivo da cultura e para o avanço no melhoramento genético de plantas.

Palavras- chave: Araçá- amarelo, germinação *in vitro*, melhoramento genético, reprodução sexual, viabilidade polínica.

ABSTRACT

The Myrtaceae family encompasses a wide diversity of species with edible fruits, notably the yellow araçá (*Psidium cattleianum* Sabine), which holds economic potential in the northeastern and southern regions of Brazil. Various methodologies are being developed for the application of pollination control techniques, as pollen is a crucial factor in fruit production and can be used to enhance genotypes. In this context, the study of pollen management is also necessary, as diseases transmitted via pollen are rare, enabling the safe transfer of gametes. Thus, the present study aims to evaluate pollination techniques and pollen management of *P. cattleianum* for use in breeding programs in the Zona da Mata Norte region of Pernambuco. For the floral biology analysis, 5 floral buds were used for each treatment, totaling 11 treatments and 3 pollination techniques (open pollination, self-pollination, and cross-pollination), using accessions from the germplasm bank of the Agronomic Institute of Pernambuco (IPA) at the experimental station in Itambé-PE. The self-incompatibility index (SII) and the reproductive efficiency (RE) were calculated. For pollen conservation, three different culture media were tested, as well as floral bud collection of *P. cattleianum* in July and August. The extracted pollen was divided into three vials and stored at different temperatures (24°C, 5°C, and -18°C). Pollen viability was assessed every 30 days until it became nonviable. In vitro germination was evaluated 24 hours after inoculation, considering pollen grains germinated when their pollen tubes were equal to or greater than their own diameter. A light microscope with 200x magnification was used to count the pollen grains. The yellow araçá exhibited facultative pollination, utilizing both self-pollination and cross-pollination for reproductive success. It is self-compatible, with a self-incompatibility index (SII) of 0.88 and high reproductive efficiency (RE) of 1.50, demonstrating effective pollen transfer by pollinators. No significant differences were observed between culture media 1 and 2 regarding pollen germination rates. The analysis of pollen viability after 4 hours of dehydration on a bench followed by 24 hours in a desiccator was not adequate, as no significant germination results were obtained. In the viability analysis after 24 hours of incubation in a humid chamber with flowers in anthesis and pre-anthesis, more germinated pollen was observed in flowers in anthesis. Storage at lower temperatures extended the material's durability, allowing germination to be observed for a longer period. The number of germinated pollen grains decreased with each test performed during storage periods on the bench, in the refrigerator, and in the freezer. The results provide significant insights into the reproduction and pollen storage of *P. cattleianum*, contributing to productive crop management and advancements in plant genetic improvement.

Keywords: Yellow strawberry guava, in vitro germination, genetic improvement, sexual reproduction, pollen viability.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Croqui do banco de germoplasma de <i>Psidium cattleianum</i> Sabine, presente na estação experimental do IPA.....	20
Figura 2. (A) Botão em pré antese; (B) Flor em antese de <i>Psidium cattleianum</i> Sabine.....	21
Figura 3. (A) Flores ensacadas com TNT; (B) Fruto de <i>Psidium cattleianum</i> Sabine; (C) Polinização manual.....	22
Figura 4. (A) Dessecador para secagem do pólen; (B) Chapa aquecedora utilizada para preparo das soluções; (C) Caixa transparente para simulação de câmara úmida.....	23
Figura 5. Médias e desvios padrões da germinação de grão de pólen de <i>Psidium cattleianum</i> Sabine (araçá amarelo) em diferentes meios de cultura.....	25
Figura 6. Teste de médias (Tukey a 5% de probabilidade) da germinação de grão de pólen de <i>Psidium cattleianum</i> Sabine (araçá amarelo) em diferentes meios de cultura.....	26
Figura 7. Porcentagem de germinação após 24 horas no momento T0, relacionada a metodologia de separação do grão de pólen de <i>Psidium cattleianum</i> Sabine (araçá amarelo) no meio de cultura 1.....	28
Figura 8. Porcentagem de germinação após 30 dias, relacionada aos locais de armazenamento do grão de pólen de <i>Psidium cattleianum</i> Sabine (araçá amarelo) no meio de cultura 1.....	29
Figura 9. Grãos de pólen visto em microscópio de 200x: (A) Mix pólen desidratado 4 horas de bancada mais 24 horas no dessecador; (B) Material residual da pré-antese.....	29
Figura 10. Porcentagem de germinação após 60 dias, relacionada aos locais de armazenamento do grão de pólen de <i>Psidium cattleianum</i> Sabine (araçá amarelo) no meio de cultura 1.....	30

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Flores em antese polinizadas e porcentagem de formação de frutos, após realização dos tratamentos de cruzamentos, em Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de araçá no Instituto Agrônômico de Pernambuco – IPA, Estação experimental de Itambé.....	25
--	----

SUMÁRIO

1. Introdução.....	12
2. Revisão de literatura.....	14
2.1 Gênero <i>Psidium</i>	14
2.2 Biologia reprodutiva.....	15
2.3 Polinização.....	15
2.4 Manejo de pólen.....	16
2.5 Importância do conhecimento de biologia reprodutiva e manejo de pólen para programas de melhoramento florestal.....	17
3. Objetivos.....	19
3.1 Geral.....	19
3.2 Específicos.....	19
4. Material e Métodos.....	20
4.1 Local do estudo.....	20
4.2 Polinização.....	20
4.3 Conservação de pólen.....	22
5 Resultado e Discussão.....	24
5.1 Polinização.....	24
5.2 Meios de cultura.....	25
6 Conclusão.....	29
7 Referências.....	31

1. INTRODUÇÃO

O entendimento dos mecanismos de polinização desempenha um papel fundamental do seu manejo em programas de conservação, pois possibilita a criação de estratégias que aprimoram a preservação da variabilidade genética (Melo Junior *et al.*, 2015). A polinização assume uma função crucial nos programas de melhoramento genético de plantas, possibilitando a geração de novas cultivares que apresentam características desejadas, resultando em melhorias significativas na produtividade e na resistência das culturas. Essas melhorias podem incluir maior resistência a pragas e doenças, aumento da produtividade e aprimoramento da qualidade dos frutos (Santillán-Fernández, 2021).

A polinização é um sistema que está relacionado com a reprodução sexuada e ocorre por meio de diferentes recursos, como o biótico, que envolve a transferência de gametas com o auxílio de organismos vivos, conhecidos como agentes polinizadores e o meio abióticos, onde a troca de material genético entre plantas é conduzida por influências ambientais, como o vento e a água (Gottsberger, 2014). Dessa forma, assegurando a diversidade genética, a formação de frutos e a produção de sementes.

O Brasil destaca-se como um país que apresenta uma das maiores biodiversidades do mundo, contando com uma rica diversidade de famílias em sua flora, incluindo cerca de 40% de espécies vegetais endêmicas (Seppir, 2018; Mma, 2018). Essa vasta biodiversidade engloba a família Myrtaceae, apresentando espécies de potencial econômico, como frutos comestíveis, os quais possuem um alto valor nutricional, pois apresenta quantidade considerável de antioxidantes, flavonoides e antocianinas, grandes variedades de texturas, cores, aromas e sabores, como ocorre na espécie de *Psidium cattleianum* Sabine (araça amarelo) (Cetap, 2014).

Além disso, é uma fruta rica em vitamina C, ácidos graxos, polissacarídeos, carotenóides, compostos fenólicos e diversos minerais (Pereira *et al.*, 2018). O *Psidium cattleianum* produz frutos de pequeno porte com um sabor agridoce e uma coloração que pode variar entre tons de amarelo e vermelho. Essas características são amplamente valorizadas tanto pela avifauna como pela população humana (Marques *et al.*, 2018). Seu fruto é amplamente utilizado na culinária na produção de sucos, compostos, geleias e licores (Gualberto, 2023).

Apesar de amplamente utilizado na culinária e o consumo in natura do fruto, a espécie *P. cattleianum* também encontra aplicações na medicina tradicional e na produção de óleos essenciais, como também desempenha um papel importante em planos de recuperação de áreas degradadas (Macaúbas- Silva *et al.*, 2019). Mesmo com inúmeros recursos que o araçá-amarelo possa oferecer, há uma carência de estudos sobre a conservação e armazenamento pós-colheita

e as técnicas mais pontuais para o prolongamento da sua vida em prateleira. Apresentando a alta incidência de frutos atacados por insetos, contribuem para uma maior depreciação do fruto *in natura* (Bezerra, 2018).

Diversas metodologias como a polinização aberta (livre), a polinização cruzada (xenogamia) e a autopolinização (autogamia) (Bouvet *et al.*, 2020) são empregadas na aplicação de técnicas de controle de polinização para aperfeiçoar os genótipos. Ao investigar o manejo polínico, abre-se caminho para o desenvolvimento de abordagens que visam preservar a vitalidade do pólen, estendendo sua funcionalidade e, assim, ampliando as chances de uma polinização bem-sucedida. A viabilidade do pólen é um parâmetro de extrema importância, pois, além de demonstrar a capacidade reprodutiva masculina da espécie, também contribui para estudos taxonômicos e ecológicos, fornecendo informações fundamentais para aplicação prática tanto na conservação genética quanto no cultivo da espécie (Hister; Tedesco, 2016).

Por meio da utilização de técnicas de polinização, é viável a geração de híbridos que promovem o surgimento de plantas superiores, unindo características vantajosas de duas variedades parentais em um único organismo. É observado o crescente aumento na produtividade de espécies relacionadas diretamente ao desenvolvimento de materiais genéticos de maior potencial produtivo, sobretudo pelo aprimoramento da hibridação e clonagem (De Assis, 2015). Ao investigar o manejo polínico, abre-se caminho para o desenvolvimento de abordagens que visam preservar a vitalidade do pólen.

A avaliação da viabilidade do grão de pólen pode ser feita por métodos diretos (germinação *in vitro*) e métodos indiretos (colorimetria) (Campos *et al.*, 2015). Na germinação do pólen *in vitro*, a viabilidade pode variar de acordo com a composição do meio, o período de armazenamento do grão de pólen e os aspectos fisiológicos da espécie em estudo (Shekari *et al.*, 2016).

Na conservação do material genético para uso futuro é observado o armazenamento do grão de pólen a baixas temperaturas, criando condições ideais para manter o poder germinativo, o vigor e os processos genéticos, sendo necessário monitorar essa capacidade por meio de testes de viabilidade antes, durante e após o armazenamento (Novara *et al.*, 2017).

As espécies vegetais com potencial econômico motivam a busca por um aprofundamento no entendimento do organismo, abrangendo diversos aspectos, incluindo ecologia, genética, morfologia e química (Sousa; Sobral, 2007). Um dos fatores cruciais na seleção de genótipos para programas de melhoramento é a viabilidade polínica, uma vez que grãos de pólen viáveis exercem um impacto direto sobre o êxito da fertilização (Cabral *et al.*, 2013).

Para o desenvolvimento e a expansão da cultura de *P. cattleyanum*, é necessário o aproveitamento mais racional dos fatores que a espécie apresenta, podem-se citar a facilidade da propagação por sementes, a ampla faixa de distribuição geográfica, a adaptação a diferentes habitats e o grande potencial de exploração econômica, sendo características que possam vir a serem usadas para o melhoramento genético da espécie (Vieira *et al.*, 2010).

Diante disso, a pesquisa tem como finalidade o estudo de técnicas de polinização e métodos de conservação de pólen de *Psidium cattleyanum* no banco de germoplasma do IPA, Itambé, Pernambuco.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 *Psidium cattleyanum* Sabine

Existem em torno de 60 espécies registradas do gênero *Psidium* no Brasil (Flora do Brasil, 2020), sendo a espécie *Psidium cattleyanum* Sabine encontrada, principalmente, na Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica, abrangendo do Ceará ao Rio Grande do Sul e presente na costa do Uruguai (Sobral *et al.*, 2015).

O *P. cattleyanum* possui um bom desenvolvimento em climas tropicais ou subtropicais, ou seja, apresentando um crescimento saudável e eficiente. É uma planta de médio porte, podendo atingir cerca de 3 a 6 m de altura, sendo apresentado na forma arbórea como arbustiva, também é endêmica do Brasil (Proença; Costa; Tuler, 2023)

O *Psidium cattleyanum*, apresenta altura média que varia de 1,5 a 6 m, com tronco geralmente tortuoso, de casca fina de coloração castanha, descamante, folhas coriáceas, glabras, obovadas com 5 a 10 cm de comprimento por 3 a 6 cm de largura, sendo encontradas variedades com frutos amarelos e com frutos vermelhos (Silva; Mazine, 2016).

Por não haver um consenso entre os especialistas, a espécie apresenta uma certa quantidade de denominações específicas, principalmente quanto à coloração do fruto, como araçá, araçá-amarelo e araçá-vermelho. São relatadas diferenças na anatomia do lenho, morfologia foliar e na coloração dos frutos, que podem apresentar de cor amarela ou avermelhada, polpa mucilagínosa, com inúmeras sementes, sendo consumida *in natura* ou na forma processada como suco, sorvete, licores ou doces (Dias, 2015).

Citologicamente, *P. cattleyanum* é uma planta octaplóide com 88 cromossomos, o que indica uma tendência para poliploidia, o gênero *Psidium* apresenta flores brancas e hermafroditas, com numerosos estames e um ovário ínfero, dividido em três a quatro lóculos e

contendo mais de 100 óvulos, os grãos de pólen exibem diferentes formas e os grãos de pólen ovais ou disformes são possivelmente inviáveis (Noia *et al.*, 2017).

2.2 Biologia reprodutiva

E estudos tratando da biologia reprodutiva de espécies da família Myrtaceae, são escassos e os poucos trabalhos na área exploram apenas parte deste assunto, como exemplo podem ser citado o trabalho de Da Costa *et al.* (2015) que trata de aspectos da biologia floral de *P. cattleyanum*.

Estudos relacionados à biologia reprodutiva, envolvendo o conhecimento da biologia floral, fenologia, estratégias de cruzamento e ecologia de polinização são eficiente ferramenta para contribuir no aprimoramento de estratégias de manejo e de conservação das espécies (Perleberg, 2017).

As flores de *Psidium* são solitárias e axilares, também são diclamídeas, hermafroditas, pentâmeras, actinomorfa, pedunculadas, com duas brácteas, cíclicas e com simetria radial, de coloração branca e cálice fechado no botão, além disso, apresenta alto número de estames, entre 250 e 480, os quais têm filete branco. O ovário apresenta número de óvulos variando de 94 a 165, número de grãos de pólen por antera varia de 754 a 1558 e seu cálice é gamossépalo com cinco sépalos e corola dialipétala, com cinco pétalas (Franzon; Souza-Silva, 2017).

Suas flores são visitadas por diversos organismos generalistas, mas a principal síndrome de polinização é a melitofilia (Kosera Neto, 2018), estabelecendo interações com abelhas e apesar das abelhas auxiliarem na fertilização, *P. cattleyanum* tem a capacidade de produzir frutos a partir de autopolinização, por conta disso, é reconhecida como xenogâmica facultativa (Da Costa *et al.*, 2015). A polinização por abelhas é o sistema de interação predominante entre as Myrtaceae, cuja pétalas e estames funcionam como atrativos visuais e olfativos fundamentais para os visitantes (Vasque; De Matos Costa; Leite, 2023).

2.3 Polinização

As espécies vegetais exibem uma variedade de estratégias nas suas técnicas de reprodução, destacando-se dois tipos principais de mecanismos: a reprodução sexuada, que envolve a formação de sementes, e a reprodução assexuada, que ocorre através de partes vegetativas como galhos, ramos, raízes e folhas (Embrapa, 2011).

A polinização desempenha um papel crucial na reprodução e na produção de frutos. É um sistema que está relacionado com a reprodução sexuada e ocorre por meio de diferentes recursos, como o biótico, que envolve a transferência de gametas com o auxílio de organismos vivos, conhecidos como agentes polinizadores e o meio abióticos, onde a troca de material genético entre plantas é conduzida por influências ambientais, como o vento e a água (Gottsberger, 2014).

Diversas metodologias são empregadas na aplicação de técnicas de controle de polinização para aperfeiçoar os genótipos. Essas incluem a polinização aberta (livre), a polinização cruzada (xenogamia) e a autopolinização (autogamia) (Bouvet *et al.*, 2020).

Na autopolinização a transferência do pólen das anteras para o estigma ocorre em uma mesma flor e entre flores de um mesmo indivíduo (geitonogamia:), na polinização cruzada é possível observar entre flores de indivíduos distintos de uma mesma espécie (intraespecífica) ou de espécies diferentes que apresentam um grau de parentesco dentro do mesmo gênero ou família (interespecífica) (Vieira; Fonseca, 2014).

Na polinização aberta, as flores ficam expostas a ação de polinizadores. O entendimento das relações entre plantas e polinizadores desempenha um papel fundamental na compreensão da estrutura e da dinâmica das comunidades, bem como no entendimento de seus processos de regeneração (Perleberg, 2017).

Nas flores hermafroditas a xenogamia pode ser uma obrigatoriedade ou pode ser favorecida por meio de diversas estratégias reprodutivas que impedem a autopolinização (hercogamia, dicogamia e autoincompatibilidade) (Nucci, 2017).

A hercogamia refere-se a uma técnica em que uma barreira física é estabelecida na flor, com o androceu e o gineceu posicionados de forma separada (por exemplo, o estigma acima das anteras), por outro lado, a dicogamia envolve o amadurecimento do androceu e do gineceu em épocas diferentes, logo a autoincompatibilidade é uma barreira genética que abrange a capacidade da planta em reconhecer e rejeitar seu próprio pólen, permitindo a fecundação apenas com o pólen de outro indivíduo (Vieira; Fonseca, 2014).

2.4 Manejo de pólen

Em programas de melhoramento é fundamental garantir a viabilidade do pólen dos genótipos a serem utilizados, pois, se torna necessário conhecer as condições adequadas para manuseio e armazenamento de pólen, podendo assim planejar cruzamentos manuais entre genótipos selecionados (Jalca Zambrano, 2019).

Existem métodos de armazenamento polínico que dependerá da espécie utilizada e finalidade, um exemplo é observado na pesquisa de De Souza (2017), a qual aborda que para a conservação do pólen de *Eucalyptus spp.* após secagem no refrigerador (4 °C), a redução menos drástica da umidade pode ser aceitável, porém, isso implica no encurtamento da viabilidade, para o armazenamento sob temperaturas mais baixas, como em congeladores (freezers) (- 18 °C, - 20 °C, - 36 °C) e ultra freezers (- 80 °C). A temperatura, teor de umidade e o tempo são fatores que influenciam na conservação do pólen, podendo prolongar a viabilidade. O pólen pode permanecer viável de minutos há anos dependendo da espécie (Shivanna, 2019).

Em razão disso, a estimativa da viabilidade polínica é importante, pois, evidencia o potencial masculino de reprodução da espécie e é responsável pela seleção de genótipos para o programa de melhoramento, uma vez que os grãos de pólen influenciam diretamente no sucesso da fertilização da planta (Hister *et al.*, 2016).

O estudo da viabilidade do pólen também é empregado no monitoramento dos grãos de pólen armazenados, assim possa vir a garantir a fecundação no cruzamento entre genótipos que apresentam floração em diferentes épocas ou entre locais distantes.

Técnicas *in vivo* e *in vitro* são bastante utilizadas para se avaliar a viabilidade polínica, os testes *in vitro* são mais utilizados por serem mais simples e rápidos de realizar (Dusi; Rodrigues; Carneiro, 2023). Na preparação do meio de cultura, os nutrientes e a sacarose possuem um papel fundamental para a germinação e a adição de ágar ao meio de cultura, embora para algumas espécies seja uma contribuição substancial, o ágar demonstrou que não condiciona o desenvolvimento do tubo polínico (Garcia *et al.*, 2015).

2.5 Importância do conhecimento de biologia reprodutiva e manejo de pólen para programas de melhoramento florestal

O conhecimento e planejamento das etapas de um programa de melhoramento, como a seleção dos melhores genitores, estimativas de parâmetros genéticos, aplicação de índices de seleção e a viabilidade das estratégias de seleção são imprescindíveis para o melhorista compreender o potencial genético das populações e para direcionar a seleção de genótipos superiores (Borém; Miranda; Fritsche-Neto, 2021; Sulistyó; Purwantoro; Sari, 2018).

As análises sobre a biologia reprodutiva, que incluem avaliações da biologia floral, os mecanismos de polinização e os registros fenológicos mostram-se de extrema importância, tanto para o meio natural quanto para produção em escala comercial ou visando fomentar novas pesquisas, no planejamento de cruzamentos dirigidos (Perleberg, 2017).

É crucial adquirir um profundo entendimento da biologia floral, dos padrões fenológicos e das vias de transporte de pólen, juntamente com a análise do sistema reprodutivo. Essa base de conhecimento é essencial para viabilizar a criação de programas de aprimoramento genético de sucesso.

Ao escolher genótipos com potencial para futura domesticação e aprimoramento genético, é recomendável avaliar cuidadosamente os atributos de qualidade da espécie. Isso inclui a observação das características das flores, frutos, porte da planta e sua capacidade de dispersão. Espécie onde seus frutos são o principal foco, destacam características que englobam a aparência, sabor, aroma, textura, tamanho e vida da prateleira, constituindo-se assim a base do trabalho do melhorista (Pirola, 2017).

A reprodução e o controle do pólen têm papéis fundamentais nos programas de melhoramento genético de plantas, culminando no desenvolvimento de variedades de espécies aprimoradas. Isso resulta em melhorias relacionadas à qualidade, produtividade e resistência das plantas, sendo alcançadas por meio de diversos processos, dessa forma, a combinação das estratégias de reprodução e manejo de pólen vem a impulsionar o progresso na obtenção de plantas mais produtivas e resistentes (Espalhok; Guerra; Oliveira, 2014)

Assim, de acordo com Borém *et al.* (2021) pode-se citar processos, como: seleção de características, que se desenvolve através da reprodução e a gestão do pólen, possibilitando a identificação e seleção de plantas que expressam as características desejadas (resistência a pragas e tolerância a condições adversas); desenvolvimento de novas variedades, ocorrendo por meio de cruzamentos seletivos e controle do pólen. Segundo Oliveira *et al.* (2014), existem diferentes tipos de estratégias utilizadas para o melhoramento de uma espécie, podendo destacar a estratégia clássicas de melhoramento que fazem uso da hibridação sexual controlada e seleção de híbridos naturais.

Apesar da família Myrtaceae apresentar contínuas pesquisas e desenvolvimentos no melhoramento genéticos de *Eucalyptus* spp., como, por exemplo, pesquisas relacionadas a hibridização, estudos sobre o potencial genético de *Psidium cattleianum* é raro, mas pode-se destacar o experimento conduzido por Miranda *et al.* (2012) que indica o uso de *P. cattleianum* em cruzamentos com goiabeiras visando o melhoramento de cultivares ou para estudo sobre a herança genética da resistência ao nematóide *Meloidogyne enterolobii*.

3. OBJETIVOS

3.1 Geral

- Avaliar técnicas de cruzamento e manejo do pólen de *Psidium cattleyanum* Sabine para utilização em programas de melhoramento na Zona da Mata Norte Pernambucana.

3.2 Específicos

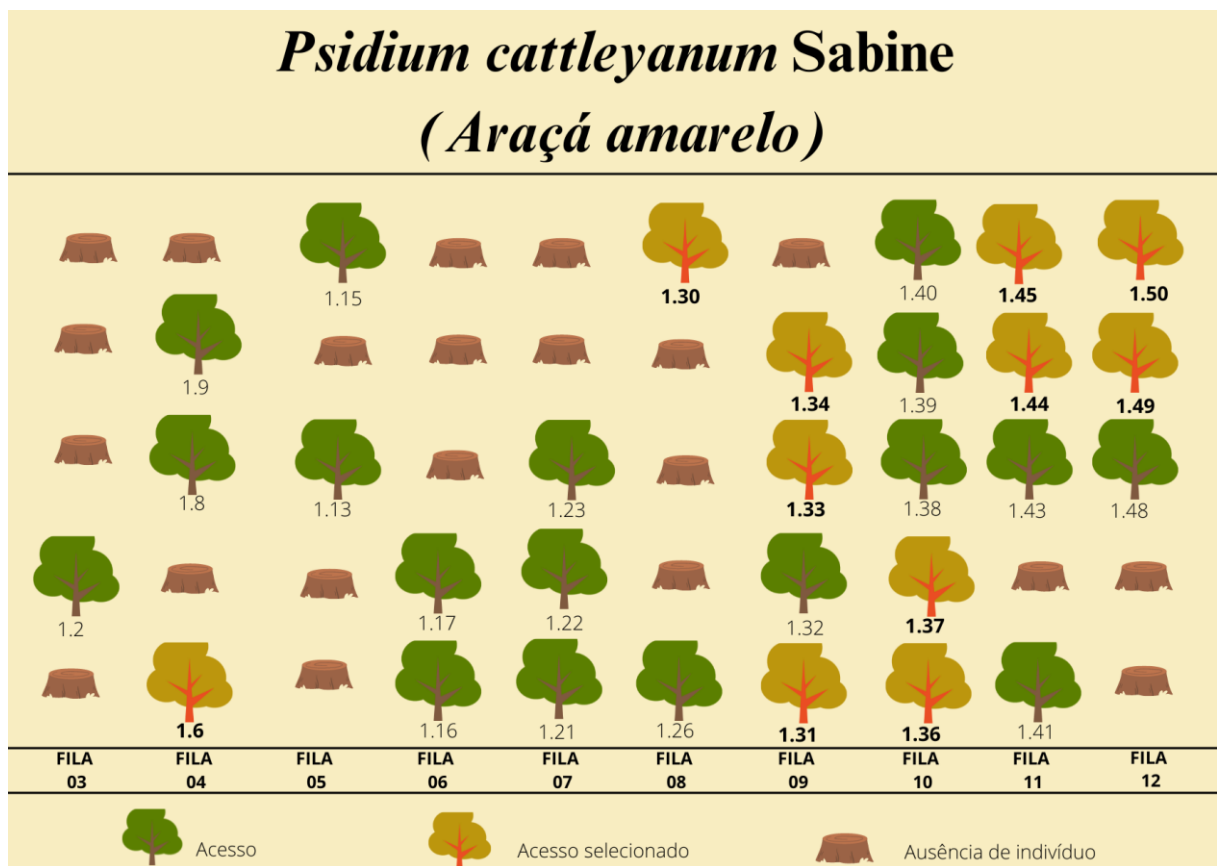
- Avaliar três técnicas de cruzamentos da espécie de *Psidium cattleyanum* Sabine;
- Comparar três meios de cultura para a germinação *in vitro* dos grãos de pólen;
- Testar três temperaturas de armazenamento e avaliar a viabilidade de pólen;

4. MATERIAL E MÉTODOS

4.1 Local do estudo

O estudo foi conduzido no Instituto Agronômico de Pernambuco (IPA) na estação experimental de Itambé-PE e Laboratório de Análise de Sementes Florestais do Departamento de Ciência Florestal da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Se utilizou materiais presentes no banco ativo de germoplasma - BAG, implantado em 2010 na Estação Experimental de Itambé, contendo 29 acessos de *Psidium cattleianum* Sabine (araçá amarelo) com espaçamento de plantio de 6 m x 5 m (Figura 1).

Figura 1: Croqui do banco de germoplasma de *Psidium cattleianum* Sabine, presente na estação experimental do IPA. Destacados em negrito os acessos utilizados (1.6, 1.30, 1.31, 1.33, 1.34, 1.36, 1.37, 1.44, 1.45, 1.49 e 1.50).

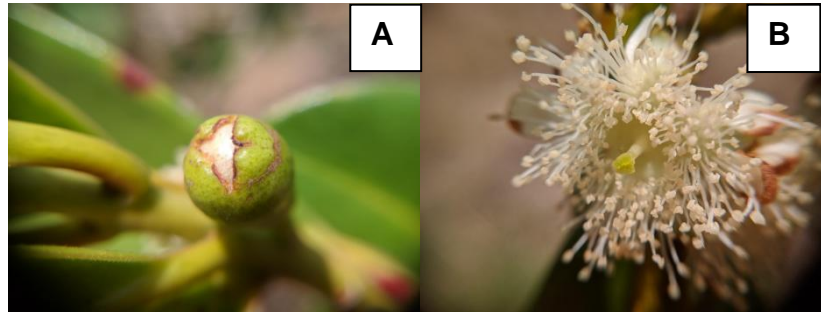


4.2 Polinização

Para a verificação do sistema reprodutor de *P. cattleianum*, utilizou 11 tratamentos (acessos), sendo levados em consideração para a seleção: quantidade de botões florais, incidência de pragas e doenças, porte do indivíduo. Para a realização dos cruzamentos os botões florais foram submetidos a três técnicas de polinização sugeridas por Kearns e Inouye (1993), que são: i) polinização aberta (controle), no qual, cinco botões florais por indivíduo foram

marcadas com tinta vermelho e permaneceram expostas aos polinizadores; ii) autopolinização (autogamia), no qual, cinco botões por indivíduo em pré-antese emasculadas foram isoladas e polinizadas com pólen da mesma flor, iii) polinização cruzada (xenogamia), cinco botões por indivíduo em pré-antese emasculadas foram isoladas e polinizadas com pólen de outro indivíduo.

Figura 2: (A) Botão em pré antese; (B) Flor em antese de *Psidium cattleyanum* Sabine.



Para avaliar a polinização cruzada, os botões florais foram cuidadosamente abertos com um alicate, seguido pela emasculação para prevenir a autopolinização. Em seguida, as anteras da planta matriz com a maior produção de pólen foram coletadas e passadas por uma peneira duas vezes para liberar os grãos de pólen. Para aplicar o pólen, utilizou-se um palito de madeira com uma ponta cortada em bisel, seguindo a técnica de Protoginia Artificialmente Induzida (PAI) de acordo com Assis et al. (2005). Finalizado a polinização os ramos foram destacados com tinta vermelho e cercados com a estrutura de arame e tecido não tecido TNT® (Figura 3A), evitando polinizadores.

Na autopolinização, realizou a emasculados dos indivíduos e suas anteras coletadas para a separação do pólen que foi realizado em uma peneira. Feito a separação do pólen o mesmo ficou secando a temperatura ambiente em média 4 horas e em seguida colocado sobre o estigma da mesma flor, em seguida os ramos ficaram cercados com estrutura de arame e tecido TNT® (Tecido não tecido) (Figura 3A).

Após a realização dos testes reprodutivos, os ramos utilizados para as polinizações abertas foram marcados com tinta vermelho. Foram realizadas avaliações do sucesso das polinizações que de início se verificaram com o escurecimento do estigma da flor e a cada 30 dias, no início do mês realizou a verificação da formação ou não de frutos (Figura 3B) dentro dos sacos de TNT e dos testes controle demarcados em vermelho.

Figura 3: (A) Flores ensacadas com TNT; (B) Fruto de *Psidium cattleianum* Sabine, (C) Polinização manual;



Também foram calculados os índices de autoincompatibilidade (IAI), relação entre o percentual de frutificações provenientes de autopolinização manual (Figura 3C) e o percentual de frutificações de polinizações cruzadas (Sobrevila e Arroyo, 1982). Se o índice de autoincompatibilidade for menor que 0,25, indica que a espécie é autoincompatível (Oliveira e Gibbs, 2000). Também foi calculada a eficiência reprodutiva (ER), por meio da razão entre o percentual de frutos formados por polinização aberta (controle) com aqueles formados por polinização cruzada manual (Zapata e Arroyo, 1978). Quanto mais próxima de zero, evidencia baixa eficiência de polinização (Polatto e Alves-Junior, 2009).

Para as técnicas de cruzamento foram calculados a porcentagem de formação de frutos a partir das flores polinizadas utilizando o Excel 2016, assim como para a tabulação de dados para se calcular os índices de ER e IAI.

4.3 Conservação de pólen

Para a análise de meio de cultura foram testados os meios segundo metodologia de Brito (2013): i) meio I (100g L⁻¹ de sacarose + 20g L⁻¹ de ágar); ii) meio II (100g L⁻¹ de sacarose + 500mg L⁻¹ de H₃BO₃ + 20g L⁻¹ de ágar); iii) meio III (100g L⁻¹ de sacarose + 300mg L⁻¹ de CaCl₂ + 20g L⁻¹ de ágar).

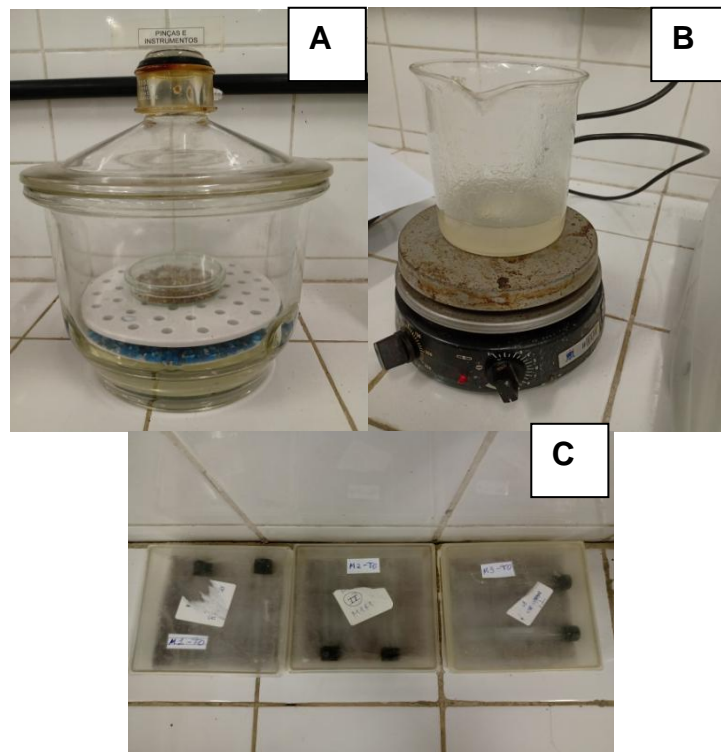
Ocorreu a coleta de botões em pré-antese de *Psidium cattleianum* no mês de julho em períodos subsequentes (coleta 01, coleta 02 e coleta 03). Assim como, coletados botões em pré-antese e flores no mês de agosto para se realizar dois testes, o primeiro foi o dessecamento das anteras em temperatura ambiente por 4 horas mais dessecador por 24 horas (Figura 4A), depois peneirado para a liberação do pólen do saco polínico e o segundo o maceramento em água destilada. As análises se iniciaram no momento da coleta dos botões e flores.

O pólen extraído foi utilizado para a análise de viabilidade no momento T0, ou seja, observado a germinação 24 horas após extração do pólen e a outra parte separada em três frascos

de eppendorf (1,5 mL) para o teste de armazenamento polínico em três situações de temperatura: bancada (24°C), geladeira (5°C) e freezer (-18°C). Os pólenes armazenados eram analisados a cada 30 dias para se avaliar sua viabilidade até a mesma chegar a zero ou próximo.

Para a preparação das soluções dos meios de cultura, se utilizou uma chapa aquecedora (Figura 4B) para a fusão do ágar. Cada meio apresentou o pH 6,5 e três lâminas escavadas com duas secções para cada teste. Uma gota da solução de água destilada contendo pólenes foi adicionada em cada secções da lâmina, assim como com o auxílio de um pincel foi adicionado o pólen peneirado. Em seguida as lâminas foram acondicionadas em caixas transparente, revestidas com papel filtro e umedecidas com água destilada (Figura 4C), para simulação de uma câmara úmida.

Figura 4: (A) Dessecador para secagem do pólen; (B) Chapa aquecedora utilizada para preparo das soluções; (C) Caixa gerbox.



A germinação *in vitro* foi avaliada 24 horas após a inoculação do pólen. Considerados germinados aqueles grãos de pólen que apresentarem o tubo polínico igual ou superior ao diâmetro do pólen (Francescato, 2014). Para cada meio testado os grãos de pólen eram contabilizados com o auxílio de um microscópio óptico com aumento de 200x.

O experimento foi conduzido utilizando um delineamento inteiramente casualizado em esquema fatorial 3x3, que consistiu em três diferentes temperaturas de armazenamento (bancada (24°C), geladeira (5°C) e freezer (-18°C) e três tipos de meios para avaliação da

germinação do grão de pólen. Esse experimento contou com três repetições para cada combinação de temperatura e meio de avaliação.

Os dados coletados durante o armazenamento do pólen foram submetidos à análise de variância e ao teste de comparação de médias. Utilizou-se a estatística descritiva com média e desvio padrão. Para a germinação *in vitro* do pólen os dados coletados durante as avaliações foram submetidos ao cálculo das médias e os desvios padrões da germinação do grão de pólen de *Psidium cattleianum* nos diferentes meios testados. Além disso, foi realizado o teste de médias utilizando o teste de Tukey a 5% de probabilidade para identificar eventuais diferenças significativas entre os tratamentos. Sendo o Excel e R os softwares utilizados no desenvolvimento dos dados.

5. RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 Polinização

A diferença na produção de frutos entre os tratamentos de polinização aberta e cruzada pode ser interpretada como um indicativo da eficácia dos visitantes florais como polinizadores (Tabela 1). Essa disparidade revela a dependência da espécie pela atividade desses agentes bióticos e evidencia sua preferência pela xenogamia, promovendo assim a possibilidade de novas combinações genéticas.

Tabela 1- Botões polinizados e porcentagem de formação de frutos, após realização dos tratamentos de cruzamentos, em Banco Ativo de Germoplasma (BAG) de araçá no Instituto Agrônomo de Pernambuco – IPA, Estação experimental de Itambé

Indivíduo	Botões Polinizados			Produção de Frutos (%)		
	Controle	Autopolinização	Polinização cruzada	Controle	Autopolinização	Polinização cruzada
1.6	5	0	0	0%	0%	0%
1.30	1	2	0	0%	100%	0%
1.34	5	5	1	100%	20%	0%
1.33	1	0	0	0%	0%	0%
1.31	0	1	0	0%	100%	0%
1.37	5	1	2	100%	0%	50%
1.36	4	0	0	50%	0%	0%
1.45	5	2	4	100%	0%	75%
1.44	5	2	2	100%	50%	0%
1.50	5	1	0	0%	0%	0%
1.49	5	1	0	100%	100%	0%
Total	41	15	9	65,85%	40%	44,44%

O araçá apresenta flores hermafroditas, o que as torna suscetíveis à autopolinização. Domingos-Melo et al. (2018) enfatizam que em espécies autopolinizadoras, a sincronia da abertura das flores interage de maneira cooperativa com a morfologia floral, muitas vezes envolvendo movimentos intrincados que facilitam a transferência eficaz do pólen para os estigmas receptivos.

Apesar do araçá amarelo ter apresentado frutificação quando submetido à autopolinização, seu resultado foi inferior em comparação aos métodos controle (25,85%) e polinização cruzada (4,44%). Devido à capacidade de formação de frutos tanto pela autopolinização quanto pela polinização cruzada (Tabela 1), o araçá amarelo demonstra ser uma espécie com polinização facultativa, utilizando ambos os métodos para obter sucesso reprodutivo.

De acordo com Da Costa; Krupek; Krawczyk (2015) e Renner (2014), há diversas estratégias para evitar a autopolinização, como a autoincompatibilidade genética, a dioicia, ginodioicia e características fisiológicas como protandria e protoginia, além de características morfológicas como hercogamia, heteromorfia e heterostilia.

Lôbo (2016) fornece um estudo relevante sobre a espécie *Prosopis affinis* Spreng, que apresenta autogamia facultativa, sendo uma forma de polinização caracterizada pela predominância da autofertilização, embora ocorram também eventos de polinização cruzada.

Os valores obtidos nos tratamentos de polinização aberta e cruzada permitem inferir que os vetores bióticos desempenham um papel importante na transferência do pólen da flor para o estigma. A polinização cruzada e a autopolinização apresentaram valores aproximados de frutificação, indicando que os polinizadores desempenham um papel importante na transferência do pólen do araçá-amarelo (Nucci; Alves-júnior, 2017).

De acordo com Speroni et al. (2015) os araçazeiros precisam de vetores bióticos para a polinização e cheguem ao estágio de formação de frutos, sem importar a origem do pólen, sendo da mesma planta (autógama) ou de outra planta da mesma variedade (xenogamia) ou de outra forma taxonômica.

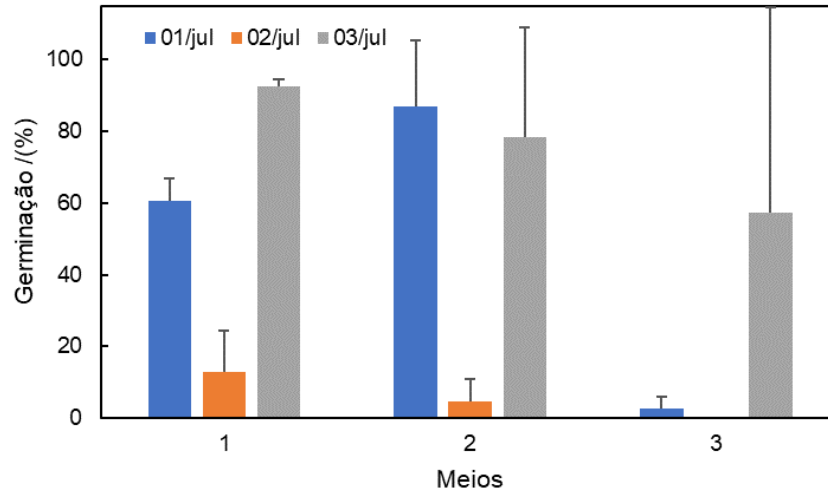
Os araçazeiros são bastantes versáteis em relação às estratégias reprodutivas, que foi possível observar com a obtenção de frutos em todos os tratamentos utilizados. Os araçazeiros são plantas autocompatíveis (Da Costa; Krupek; Krawczyk, 2015), como pode ser observado pela produção de frutos nos tratamentos de controle, autopolinização e polinização cruzada, assim como o valor do índice de autoincompatibilidade ter sido superior a 0,25 (0,88), indicando ser uma espécie autocompatível.

O valor de ER encontrado foi 1,50, demonstrando a eficiência dos agentes polinizadores na transferência de pólen viável para o estigma da flor. Esse resultado também sugere que a técnica de polinização cruzada empregada foi altamente eficaz.

5.2 Meios de cultura

A flor em antese da coleta 2, exibiu uma taxa de germinação significativamente inferior em ambos os meios testados, sendo 20% a maior taxa de germinação, apesar de terem sido empregados o mesmo método de coleta, tempo de execução e procedimento de coleta de pólen, como na coleta 1 e 3 que apresentaram germinação maiores que 80% (Figura 5).

Figura 5 – Médias e desvios padrões da germinação de grão de pólen de *Psidium cattleianum* Sabine (araçá amarelo) em diferentes meios de cultura.

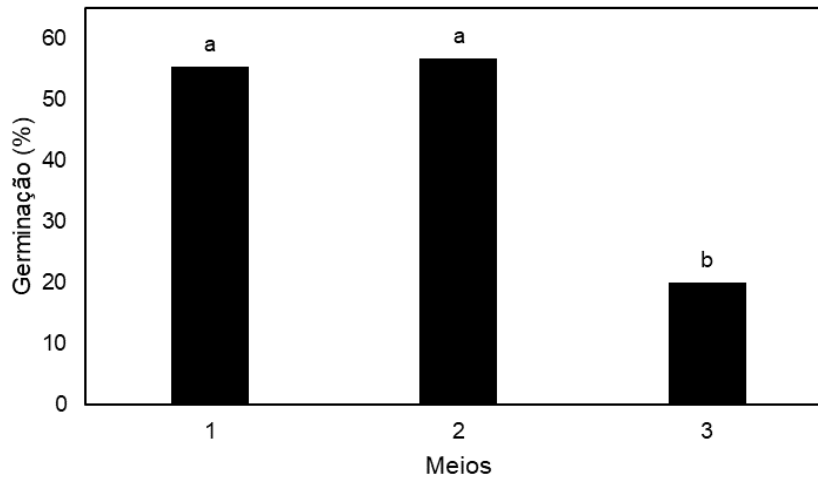


Isso pode estar relacionado ao menor grau de maturidade do pólen, uma vez que os grãos coletados após a antese demonstram um maior grau de maturidade, proporcionando melhores condições de germinação (Kosera, 2018). Dessa forma, as condições ideais de germinação (emissão do tubo polínico) não foram atingidas, como seria esperado durante a antese completa.

A maturação é fundamental para manter a viabilidade e capacidade germinativa do pólen, propiciando assim a garantia de material com melhores condições de germinação e probabilidade de sucesso (Kosera, 2018).

Não ocorreu diferença significativa entre os meios de cultura I e II quando se comparado ao percentual de germinação do pólen, utilizando o teste de Tukey a 5% de probabilidade. Mas quando avaliados os dias separadamente, pode-se notar diferenças entre seus níveis (Figura 5). A adição de ácido bórico favorece as condições de germinação, interagindo de maneira mais rápida com a membrana celular, assim mantém sua integridade e diminui a probabilidade de rompimento (Nogueira et al., 2015).

Figura 6. Teste de médias (Tukey a 5% de probabilidade) da germinação de grão de pólen de *Psidium cattleianum* Sabine (araçá amarelo) em diferentes meios de cultura.



O ágar por ser um agente solidificante promoveu equilíbrio do potencial osmótico do meio e, assim, favoreceu a germinação dos grãos de pólen (Nogueira et al., 2015).

Outro fator que influencia no processo de germinação é a adição de sacarose, pois ela apresenta finalidade de fornecer energia metabólica e esqueleto carbônico para biossíntese de compostos orgânicos necessários para os processos envolvidos no crescimento, diferenciação e morfogênese celular (Silva et al., 2017).

A adição de cloreto de cálcio não promoveu maior germinação, este elemento teve um efeito negativo, resultando em menores valores de germinação quando comparada à ausência do composto. Rocha et al. (2023) e Almeida; Sereno (2011) observaram baixa eficiência de germinação com a adição de cloreto de cálcio em seus estudos. Portanto, esse elemento não é necessário na composição do meio e sua adição provoca a diminuição da absorção de água, uma vez que reduz o potencial osmótico (Stefanello et al., 2018).

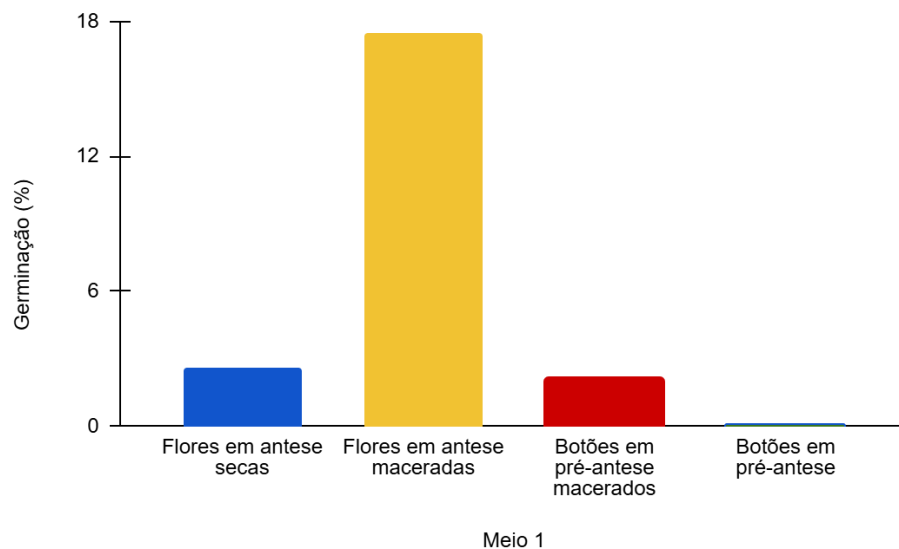
Nos meios realizados para analisar a viabilidade polínica de araçazeiro amarelo em processo de dessecamento não foram obtidos resultados significativos de germinação, mesmo utilizando meios constituídos de diferentes concentrações de sacarose, ágar, ácido bórico e cloreto. Pode estar relacionado aos cuidados tomados anteriormente para a realização dos testes, pois supõe-se que período de desidratação de 4 horas de bancada mais 24 horas no dessecador não foram adequados.

Em experimento testado por Kosera (2018), observou que quando desidratados o araçazeiro amarelo em temperatura mais elevada e em períodos superiores a três horas se tem uma ausência de germinação, resultado da inviabilidade polínica. O arará amarelo talvez não tolere o aumento de temperatura nesta fase de desenvolvimento, pois temperaturas elevadas podem interferir no metabolismo dos organismos (Nogueira et al., 2015), influenciando de forma negativa na germinação de grãos de pólen.

Na análise de viabilidade do pólen após 24 horas de incubação em câmara úmida de flores em antese e botões em pré-antese no momento T0, foi observado que os indivíduos em antese apresentaram um maior número de germinação (Figura 7), mesmo quando submetidos só a secagem quanto ao maceramento. Isso pode ser atribuído à presença dos botões em pré-antese, que ainda estão imaturas, o que afeta negativamente o número de grãos germinados.

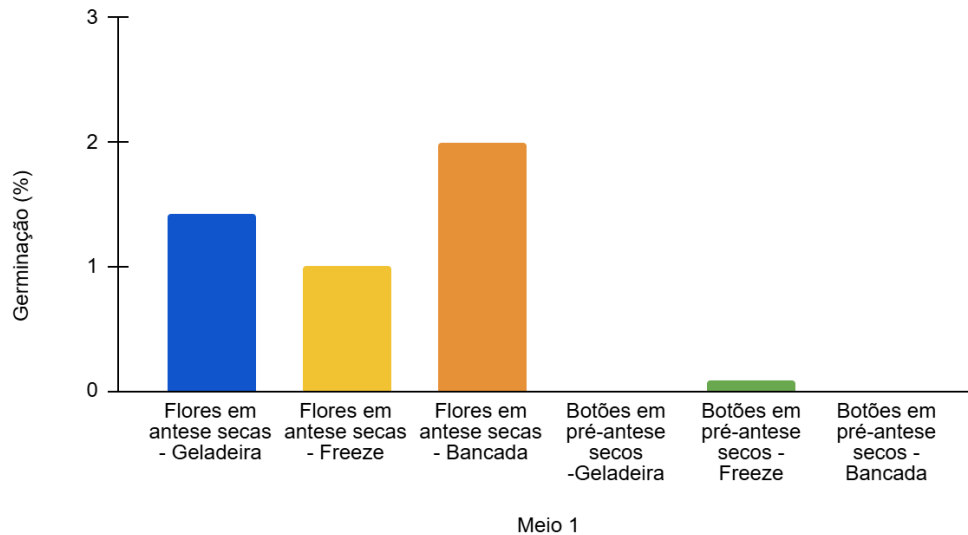
A presença de uma maior taxa de germinação no processo de maceração pode estar diretamente relacionada ao teor de umidade mais elevado, que foi mantido constante. De acordo com Sezerino e Orth (2015), a viabilidade polínica pode ser afetada por diversos fatores, entre eles o teor de umidade do ambiente. À medida que o pólen é submetido ao tratamento de desidratação, verifica-se uma redução substancial em sua viabilidade, conforme documentado por Passos et al. (2012) em estudos anteriores com pólen de *Manihot esculenta* spp.

Figura 7. Porcentagem de germinação após 24 horas no momento T0, relacionada a metodologia de separação do grão de pólen de *Psidium cattleyanum* Sabine (araçá amarelo) no meio de cultura 1.



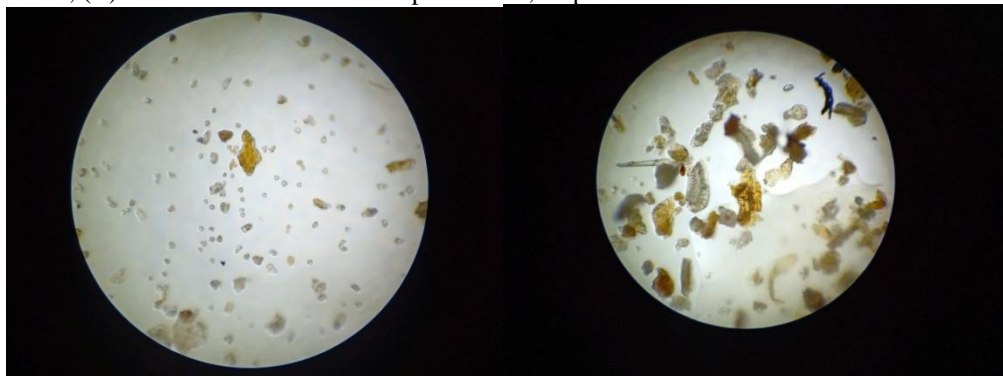
Após trinta dias de armazenamento também foi observado uma queda no número de germinação, tanto das flores em antese, ficando abaixo de 2%, como nos botões em pré-antese que foi inferior a 1%, sendo resultante ou não do nível de maturação do pólen coletado (Figura 8). O armazenamento em bancada para a flor em antese foi a que mais apresentou germinação, com um total de 24 germinações que pode estar relacionado ao seu grau de maturação.

Figura 8. Porcentagem de germinação após 30 dias, relacionada aos locais de armazenamento do grão de pólen de *Psidium cattleyanum* Sabine (araçá amarelo) no meio de cultura 1.



Segundo Leia et al (2020) a umidade e temperatura são os principais fatores que influenciam a longevidade do pólen durante o armazenamento. Reafirmando que a metodologia de desidratação de 4 horas de bancada mais 24 horas no dessecador é inviável para a análise de viabilidade do pólen de *Psidium cattleianum* Sabine (araçá amarelo) (Figura 9).

Figura 9: Grãos de pólen visto em microscópio de 200x. (A) Mix pólen desidratado 4 horas de bancada mais 24 horas no dessecador; (B) Material residual do botão pré- antese, respectivamente.

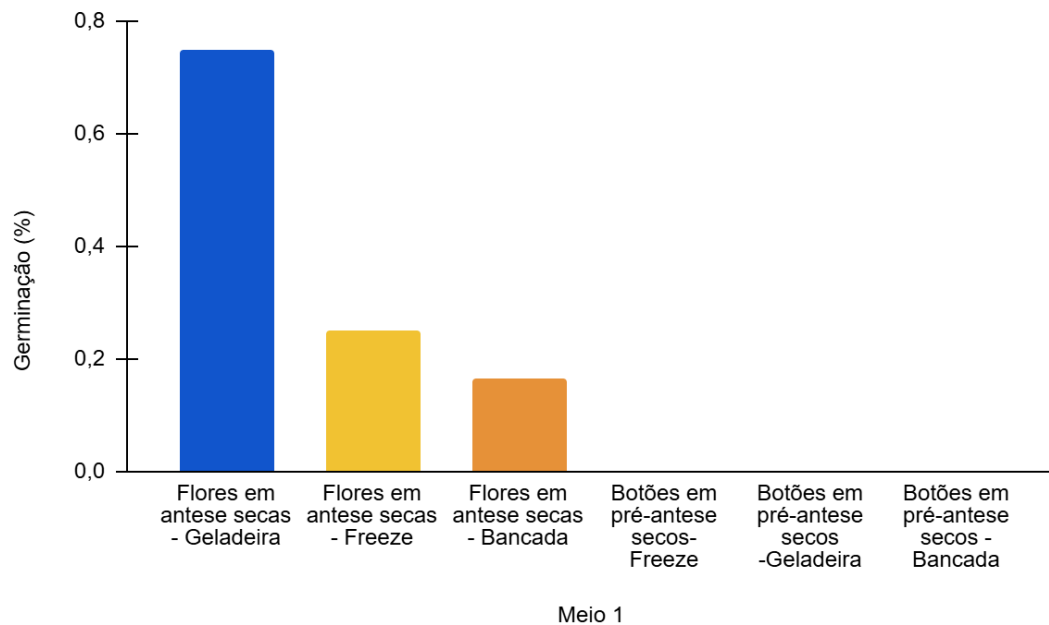


Na segunda avaliação de armazenamento, ocorrida sessenta dias após armazenamento em bancada, geladeira e freezer é possível observar que o número de germinação para as flores em antese chegou a zero e as em antese continuou a cair (Figura 10). Os materiais em antese que foram armazenados em geladeira a 5°C e no freezer a -18°C se mantiveram viáveis por um maior período que aqueles que se encontram em bancada a 24 °C.

A queda de germinação do pólen que se encontra em bancada pode estar relacionada à temperatura ambiente que mantém ou acelera a atividade metabólica do material, tornando o material inviável rapidamente e o torna o mais suscetível ao ataque de fungos e microrganismos.

Também foi possível notar que o material armazenado em temperaturas mais baixas apresentou maior durabilidade, sendo possível observar germinação por um período mais longo de tempo. De acordo com Cuchiara et al (2012) os grãos de pólen apresentam uma maior taxa de longevidade quando submetidas a temperaturas mais baixas, pois atua na redução do metabolismo celular e assim mantendo sua viabilidade.

Figura 10. Porcentagem de germinação após 60 dias, relacionada aos locais de armazenamento do grão de pólen de *Psidium cattleianum* Sabine (araçá amarelo) no meio de cultura 1.



Comparando a figura 8 e 9 é possível observar com detalhes que o número de pólenes germinados continuou a cair a cada teste realizado durante os períodos de armazenamento a 30 e 60 dias em bancada, geladeira e freezer. De acordo com Speroni et al. (2012) o araçazeiro apresenta pólen com baixa longevidade.

6. CONCLUSÃO

O *P. cattleyanum* evidencia adaptabilidade nos diferentes tratamentos de cruzamento, demonstrando eficiência tanto no processo de polinização quanto no subsequente desenvolvimento dos frutos, independentemente da estratégia reprodutiva empregada.

Para germinação de pólen, recomenda-se os meios I (100g L⁻¹ de sacarose + 20g L⁻¹ de ágar); ii) e o meio II (100g L⁻¹ de sacarose + 500mg L⁻¹ de H₃BO₃ + 20g L⁻¹ de ágar), pois não apresentaram diferença significativa entre si na taxa de germinação. Porém, o estágio de desenvolvimento da flor é importante durante a coleta, propiciando uma garantia de material com melhores condições de germinação e probabilidade de sucesso reprodutivo.

É recomendado o armazenamento do pólen em geladeira a 5°C, pois manteve o material viável por mais tempo que em freezer a -18°C e bancada a 24 °C. Os resultados apresentados oferecem uma compreensão significativa no entendimento da reprodução e armazenamento do pólen de *Psidium cattleyanum* contribuindo essencialmente para o manejo produtivo da cultura e para o avanço das técnicas no contexto do melhoramento genético de plantas.

7. REFERÊNCIAS

- ALMEIDA, C., SERENO, M. J. C. D. M. Conservação e germinação in vitro de pólen de milho (*Zea mays* subsp. *mays*). **Brazilian Journal of Botany**, v.34, n.4, p.493-497. 2011.
- BARBOSA, M.V.; SOUZA, E.M.L. Biologia floral, ecologia da polinização e eficiência na produção de sementes de *Vigna unguiculata* (L.) Walp. em sistemas agrícolas. **Gaia Scie.**, v.10, n.4, p.272-283. 2016.
- BEZERRA, J. E.F; DA SILVA JUNIOR, J. F.; DE LIRA JUNIOR, J. S. ***Psidium* spp**: araçá. 2018.
- BORÉM, A., MIRANDA, G. V., FRITSCHÉ-NETO, R. **Melhoramento de Plantas**. 8. ed. Viçosa, MG: Editora UFV. p.384. 2021.
- BOUVET, J. M., EKOMONO, C. G. M., BRENDEL, O., LACLAU, J. P., BOUILLET, J. P., EPRON, D. Selecting for water use efficiency, wood chemical traits and biomass with genomic selection in a *Eucalyptus* breeding program. **Forest Ecol. Manag.**, v.465, p.118092. 2020. <https://doi.org/10.1016/j.foreco.2020.118092>
- CABRAL, J., ROSSI, A. A., KLEIN, M. E., VIEIRA, F., GIUSTINA, L. Estimativa da viabilidade polínica em acessos de *Theobroma cacao* L. baseada em testes colorimétricos. **Enciclopédia Biosfera**, v.9, n.17, p.2780-2788, 2013.
- CAMPOS, S. S., WITTMANN, M. T. S., SCHWARZ, S. F., VEIT, P. A. Biologia floral e viabilidade de pólen em cultivares de caqui (*Diospyros kaki* L.) e *Diospyros virginiana* L. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v.37, n.3, p.685-691. 2015. <https://doi.org/10.1590/0100-2945-154/14>
- CETAP. **Frutas Nativas**: alimentos locais, sabores e ingredientes especiais. Passo Fundo: CETAP – Agricultura e Tecnologia (Centro de Tecnologias Alternativas Global Science and Technology. v.07, n.01, p.67-75. 2014. Disponível em: http://www.cetap.org.br/site/wp-content/uploads/material/frutas_nativas-2015.pdf. Acesso em: 15 de Ago. 2022.
- CUCHIARA, C. C., SILVA, S. D. A., BOBROWSKI, V. L. Conservação de grãos de pólen de mamoneira a baixas temperaturas. **Revista Ceres**. v. 59, n. 01, p.82-87. 2012. <https://doi.org/10.1590/S0034-737X2012000100012>

- DA COSTA, C. C. F.; KRUPPEK, R. A.; KRAWCZYK, ANA, C. D. B. Diversidade de visitantes florais e biologia reprodutiva do Araçá (*Psidium cattleianum* Sabine) em fragmento de mata e área urbana. **Bioikos-Título não-corrente**, v. 29, n. 2. 2015. Disponível em: <https://periodicos.puc-campinas.edu.br/bioikos/article/view/3151>. Acesso em: 10 de Jan. 2023.
- DE ASSIS, T. F. Melhoramento genético de *Eucalyptus*: desafios e perspectivas. **3º Encontro Brasileiro de Silvicultura**, v.3, p.127-148. 2015.
- DE SOUZA, C. E. S., DA SILVA, A. R. P., GOMEZ, M. C. V., ROLÓM, M., CORONEL, C., DA COSTA, J. G. M., COUTINHO, H. D. M. Anti-trypanosoma, anti-leishmania and cytotoxic activities of natural products from *Psidium brownianum* Mart. ex DC. and *Psidium guajava* var. Pomifera analysed by LC–MS. **Acta tropica**, v.176, p.380-384. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.actatropica.2017.09.009>
- DIAS, W. P. A. **Emissão de inflorescência, biologia reprodutiva e armazenamento de grãos de pólen em *Butia capitata* (Mart) Becc sob condições de cultivo**. 2018. Dissertação (Mestrado) – Área de concentração em Produção Vegetal, Universidade Federal de Minas Gerais / Instituto de Ciências Agrárias, Montes Carlos. 2018. Disponível em: https://repositorio.ufmg.br/bitstream/1843/NCAP-AYMPNH/1/wlly_polliana_disserta__o_wlly__para_impress_o.pdf. Acesso em: 15 de Ago. 2022.
- DOMINGOS-MELO, A., DE LIMA NADIA, T., MACHADO, I. C. At the beginning and at the end: Combined mechanisms of prior and delayed self-pollination interact to make a ‘winner’ species. **Flora**, v.249, p.24-30. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2018.09.007>
- DUSI, D. D. A., RODRIGUES, J. C. M., CARNEIRO, V. D. C. Biotecnologia. In: SALOMÃO, A. N., SANTOS, I. R. I., GIMENES, M. A., SANTANA, D. G., CAVALCANTI, T. SEMENTES, O produtor pergunta, a Embrapa responde. Embrapa, Brasília, DF, p. 179-205. 2013.
- EMBRAPA. **Técnicas para a multiplicação de plantas agrícolas**. 2011. Disponível em: <https://ainfo.cnptia.embrapa.br/digital/bitstream/item/55005/1/FOL164.pdf>. Acesso em: 11 de Ago. 2023.
- ESPALHOK, J. C. F.; GUERRA, E. P.; OLIVEIRA, R. Sistemas reprodutivos de plantas cultivadas. **Melhoramento de Plantas**. v. 204, p. 11–18, 2014.

FLORA DO BRASIL. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2020. Disponível em: Flora e Funga do Brasil - *Psidium* L. (jbrj.gov.br). Acesso em: 19 de Jun. 2024

FRANCESCATTO, P. Desenvolvimento das estruturas reprodutivas da macieira (*Malus domestica* Borkh.) sob diferentes condições climáticas – da formação das gemas à colheita dos frutos. Tese (Doutorado). Universidade Federal de Santa Catarina. Florianópolis – SC. 239 p. 2014.

FRANZON, R.C.; SOUZA-SILVA, J.C. **Araçá: *Psidium* spp.** Montevideo: Procisur, 26p. 2017. Disponível em: https://www.procisur.org.uy/adjuntos/75c16f77adf2_Psidium-PROCISUR.pdf. Acesso em: 15 de Ago. 2022.

GOTTSBERGER, G. Evolutionary steps in the reproductive biology of Annonaceae. **Rev Bras. Fruticul.**, v. 36, p.32-43. 2014. doi: 10.1590/S0100-29452014000500004.

GUALBERTO, Z. L., DE FREITAS KONRAD, M. L., MELLO, S. Q. S., DE JESUS CASTRO, F., DE ALMEIDA SISSI, S. A. Plantas alimenticias não convencionais do quilombo de lajeado. **Facit Business and Technology Journal**, v. 1, n. 41. 2023. Disponível em: <http://revistas.faculdefacit.edu.br/index.php/JNT/article/view/2088>. Acesso em 02 Ago. 2023.

HISTER, C. A. L., TEDESCO, S. B. Estimativa da viabilidade polínica de araçazeiro (*Psidium cattleianum* Sabine) através de distintos métodos de coloração. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, vol. 18, n. 1, p. 135-141. 2016. https://doi.org/10.1590/1983-084X/15_081

JALCA ZAMBRANO, I., GARCÍA CRUZATTY, L. C., CASTRO OLAYA, J., VILLAMAR TORRES, R., GUACHAMBALA CANDO, M. Condiciones óptimas para almacenamiento del polen de *Ochroma pyramidale*. **Bosque (Valdivia)**, v. 40, n. 2, p. 227-233. 2019. <http://dx.doi.org/10.4067/S0717-92002019000200227>

KOSERA NETO, C. **Biologia floral e reprodutiva de araçazeiros (*Psidium* sp.)**. 2018. Disponível em: Repositório Institucional da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (RIUT): Erro interno do sistema (utfpr.edu.br). Acesso em: 12 de Out. 2022.

LEI, Y.; WANG, L.; HUANG, F.; DUAN, J.; LUO, Y.; KANG, Y.; YANG, H.; LI, S. Studies on pollen storage and vitality difference of tea plan varieties. **Pakistan Journal of Botany**, v. 52, n. 1, p. 305-309. 2020. [http://dx.doi.org/10.30848/PJB2020-1\(1\)](http://dx.doi.org/10.30848/PJB2020-1(1))

LÔBO, C.; STEFENON, V. M.; DE ÁVILA JR, R. S. SISTEMA REPRODUTIVO E CARACTERÍSTICAS FLORAIS DE PROSOPIS AFFINIS SPRENG.(FABACEAE). Anais do Salão Internacional de Ensino, Pesquisa e Extensão, v. 7, n. 4. 2015. Disponível em: <https://periodicos.unipampa.edu.br/index.php/SIEPE/article/view/81528>. Acesso em: 10 de Janeiro de 2023.

MACAÚBAS-SILVA, C., FÉLIX, M. D., AQUINO, A. K. S. D., PEREIRA-JÚNIOR, P. G., BRITO, E. V. D. O., OLIVEIRA-FILHO, A. A. D., TELES, Y. C. Araçain, a tyrosol derivative and other phytochemicals from *Psidium guineense* Sw. **Nat. Product Res.**, v.35, n.14, p.2424-2428. 2021. doi: 10.1080/14786419.2019.1672683

MARQUES, A. R. F., DA SILVA OLIVEIRA, V., BOLIGON, A. A., VESTENA, S. (2018). Produção e qualidade de mudas de *Psidium cattleianum* var. *cattleianum* Sabine (Myrtaceae) em diferentes substratos. **Acta Biológica Catarinense**, v. 5, n. 1, p. 5-13. 2018. <https://doi.org/10.21726/abc.v5i1.283>

MELO JÚNIOR, A. F., CARVALHO, D., BRANDÃO, M. M., SOUSA, L. G., VIEIRA, F. A., MENEZES, E. V., ROYO, V. A., OLIVEIRA, D. A. Spatial genetic structure of *Cavanillesia arborea* K. Schum. (Malvaceae) in seasonally dry tropical forest: implications for conservation. **Biochemical Systematics and Ecology**, v.58, p.114-119. 2015. <https://doi.org/10.1016/j.bse.2014.11.004>

MIRANDA, G. B., SOUZA, R. M. D., GOMES, V. M., FERREIRA, T. D. F., ALMEIDA, A. M. Avaliação de acessos de *Psidium spp.* quanto à resistência a *Meloidogyne enterolobii*. **Bragantia**, v.71, p.52-58. 2015. <https://doi.org/10.1590/S0006-87052012005000001>

MMA. Ministério do Meio Ambiente. **Biodiversidade Brasileira**. 2018. Disponível em: <http://www.mma.gov.br/biodiversidade-brasileira>. Acesso em: 15 de Ago. 2022.

NOGUEIRA, P. V., FERNANDES DA SILVA, D., PIO, R., SILVA, P. A. D. O., BISI, R. B., BALBI, R. V. Germinação de pólen e aplicação de ácido bórico em botões florais de nespereiras. **Bragantia**, v.74, p.9-15. 2015. <https://doi.org/10.1590/1678-4499.0264>

NOIA, L. R., NOGUEIRA, A. M., MANGARAVITE, E., FERREIRA, A., FERREIRA, M. D. S. (2011). Avaliação das distâncias genéticas de genótipos comerciais de goiabeira. **In: XIV Encontro Latino Americano de Iniciação Científica e X Encontro Latino Americano de Pós-Graduação – Universidade do Vale do Paraíba**, 2017.

NOVARA, C., ASCARI, L., MORGIA, V., REALE, L., SINISCALCO, C. Viability and germinability in long term storage of *Corylus avellana* pollen. **Scientia Horticulturae**, v.214, n.5, p.295-303. 2017. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2016.11.042>

NUCCI, M.; ALVES-JUNIOR, V.V. Biologia floral e sistema reprodutivo de *Campomanesia adamantium* (CAMBESS.) O. BERG-MYRTACEAE em área de Cerrado no sul do Mato Grosso do sul, Brasil. **Interciencia**, v. 42, n. 2, p. 127-131. 2017.

OLIVEIRA, R. P., SOARES FILHO, W. S., MACHADO, M. A., SCIVITTARO, W. B., GESTEIRA, A. S. Melhoramento genético de plantas cítricas. **Informe Agropecuário**, v. 35, n. 281, p. 22-29. 2014. <https://doi.org/10.5433/1679-0359.2014v35n1p101>

PERLEBERG, T, D. **Conservação *ex situ* e biologia reprodutiva da espinheira santa** (*Maytenus ilicifolia*, Celastraceae). 2017. Disponível em: <http://repositorio.ufpel.edu.br:8080/handle/prefix/3667>. Acesso em: 20 de Jul. 2023.

PEREIRA, E. S., VINHOLES, J.; FRANZON, R. C., DALMAZO, G., VIZZOTTO, M., NORA, L. *Psidium cattleianum* fruits: A review on its composition and bioactivity. **Food Chemistry**, v. 258, p. 95-103. 2018. <https://doi.org/10.1016/j.foodchem.2018.03.024>

PIROLA, K. **Caracterização fisiológica e conservação de sementes de oito fruteiras nativas do Bioma Floresta com Araucária**. Dissertação (mestrado). Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco – Paraná. p.129. 2013.

PROENÇA, C.E.B., COSTA, I.R., TULER, A.C. 2023. *Psidium* in Flora e Funga do Brasil. **Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: Flora e Funga do Brasil (jbrj.gov.br). Acesso em: 20 de Jul. 2023.

VIEIRA, M. F., FONSECA, R. S. (2014). Biologia reprodutiva em angiospermas: síndromes florais, polinização e sistemas reprodutivos sexuados. **Série conhecimento. Viçosa, MG: Ed. UFV**. 24 p. : il. color. ePUB. - (ISSN 2179-1732 ; n. 26). Disponível em: https://drive.google.com/file/d/11RpR4F_NaiLxnHQmP74-NiUjWaazv0WM/view. Acesso em: 02 Ago. 2023.

RENNER, S. S. The relative and absolute frequencies of angiosperm sexual systems: dioecy, monoecy, gynodioecy, and an updated online database. **American Journal of botany**, v. 101, n. 10, p. 1588-1596. 2014. <https://doi.org/10.3732/ajb.1400196>

ROCHA, E. L. B., SILVA, C., DE CARVALHO, A. C., DE FARIAS, D. T., ARAUJO, P. C. D. Viabilidade e conservação de grãos de pólen da carnaúba (*Copernicia prunifera* (Miller) HE More). **Advances in Forestry Science**, v.10, n.1, p.1919-1927. 2023. <https://doi.org/10.34062/afs.v10i1.14217>

SANTILLÁN-FERNÁNDEZ, A., SALINAS-MORENO, Y., VALDEZ-LAZALDE, J. R., CARMONA-ARELLANO, M. A., VERA-LÓPEZ, J. E., PEREIRA-LORENZO, S. Relationship between maize seed productivity in Mexico between 1983 and 2018 with the adoption of genetically modified maize and the resilience of local races. **Agriculture**, v.11, n.8, p.737. 2021. <https://doi.org/10.3390/agriculture11080737>

SEPPPIR. Secretaria Nacional de Políticas de Promoção da Igualdade Racial. **Comunidades Tradicionais** – O que são. 2018. Disponível em:<http://www.seppir.gov.br/comunidades-tradicionais/o-que-sao-comunidades--tradicionais>. Acesso em: 15 de Ago. 2022.

SEZERINO, A. A., ORTH, A. I. Polinização da pereira-portuguesa em Bom Retiro-SC, Brasil. **Revista brasileira de fruticultura**. v. 37, n. 04, p. 943-951. 2015. <https://doi.org/10.1590/0100-2945-209/14>

SILVA, D. F., PIO, R., NOGUEIRA, P. V., SILVA, P. A. O., FIGUEIREDO, A. L. Viabilidade polínica e quantificação de grãos de pólen em espécies de fisális. **Revista ciência agronômica**. v. 48, n. 02, p. 365-373. 2017. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20170042>

SILVA, L. F. D. O. D., OLIVEIRA, A. F. D., PIO, R., ALVES, T. C., & ZAMBON, C. R. Avaliação de diferentes métodos para estimar a qualidade do pólen em diferentes cultivares de azeitona (*Olea Europaea* L.). **Bragantia**, v.71, p.202-209. 2012. <https://doi.org/10.1590/S0006-87052012000200008>

SILVA, A. T., MAZINE, F. F. A família Myrtaceae na Floresta Nacional de Ipanema, Iperó, São Paulo, Brasil. **Rodriguésia**, v. 67, p. 203-224. 2016. <https://doi.org/10.1590/2175-7860201667110>

SOBRAL, M., PROENÇA, C., SOUZA, M., MAZINE, F., LUCAS, E. **Myrtaceae**. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/listaBrsil/FichaPublicaTaxonUC/FichaPublicaTaxonU.do?id=FB171>. Acesso em: 15 de Ago. 2022.

SOBREVILA, C., ARROYO, M. T. K. Breeding systems in a montane tropical cloud forest in Venezuela. **Plant systematics and evolution**. v. 140, n. 01, p. 19-37. 1982.

SOUSA, L.P., SOBRAL, M.E.G. Morfotipos do Araçazeiro, *Psidium cattleianum* Sabine (Myrtaceae) no Estado do Paraná. **In: PEDROSA-MACEDO, J. H. et al. (Orgs). O Araçazeiro: Ecologia e Controle Biológico**. Curitiba, PR: FUPEF, p.19-28. 2007.

SHEKARI, A., NAZERI, V., SHOKRPOUR, M. Pollen viability and storage life in *Leonurus cardiaca* L. **Journal of Applied Research on Medicinal and Aromatic Plants**, v.3, n.3, p.101-104. 2016. <https://doi.org/10.1016/j.jarmap.2016.02.004>

SHIVANNA, K. R. **Pollen biology and biotechnology**. CRC Press. 2019. Disponível em: <https://books.google.com.br/books/publisher/content?id=sU2WDwAAQBAJ&hl=pt-BR&pg=PR3&img=1&zoom=3&sig=ACfU3U1TFKKq3jjdWSaSeNSoTpLs3sA6Gg&w=1280>. Acesso em: 15 de Ago. 2022.

SPERONI, G. C., MAZZELLA, B., VIGNALE, C., PRITSCH, D., CABRERA, M., BONIFACINO, M., QUEZADA, M.P., SILVA, G., JOLOCHIN, A., TARDÁGUILA, P., GAIERO, C., MILLÁN, C., TRUJILLO. (2012). Estudios biológicos y taxonómicos en la especie frutal nativa *Psidium cattleianum* (myrtaceae). **In: GARCIA, M., ZERBINO, P., BENTANCUR, A., IRIGOYEN, R. M. 6º Encuentro Nacional sobre Frutos Nativos**. INIA Las Brujas. p.23-35. 2012. Disponível em: <http://www.ainfo.inia.uy/digital/bitstream/item/2363/1/18429030512102227.pdf#page=26>. Acesso em: 10 de Setembro de 2022.

STEFANELLO, R., GOERGEN, P. C. H., NEVES, L. A. S. Resposta fisiológica de sementes de alcachofra ao estresse salino. **Cultura Agrônômica**, Ilha Solteira, v.27, n.4, p.463-470. 2018. <http://dx.doi.org/10.32929/2446-8355.2018v27n4p463-470>

SULISTYO, A., PURWANTORO; SARI, K. P. Correlation, path analysis and heritability estimation for agronomic traits contribute to yield on soybean. **International Symposium on Food and Agro-biodiversity**, [s.l.], v. 102, p.012034. 2018. <http://dx.doi.org/10.1088/1755-1315/102/1/012034>

VASQUES, A. G. E. B. C., DE MATOS COSTA, K., LEITE, A. V. A importância da polinização biótica em cultivos agrícolas no Brasil. **Diversitas Journal**, v.8, n.1. 2023. <https://orcid.org/0000-0002-9212-8903>

VIEIRA, I. R., OLIVEIRA, J. S., VEROLA, C. F., LOIOLA, M. I. B. Traditional knowledge, use, and management of *Copernicia prunifera* H. E. Moore (carnaúba) in Northeastern Brazil. **Espacios**, Venezuela, v.37, n.8, p.18. 2016.

Vieira, R. F., Agostini Costa, T. S., Silva, D. B., Ferreira, F. R., Sano, S. M. **Frutas nativas da região Centro-Oeste do Brasil**. Brasília, Brazil: Embrapa Informação Tecnológica, p. 320, 2010.

ZAPATA, T. R., ARROYO, M. T. K. Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest. **Biotropica**. v. 10, n. 03, p. 221-230. 1978.