



UFRR

UNIVERSIDADE FEDERAL DE RORAIMA

PRÓ REITÓRIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA

DIGELMA CAMILA BARROS ARAÚJO

**VIABILIDADE E CONSERVAÇÃO DE GRÃOS DE PÓLEN E POLINIZAÇÃO  
ARTIFICIAL DE ESPÉCIES FRUTÍFERAS NAS CONDIÇÕES DE RORAIMA**

Boa Vista, RR

2017

DIGELMA CAMILA BARROS ARAÚJO

**VIABILIDADE E CONSERVAÇÃO DE GRÃOS DE PÓLEN E POLINIZAÇÃO  
ARTIFICIAL DE ESPÉCIES FRUTÍFERAS NAS CONDIÇÕES DE RORAIMA**

Dissertação de mestrado apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal de Roraima em parceria com a Embrapa Roraima, como parte dos requisitos para a obtenção do título de mestre em Agronomia. Área de concentração: Produção Vegetal.

Orientadora: Profa. Dra. Pollyana Cardoso Chagas  
Coorientador: Pesq. Dr. Edvan Alves Chagas

Boa Vista, RR

2017

Dados Internacionais de Catalogação na publicação (CIP)  
Biblioteca Central da Universidade Federal de Roraima

A663v Araújo, Digelma Camila Barros.

Viabilidade e conservação de grãos de pólen e polinização artificial de espécies frutíferas nas condições de Roraima / Digelma Camila Barros Araújo, 2017.

62 f. : il.

Orientadora: Profa. Dra. Pollyana Cardoso Chagas  
Dissertação (mestrado) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Universidade Federal de Roraima.

1 – Polinização. 2 – Melhoramento. 3 – Germinação. 4 – Roraima. I – Título. II – Chagas, Pollyana Cardoso (orientadora).

CDU – 581.162.3

Bibliotecária responsável: Keyla Rebouças Soares – CRB 11/721 - AM

DIGELMA CAMILA BARROS ARAÚJO

**Viabilidade e conservação de grãos de pólen e polinização artificial de espécies frutíferas  
nas condições de Roraima**

Dissertação apresentada como pré-requisito para conclusão do Curso de Mestrado do Programa de Pós-Graduação em Agronomia, da Universidade Federal de Roraima em parceria com a Embrapa Roraima.

Área de Concentração: Produção Vegetal.  
Defendida em 21 de junho de 2017 e avaliada pela seguinte banca examinadora:

Aprovada em: 21/06/2017

---

Profa. Dra. Pollyana Cardoso Chagas  
Orientadora/Curso de Agronomia – UFRR

---

Prof. Dra. Kedma da Silva Matos  
Curso de Agronomia – UFRR

---

Dra. Maria da Conceição da Rocha Araújo  
Pós-Doutorado CAPES/Embrapa Roraima

---

Dra. Maria Luíza Grigio  
Pós-Doutorado CAPES/UFRR

*Estou  
longe de casa  
há tanto tempo e com o tempo  
se aprende... Tão inútil é o orgulho,  
passageiro é o mundo. E que importância tem  
os medos? Se serão irrelevantes  
com o tempo...  
Viver é só  
o ensaio  
de uma vida eterna!*

*(Marcela Taís)*

## AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar agradeço a Deus que me proporcionou esta rica oportunidade de conhecer mais um pouco de sua bela criação através da ciência e pela força para enfrentar todas as adversidades;

Agradeço imensamente a meus pais, Manoel Francisco e Rosicléia Barros, que me apoiaram, mais uma vez, nesta fase da minha vida e sempre prezaram pelos valores de educação e integridade. Ao meu amado esposo, Hebert Cordeiro pela compreensão, atenção, paciência, carinho, amor e ajuda em todos os momentos;

À minha orientadora, Profa. Dra. Pollyana Cardoso Chagas e ao meu coorientador, Prof. Dr. Edvan Alves Chagas, pela orientação, ensinamentos, conselhos, incentivo, apoio e confiança;

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e a Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) pelo auxílio financeiro. À Universidade Federal de Roraima (UFRR) e Embrapa Roraima pela estrutura física e apoio logístico durante a realização do curso de mestrado;

A todos os Professores do Programa de Pós-Graduação em Agronomia e aos professores e servidores do Centro de Ciências Agrárias da UFRR que contribuíram durante minha formação;

Ao Pesq. Dr. Daniel Augusto Schurt da Embrapa Roraima pelo auxílio, ensinamento e sugestões durante a condução do experimento e pela disponibilização da infraestrutura do Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Roraima;

Ao senhor Luiz Alfredo Mendes de Souza Cruz, proprietário do Sítio Paricarana (Cantá-RR), por ceder o pomar de ateira para realização do experimento, por ceder suas instalações para a permanência do grupo de pesquisa durante os trabalhos.

Aos meus amigos: Dalvina, Ismaele, Thatyele, Thais, Jorge, Christinny, Ricardo Bardales e Neuma pela ajuda, amizade e confiança ao longo desta jornada. Aos meus amigos do grupo de fruticultura da Embrapa Roraima: Sara Thiele, Daniel Lucas, Railin, Elias Ariel, Débora, Andreza, Tadashi e demais membros pela amizade, companheirismo e apoio no campo;

Aos amigos Isabel Garcia e João Monteiro pela grande ajuda na parte estatística deste trabalho e auxílio nas horas de dúvida.

A todos os membros da banca examinadora deste trabalho: Profa. Dra. Pollyana Cardoso Chagas (orientadora), Prof., Dra. Kedma da Silva Matos, Dra. Maria da Conceição da Rocha Araújo e Dra. Maria Luíza Grigio. E a todos aqueles que contribuíram direta ou indiretamente para minha formação acadêmica.

**Muito obrigada!**

ARAÚJO, D. C. B. **Viabilidade e conservação de grãos de pólen e polinização artificial de espécies frutíferas nas condições de Roraima.** 2017. 60 p. Universidade Federal de Roraima (Dissertação – Mestrado em Agronomia, Área de Concentração: Produção Vegetal), Boa Vista-RR, 2017.

### RESUMO

Estudos de viabilidade e conservação de grãos de pólen para espécies frutíferas são de fundamental importância, tanto para subsidiar a condução de programas de melhoramento genético quanto para auxiliar na definição de técnicas de manejo adequadas para essas culturas, sobretudo a polinização artificial, visando garantir não somente incrementos de produtividade, como também melhor qualidade dos frutos. Nesse sentido, objetivou-se com o presente estudo avaliar a viabilidade e conservação de grãos de pólen e a polinização artificial de espécies frutíferas nas condições de Roraima. Para tal, o trabalho foi constituído dos seguintes experimentos: 1) Determinação da antese em ateira, compreendendo as seguintes etapas: observação das características morfológicas das flores por 46 horas, visando a determinação dos seguintes estágios: feminino (antese) e masculino. Viabilidade e germinação de grãos de pólen de ateira (*Annona squamosa* L.) submetidos à diferentes condições de armazenamento. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em um esquema fatorial 2x7, sendo 2 condições de armazenamento (ambiente à  $27\pm 2^{\circ}\text{C}$  e refrigerado à  $5\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) e 7 tempos de acondicionamento dos grãos de pólen (0, 4, 8, 12, 16, 20 e 24 horas), com 4 repetições, para a análise da germinação dos grãos de pólen e 3 repetições para a análise da viabilidade dos grãos de pólen, sendo que cada repetição foi composta por uma lâmina. As variáveis avaliadas foram: porcentagem de grãos de pólen viáveis e não viáveis e porcentagem de grãos de pólen germinados e não germinados. 2) Polinização artificial e qualidade da frutificação de ateira (*Annona squamosa* L.) nas condições de Roraima. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 8 tratamentos e 4 repetições, sendo 40 flores por parcela. Os tratamentos foram compostos dos seguintes horários de polinização artificial: 6, 7, 8, 9, 10, 16, 17 e 18 horas. As variáveis avaliadas foram: comprimento e diâmetro dos frutos (cm); firmeza da polpa (N); massa fresca dos frutos (g); massa fresca da casca e sementes (g); potencial hidrogeniônico (pH); sólidos solúveis ( $^{\circ}\text{Brix}$ ) e acidez titulável (g de ácido cítrico  $100\text{ g}^{-1}$  de polpa). 3) Viabilidade e germinação de grãos de pólen de caçarizeiro (*Myrciaria dúbia*) *in vitro*. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em um esquema fatorial 2x7, sendo 2 meios de cultura (com boro e sem boro), para o experimento de germinação e 2 condições de armazenamento (ambiente à  $27\pm 2^{\circ}\text{C}$  e refrigerado à  $5\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) para o experimento de viabilidade, para 7 tempos de acondicionamento dos grãos de pólen (0, 4, 8, 12, 16, 20 e 24 horas), com 4 repetições, para a análise da germinação dos grãos de pólen e 3 repetições para a análise da viabilidade dos grãos de pólen, sendo que cada repetição foi composta por uma lâmina. As variáveis avaliadas foram: porcentagem de grãos de pólen viáveis e não viáveis e porcentagem de grãos de pólen germinados e não germinados. As variáveis avaliadas em cada experimento foram submetidas à análise de variância, sendo os efeitos dos tratamentos quantitativos submetidos à regressão polinomial e os qualitativos pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade. As análises foram realizadas através do programa computacional SISVAR. Para as condições edafoclimáticas do Estado de Roraima a antese (estágio feminino) das flores da ateira tem início às 00:00h, se estendendo até às 12:00h do mesmo dia, alcançando o estágio funcionalmente estaminado (masculino) a partir das 6 horas da manhã do dia seguinte. É recomendado que a polinização artificial de ateira seja realizada no período da manhã, de 6:00 às 10:00h. Os grãos de pólen de ateira e de caçarizeiro permanecem viáveis por até 12h após a coleta, quando armazenados em condição ambiente ( $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ ).

**Palavras-chave:** *Annona squamosa*, Amazônia, Ata, Biologia floral, Camu-camu, Caçari, Germinação, *Myrciaria dubia*, Melhoramento.

ARAÚJO, D. C. B. **Viability and conservation of pollen grains and pollination artificial species fruit under the conditions of Roraima.** 2017. 60 p. Federal University of Roraima (Dissertation – Master in Agronomy, Area of Concentration: Plant Production), Boa Vista-RR, 2017

### ABSTRACT

Studies of viability and conservation of pollen grains to species of fruit are of fundamental importance, both to inform the conduct of genetic improvement programs, to assist in the definition of the management techniques appropriate to these cultures, especially the pollination, artificial, aiming to ensure not only the increments of productivity, but also better quality of the fruits. In this sense, aimed with this study to assess the viability and conservation of pollen grains and pollination artificial species fruit under the conditions of Roraima. To this end, the work was made up of the following experiments: 1) Study of the opening floral flower sugar apple (*Annona squamosa* L.), comprising the following steps: observation of the morphological characteristics of the flowers, for 46 hours, aiming at the determination of the following stages: female (anthesis) and male. 2) The feasibility and germination of pollen grains from the minutes submitted to different storage conditions. The experimental design was the entirely randomized, in a scheme factorial 2x7, 2 in the conditions of storage environment ( $25\pm 2^{\circ}\text{C}$  and cooled to  $5\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) and 7 times the wrapping of the pollen grains (0, 4, 8, 12, 16, 20 and 24 hours), with 4 repetitions, for the analysis of the germination of pollen grains and 3 repetitions for the analysis of the viability of the pollen grains, being that each repetition was composed by a blade. The following variables were evaluated: percentage of pollen grains viable and non-viable and the percentage of pollen grains germinated and no germinated. 2) Pollination and artificial quality of the fruiting of sugar apple (*Annona squamosa* L.) in the conditions of Roraima. The experimental design was entirely randomized, with 8 treatments and 4 repetitions, being 40 flowers per plot. The treatments were composed of the following zones of pollination artificial: 6, 7, 8, 9, 10, 16, 17 and 18 hours. The following variables were evaluated: length and diameter of fruits (cm); firmness of the pulp (N); mass of fresh fruit (g) mass of fresh bark and seeds (g); hydrogen-ionic potential (pH); soluble solids ( $^{\circ}\text{Brix}$ ) and titratable acidity (g citric acid 100 g<sup>-1</sup> of pulp). The variables evaluated in each experiment were subjected to analysis of variance, the effects of the treatments quantitative submitted to the polynomial regression and the qualitative by the test of Tukey at the 5% level of probability. The analyses were performed using the computer program SISVAR. For the climate conditions of the State of Roraima anthesis (stage female) of flowers on the sugar apple begins at 00:00, extending until 12:00 the same day, reaching the stage functionally staminate (male) from 6 o'clock in the morning of the following day. It is recommended that the pollination artificial ateira be held in the mornings, from 6:00 to 10:00. The pollen grains of sugar apple and caçarizeiro remain viable for up to 12 hours after collection stored in the condition of the environment ( $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ ).

**Key words:** *Annona squamosa*, Amazon, Sugar apple, Biology, floral, Camu-camu, Caçari, Germination, *Myrciaria dubia*, Improvement.

## SUMÁRIO

<b>1 INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
<b>2 OBJETIVOS .....</b>	<b>12</b>
2.1 Objetivo geral .....	12
2.2 Objetivos específicos .....	12
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>13</b>
3.1 Aspectos gerais da cultura da ata .....	13
3.2 Aspectos gerais da cultura do caçari .....	15
3.3 Testes de viabilidade do pólen .....	17
3.4 Polinização e conservação de pólen .....	19
<b>4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>23</b>
4.1 Determinação da antese, viabilidade e germinação de grãos de pólen de ateira ( <i>Annona squamosa</i> L.) submetidos à diferentes condições de armazenamento .....	23
4.2 Polinização artificial e qualidade da frutificação de ateira ( <i>Annona squamosa</i> L.) nas condições de Roraima .....	26
4.3 Viabilidade e germinação de grãos de pólen de caçarizeiro <i>in vitro</i> .....	28
<b>5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>31</b>
5.1 Determinação da antese, viabilidade e germinação de grãos de pólen de ateira ( <i>Annona squamosa</i> L.) submetidos à diferentes condições de armazenamento .....	31
5.2 Polinização artificial e qualidade da frutificação de ateira ( <i>Annona squamosa</i> L.) nas condições de Roraima .....	37
5.3 Viabilidade e germinação de grãos de pólen de caçarizeiro <i>in vitro</i> .....	42
<b>6 CONCLUSÕES.....</b>	<b>47</b>
<b>7 REFERÊNCIAS .....</b>	<b>48</b>
<b>8 APÊNDICE.....</b>	<b>59</b>

## 1 INTRODUÇÃO

Apesar dos notórios avanços da fruticultura brasileira, consolidados no aumento da produção, da produtividade e da melhoria na qualidade dos frutos, a participação da região Amazônica no cenário da fruticultura nacional ainda é pouco expressiva, em razão do seu caráter essencialmente extrativista (LEDERMAN et al., 2008).

Contudo, diversas dessas espécies frutíferas vêm sendo alvo de intensa investigação científica nas condições do Estado de Roraima, a exemplo da ateira (*Annona squamosa* L.) e do caçarizeiro [*Myrciaria dubia* (Kunth) Mc Vaugh], devendo assim serem apresentadas como alternativas para o cultivo comercial e conseqüentemente contribuir para o avanço do setor no estado.

Para o sucesso das técnicas de polinização artificial, o conhecimento do tempo de viabilidade do pólen e de receptividade do estigma é de fundamental importância para se obter a fecundação da flor (ANTONIO, 2004). A receptividade dos estigmas é um fator fundamental na determinação do melhor período de deposição do pólen na flor. Normalmente o estigma, produz substâncias viscosas que facilitam a aderência do mesmo, garantindo, provavelmente, a fertilização com formação de frutos e sementes (SOUZA et al., 2002).

Muitos métodos têm sido usados para verificar a viabilidade do pólen das plantas, podendo ser determinada por método direto, com uso de técnicas de indução à germinação *in vitro* (PIO et al., 2007) ou *in vivo* (FERREIRA et al., 2007) e, por método indireto baseado em parâmetros citológicos, como a coloração (COLAS; MERCIER, 2000). Por meio da estimativa da viabilidade pode se monitorar o vigor do grão de pólen durante a conservação, estudar a interação pólen-pistilo, entre outros (DAFNI; FIRMAGE, 2000). A germinação do grão de pólen depende de vários fatores, como a pressão osmótica, a concentração e o tipo de açúcar, a consistência, a temperatura, a umidade, a presença de enzimas e fitormônios no meio de cultura (ANTONIO, 2004).

De acordo com Tighe (2004), a conservação de pólen possibilita sincronia artificial entre a dispersão de pólen com a receptividade floral, além de complementar a ação de agentes polinizadores pouco eficientes ou mesmo inexistentes.

A polinização artificial é uma técnica de manejo de extrema importância para o produtor que destina sua produção ao comércio *in natura*, pois em função da eficiência da polinização, obtém-se, frutos de maior tamanho, melhor aparência e com melhores preços. A falta de qualidade do pólen pode frustrar as expectativas de resultados dessas polinizações artificiais (GUIRADO et al., 2004).

Nesse sentido, estudos sobre viabilidade e conservação de grãos de pólen e polinização artificial de espécies frutíferas, tornam-se imprescindíveis para subsidiar programas de melhoramento genético, além de fornecer informações para os fruticultores sobre o manejo adequado da polinização artificial nas condições do Estado de Roraima, visando maior produtividade e melhor qualidade dos frutos.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 Objetivo geral**

Avaliar a viabilidade e conservação de grãos de pólen de ateira e caçarizeiro e, o efeito da polinização artificial na qualidade dos frutos de ata nas condições de Roraima.

### **2.2 Objetivos específicos**

Acompanhar a abertura floral (antese) das flores de ateira, visando a determinação dos estágios feminino, masculino e senescência nas condições de Roraima.

Avaliar a viabilidade e germinação de grãos de pólen de ateira submetidos à diferentes condições de armazenamento.

Avaliar o efeito da polinização artificial realizada em diferentes horários, na fixação e qualidade de frutos de ata nas condições de Roraima.

Avaliar a viabilidade e germinação de grãos de pólen de caçarizeiro submetidos à diferentes condições de armazenamento.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Aspectos gerais da cultura da ata

A ata (*Annona squamosa* L.) é uma das representantes mais importantes do gênero *Annona* devido ao valor comercial de seus frutos, em função do sabor bastante apreciado pelos consumidores (ZUCARELI et al., 2007). Além das propriedades alimentares, as anonáceas apresentam valor medicinal, propriedades farmacêuticas (SINGH, 2011; MADHU et al., 2012) e, ainda, potencial como inseticidas (SEFFRIN et al., 2010).

De acordo com Brito et al. (2008) a ata também é conhecida como pinha ou fruta-do-conde. É nativa das ilhas do Caribe, onde era chamada de anón pelos espanhóis, que se encantaram com a sua polpa no século XVI. Chegou ao Brasil por meio do Conde de Miranda que plantou o primeiro exemplar da árvore na Bahia, em 1626. Sua adaptação ao clima brasileiro deve-se ao fato de preferir clima quente, com pouca chuva e estação seca bem definida.

A importância socioeconômica da ata no Brasil tem aumentado nos últimos anos. Seu cultivo comercial tem sido efetuado com maior ênfase na região Nordeste e Centro-Oeste do país, em razão de sua boa adaptação à baixa umidade relativa do ar. Na região Nordeste, a Bahia destaca-se, especialmente a microrregião de Irecê, com cerca de 3.000 hectares cultivados, sendo a produção caracteristicamente oriunda de agricultores familiares, pequenos e médios produtores (SÃO JOSÉ et al., 2014). Em função das condições climáticas e da fenologia da planta, existe forte tendência de a produção concentrar-se entre os meses de janeiro e abril, e, em menor quantidade, nos meses de outubro a dezembro (PELINSON et al., 2005).

A regionalização dos pomares de anonáceas, além da adaptabilidade climática das espécies, envolve os hábitos alimentares regionais. Desse modo, a ata e a graviola (*Annona muricata* L.) possuem destaque na região Norte e Nordeste. Além da ata, o Sudeste brasileiro, apresenta melhores condições para o desenvolvimento de atemoias (*Annona cherimola* Mill. x *Annona squamosa* L.) e cherimoias (*Annona cherimola* Mill.) (NOGUEIRA et al., 2005).

A expansão do consumo de ata está relacionada às propriedades medicinais e nutricionais, bem como seu agradável flavor. Tais propriedades devem-se a presença de vitaminas A, B, C, E, e K1, antioxidantes, ácidos graxos poli-insaturados e presença de minerais essenciais prevenindo e auxiliando no combate doenças cardíacas, diabete, hipertireoidismo e câncer (SENTHIL et al., 2014).

A ata é uma das frutas tropicais de maior aceitação comercial e a demanda de produção têm aumentado consideravelmente devido o consumo nacional e de outros países. Apresenta

ótimo potencial, com grandes perspectivas econômicas para a comercialização, industrialização e exportação, seja através do consumo *in natura* ou na forma de polpa (BITTENCOURT et al., 2007).

A ateira é uma árvore de porte baixo, com 4,6 a 6,1 metros de altura, com uma ramificação do tipo simpodial. As folhas são de coloração verde pálida com 6,4 a 10,2 cm comprimento, são peludas quando jovens e suavizando de acordo com a maturidade, são finas, lanceoladas a oblongas lanceoladas (CRANE et al., 2005).

De acordo com Manica (2003), as flores de *Annona squamosa* são hermafroditas, axilares, com cálice e corola carnosos, formando uma câmara floral que funciona como abrigo, fonte alimentar e/ou local de acasalamento para os visitantes florais. As flores apresentam características da síndrome de cantarofilia (polinização por besouros), tais como pétalas carnosas, de coloração clara e emissão de odores fortes. A antese é crepuscular, iniciando por volta das 17 horas e a duração das flores é de aproximadamente dois dias. As flores apresentam-se na fase feminina nas primeiras 20 horas e na fase masculina nas 20 horas seguintes, caracterizando a dicogamia protogínica. *Carpophilus hemipterus*, *Carpophilus* sp e *Haptoncus ochraceus* (*Nitidulidae*) são os principais visitantes, sendo considerados como agentes polinizadores desta anonácea.

A espécie é autocompatível, contudo, os testes de germinação indicam que as sementes obtidas por polinização cruzada apresentam maior viabilidade do que as resultantes de geitonogamia (KILL; COSTA, 2003). O tempo de floração da ateira é de 3 a 6 meses, podendo chegar a aumentar em casos de picos de floração mais extensos (CRANE et al., 2005).

Segundo Peña et al. (2002), a ausência de polinizadores resulta em uma produção menor que 5% da capacidade da planta. Dentre as técnicas de manejo para a cultura, a polinização artificial é definitivamente uma das mais importantes, uma vez que a autofecundação é insignificante para o gênero *Annona* (PEREIRA et al., 2003). Taxas de até 66,7% de aborto foram registradas por Kill e Costa (2003), resultantes de geitonogamia, os quais indicam que mecanismos de ação tardia ou incompatibilidade podem estar atuando na sua reprodução. Assim, os autores acima citados recomendam que para garantir o sucesso reprodutivo, seja utilizada a polinização cruzada.

De acordo com Crane et al. (2005) os frutos são agregados na forma de coração, redondo, ovais ou cônicos, em geral, eles possuem de 5,1 a 12,7 cm de diâmetro e pesam de 113 a 682 gramas. Os frutos são compostos por carpelos que são facilmente retirados quando o fruto está maduro. A cor do fruto permanece constante, apenas perde o brilho ao decorrer do seu desenvolvimento. A polpa é branca ou creme, com boa consistência, sabor agradável e o tempo

de amadurecimento dos frutos é desuniforme, podendo a colheita ser realizada de 3 a 6 meses na temporada. No gênero *Annona*, existe uma relação direta entre o número de sementes e o peso do fruto. Na ata, por exemplo, para cada 100 g de fruto existem aproximadamente 30 sementes (LEDERMAN; BEZERRA, 1997).

A ateira pode ser propagada por via sexuada (sementes) ou assexuada (vegetativa), sendo que a forma mais empregada nos pomares é a sexuada. Esse fato torna os pomares muito desuniformes em virtude da variabilidade genética entre as plantas. Essa variabilidade genética garante a biodiversidade da espécie, mas por outro lado, implica em heterogeneidade dos pomares (CORDEIRO; PINTO; RAMOS, 2000).

### **3.2 Aspectos gerais da cultura do caçari**

O caçari também conhecido como camu-camu, araçá d'água, ou sarão, é uma espécie pertencente à família Myrtaceae, nativa das várzeas e lagos da Amazônia (MAEDA et al., 2007). Está entre as principais frutíferas nativas da Amazônia, com potencial econômico que vêm sendo pesquisadas no Estado de Roraima (CHAGAS et al., 2012; ROCHA-ARAÚJO et al. 2016; ABANTO-RODRÍGUEZ et al. 2016). Foi descrito pela primeira vez em 1823 por Humboldt, Bonpland e Kunth, como *Psidium dubium* HBK. Em 1963, Rogers McVaugh reclassificou esta espécie para o gênero *Myrciaria* e, mais tarde, tornou-se conhecido como *Myrciaria dubia* (Kunth) McVaugh (SILVA, 2012).

Segundo Villachica (1996) o caçarizeiro prefere solos aluviais inundáveis, a planta está adaptada a solos ácidos de baixa fertilidade. Também pode apresentar a característica incomum de ser bem resistente e adaptável a terrenos arenosos (VILLELA; SOUSA, 1996; IIAP, 1997)

O caçari está disperso desde a região central do Estado do Pará até a Amazônia peruana, sendo normalmente encontrado, em seu estado natural, à beira dos igarapés e rios ou em regiões permanentemente alagadas podendo permanecer até 4 meses submersas durante o período das cheias (ZANATTA, 2005; IMAN et al., 2011). Entretanto, estudos estão sendo conduzidos para adaptar esta cultura a terra firme, ampliando as áreas de plantio (CHAGAS et al. 2015; Araújo et al. 2015).

De acordo com Bardales (2013) foram identificadas 16 populações naturais de caçarizeiro em 9 municípios do Estado de Roraima nas margens dos principais lagos e rios do Estado de Roraima.

A planta é um arbusto que alcança de 3 a 8 metros de altura, podendo apresentar várias ramificações. Pode assumir diversas formas, como o tipo taça, com um caule principal e muitos

ramos secundários, que é a mais apropriada para produção de frutos, ou de vários caules com muitos ramos secundários. O caule apresenta consistência dura, porém flexível, sendo necessário o tutoramento das plantas quando carregadas de frutos, a fim de evitar a quebra dos ramos por excesso de peso. As folhas são simples e opostas, de forma ovalada, elípticas ou lanceoladas, com comprimento que varia de 4 a 11 cm e largura de 2 a 4 cm.

As flores podem se apresentar individualmente ou em forma de inflorescência, e são encontradas nas axilas das folhas, em toda a extensão dos ramos superiores (YUYAMA et al., 2010). As inflorescências apresentam várias flores de 1,0 a 1,5 mm de comprimento emergindo do mesmo ponto. Possuem estilete de 10 a 11 mm de comprimento; pétalas em número de quatro, de cor branca, com 3 a 4 mm de largura; cálice com sépalas diferenciadas, não persistentes (VILLACHICA, 1996), estames numerosos com anteras funcionais; grãos de pólen com pouca variação no tamanho, com 17,3 a 23,4  $\mu\text{m}$ , faixa de tamanho considerada muito pequena (CHAVE et al., 2001).

Bacelar-Lima (2009), estudando o sistema reprodutivo de três acessos de caçari em terra firme, demonstrou que *M. dubia* tem sistema reprodutivo misto, apresenta endogamia, alogamia facultativa e apomixia, o que promove ainda mais variabilidade pelo cruzamento entre plantas.

Apresenta fruto bacáceo, globoso, com mesocarpo carnoso (gelatinoso) e esbranquiçado, de sabor cítrico, verde-pálido quando imaturo e variando de vermelho-escuro a púrpuro-negro, quando maduros; com comprimento de 1,4 a 2,7 cm, diâmetro de 1,60 a 3,10 cm e peso médio de 8,4 g. O número de sementes varia de 1 a 4 por fruto, com formato reniforme, com fibrilas na superfície, apresentando boas características agronômicas, tecnológicas e nutricionais (MAEDA et al., 2006; YUYAMA, 2011).

Os principais atributos qualitativos do marketing comercial do caçari são os elevados teores de ácido ascórbico, visando principalmente o combate e prevenção de radicais livres, aumentando a resistência imunológica e retardando o envelhecimento precoce ou natural (SANTOS; SANTOS; ROCHA, 2009). Entretanto, um dos fatores que contribuem para a restrição do seu consumo são o sabor muito ácido da polpa e o amargor da casca, levando à necessidade de pesquisas para o melhor aproveitamento do fruto (MAEDA et al. 2006).

Rodriguez (2016) estudando a relação entre os nutrientes minerais e o conteúdo de vitamina C em plantas de caçari cultivadas em solos de inundação de Ucayali no Peru, concluíram que a concentração de ácido ascórbico em plantas de caçari é melhor expressa quando os solos possuem melhores atributos químicos e boas condições de fertilidade natural.

A propagação do caçarizeiro, embora possa ser conduzida com utilização de métodos como estaquia, enxertia ou alporquia, é realizada basicamente por via sexuada através de

sementes (ENCISO NARAZAS; VILLACHICA, 1993; FERREIRA; GENTIL, 1997; HARTMANN et al., 2002).

Em suas condições naturais frutifica entre os meses de novembro e março. Quando cultivado em terra firme, produz flores e frutos durante o ano inteiro, com queda na produção nos meses de julho e agosto (RIBEIRO; MOTA; PADINHA, 2002).

### 3.3 Teste de viabilidade do pólen

Dentre os fatores responsáveis pelo sucesso dos programas de melhoramento destaca-se a seleção de genótipos e os cruzamentos cuja eficácia depende diretamente da viabilidade do pólen (TECHIO et al., 2006). A viabilidade polínica é um dos fatores que têm influência direta sobre o sucesso da fertilização. É recomendável testar a viabilidade do pólen, antes de sua utilização (DANTAS et al., 2005; EINHARDT et al., 2006).

Dentre os métodos para avaliação da viabilidade do pólen estão: 1) germinação “*in vivo*”, 2) avaliação microscópica seguida de coloração dos grãos de pólen germinados, 3) avaliação “*in vitro*” do crescimento do tubo polínico. De acordo com Santos (2005) os métodos acima citados têm sido usados para estudos com fruteiras.

A estimativa da viabilidade dos grãos de pólen frescos ou fixados, e dos criopreservados, pode ser feita através do emprego de diferentes técnicas, sendo que, as mais utilizadas são a coloração do citoplasma dos grãos e a germinação *in vitro*, esta última muito empregada no monitoramento de pólen vivo armazenado (OLIVEIRA et al., 2001).

O sucesso da germinação *in vitro* depende de vários fatores como espécie vegetal, estado nutricional das plantas, época do ano e horário de coleta, fotoperíodo, temperatura, método de coleta, período de incubação e presença de micro e macronutrientes no meio de cultura (SOARES et al., 2008), além de ajustes da composição dos meios de cultura para cada espécie (CHAGAS et al., 2010; SINIMBU NETO et al., 2011).

A composição do meio de cultura favorável à germinação *in vitro* é diferente para cada espécie, mas geralmente contempla um agente solidificante (ágar ou gelatina, dentre outros), açúcar e, em certos casos, nutrientes em concentrações específicas, devendo ser investigada para cada espécie (SOUSA et al., 2010). Sinimbú-Neto et al. (2011) avaliando a viabilidade *in vitro* de grãos de pólen de bacurizeiro (*Platonia insignis* Mart.) verificaram que o melhor meio de cultura para a germinação do pólen é com adição de 7,5 g L<sup>-1</sup> de sacarose ao meio.

Danner et al. (2011) estudando o modo de reprodução e as condições para testes de viabilidade *in vitro* de pólen de três espécies de jabuticabeira, constataram que a adição de ácido bórico no meio de cultura aumenta a germinação *in vitro* de pólen.

A germinação de pólen *in vitro* e *in vivo* permite a análise da capacidade de emissão do tubo polínico e uma correlação dessa taxa com a viabilidade do grão de pólen (FERREIRA et al., 2007). Entretanto, a determinação da viabilidade de grãos de pólen por meio de corantes é uma prática comum em citogenética. Os métodos colorimétricos utilizam corantes químicos específicos que reagem com componentes celulares presentes nos grãos de pólen maduro, como por exemplo, o lugol e o carmim acético (PAGLIARINI; POZZOBON, 2004).

Georgieva e Kruleva (1994), testaram a aplicação de reações baseadas na presença de enzimas funcionais. A reação de tetrazólio é um exemplo dessas reações. O teste baseia-se na alteração da coloração dos tecidos, em presença de solução salina de 2,3,5 - trifênil cloreto de tetrazólio (TTC), o qual é reduzido pelas enzimas desidrogenases dos tecidos vivos, resultando num composto chamado formazan, de coloração vermelha carmim. Tecidos mortos apresentam-se descolorados. A atividade enzimática do grão de pólen é associada à sua capacidade de germinação (DERIN; ETI, 1999). Quando o TTC reage com o hidrogênio produzido pela respiração celular dá ao pólen uma coloração vermelha (HOEKSTRA; BRUINSMA, 1975).

Em estudos com o uso de tetrazólio para teste de viabilidade polínica em maracujá silvestre (*Passiflora miniata* Vanderplank), Santos et al. (2016) verificaram que independente da concentração do corante e métodos utilizados, a taxa percentual de viabilidade média geral (80% de grãos de pólen corados em todos os tratamentos) foi considerada satisfatória para programas de melhoramento.

Corantes, como o carmim acético e a solução de Alexander, são também utilizados como indicativos de viabilidade polínica (MULUGETA et al. 1994; DOMINGUES et al. 1999; RIGAMOTO; TYAGI, 2002). Estudando a morfologia e viabilidade de grãos de pólen de acessos silvestres de abacaxi [*Ananas comosus* (L.) Merrill], Soares et al. (2011) constataram que a maioria dos acessos apresentou viabilidade com carmim acético acima de 76%. Porém para Báez et al. (2002) e Pline et al. (2002), estes testes refletem somente a integridade de estruturas celulares, como núcleo e membrana plasmática.

Alguns corantes são mais utilizados que outros, tais como o sal de Tetrazólio, Solução de Lugol, Solução de Alexander e Carmim Acético (EINHARDT et al., 2006). De acordo com Damasceno Júnior et al. (2008) a solução de Alexander é um corante que distingue bem os grãos viáveis dos inviáveis nas maiorias das angiospermas, o Carmim Acético também é muito

utilizado em análises de rotina de laboratórios, contudo há algumas limitações na reação com algumas espécies (ZANOTTO et al., 2009)

Testes com outros corantes como Lugol e Sudan IV são utilizados em alguns estudos como indicativos de viabilidade polínica (SOUZA et al., 2002; HUANG et al., 2004). Hister et al. (2016) avaliando a estimativa da viabilidade polínica de araçazeiro (*Psidium cattleianum* Sabine) através de distintos métodos de coloração concluíram que a orceína acética 2% superestimou a viabilidade polínica e que o reativo de Alexander é o mais preciso, devido a sua dupla coloração.

Avaliando a viabilidade polínica de sete genótipos de *Theobroma cacao* L., Cabral et al. (2013) realizaram testes de viabilidade utilizando os corantes carmim acético e lugol. Como resultado obtiveram uma média de viabilidade acima de 95% na estimativa com os dois corantes.

Segundo Stanley e Linskens (1974), nenhum teste de viabilidade é completamente satisfatório, principalmente após o pólen ter sido armazenado, pelas seguintes razões: os testes químicos usam corantes que reagem com constituintes químicos ou estruturas cujas presenças podem não refletir a capacidade de o grão de pólen germinar; amostras de grãos de pólen que germinam bem *in vitro*, podem não produzir suficiente elongação do tubo polínico para afetar a fertilização. Por outro lado, amostras de pólen que parecem não-viáveis quando testadas *in vitro*, podem produzir boa porcentagem de sementes *in vivo*; o pólen armazenado pode germinar diferentemente em amostragens repetidas ou em diferentes meios.

Estudos sobre o pólen servem de base para conhecer a biologia reprodutiva, além disso, é importante para o melhoramento, conservação de recursos genéticos vegetais e para a produção de sementes híbridas (BIONDO; BATTISTIN, 2001; NASCIMENTO et al., 2003; SEREJO et al., 2012).

### **3.4 Polinização e conservação de pólen**

A polinização artificial é recurso de extrema importância para o produtor que destina sua produção ao comércio *in natura*, pois em função da eficiência da polinização, obtém-se, segundo Guirado et al. (2001), frutos de maior tamanho e melhor conformação com melhores remunerações para o produto. A polinização artificial, aliada a técnica de indução floral, através da poda de produção é indispensável para uniformizar a produção, obter maior fixação e melhor qualidade dos frutos, além de incrementar a produtividade (MOTA FILHO et al., 2012).

Em estudos sobre o efeito da polinização natural, manual e da autopolinização no número de frutos fixados em ateiras, Campos et al. (2004) concluíram o que o uso da polinização artificial com pincel ou com bomba polinizadora aumentou em até 10 vezes o número de frutos fixados em polinização natural ou em autopolinização.

Santos et al. (2014) estudando a influência da época de poda e tipos de polinização no florescimento e frutificação da ata (polinização com pincel macio, realizada diretamente na flor, e polinização realizada com bomba polinizadora), constataram que os dois métodos de polinização artificial aumentaram a porcentagem de fecundação de frutos (87,6% e 94,9% respectivamente).

Sendo as plantas incapazes de deslocar para se reproduzir, elas utilizam intermediários que transferem os grãos de pólen para os estigmas das flores. Os agentes polinizadores podem ser o vento (caso dos pinheiros, milho, trigo, arroz, etc.), a água (como em algumas plantas aquáticas, chuva), a gravidade (caso de plantas com pólen pesado) e seres vivos (insetos pássaros, etc.) como acontece com 80% de todas as plantas com flores (NABHAN; BUCHMANN, 1997; KEVAN; IMPERATRIZ-FONSECA, 2002; FREITAS; IMPERATRIZ-FONSECA, 2005).

A polinização das anonáceas pode ser realizada por diferentes insetos, porém na maioria delas, incluindo as anonas comerciais, como a ata, cherimóia, e atemóia, a polinização é feita por restrito grupo de insetos, quase que exclusivamente pelos besouros nutdulídeos, numa síndrome de polinização denominada cantarofilia (PAULINO NETO; OLIVEIRA, 2006). As abelhas *Melipona seminigra merrillae* e *Apis millifera* foram consideradas polinizadores efetivos do caçarizeiro. Representantes da ordem cleoptera: *chrisomelidae* e da ordem díptera: *syrrhidae* desempenham um papel secundário na polinização (BACELAR-LIMA, 2009).

Sem os agentes polinizadores, a grande maioria das espécies de plantas não reproduziria sexualmente e, conseqüentemente, não seria possível produzir sementes, grãos, amêndoas, castanhas, frutas, vagens, folhagens, raízes, óleos vegetais, essências, corantes naturais, etc. utilizadas em larga escala pela sociedade humana (FREITAS; IMPERATRIZ-FONSECA, 2005).

Estudos feitos por Paulino-Neto (2013) analisando a polinização e biologia reprodutiva de araticum-liso (*Annona coriacea* Mart.) concluiu que os principais e efetivos polinizadores foram besouros *Cyclocephala atricapilla* e *C. quatuordecimpunctata* (Scarabaeidae: Dynastinae) e que a polinização por *Cyclocephala* é mais eficaz que autopolinização e polinização cruzada manual.

Existem três maneiras de se realizar a polinização: a primeira forma é na própria flor, chamada de autogamia ou autopolinização; a segunda que recebe a denominação geitonogamia, ocorre entre flores diferentes da mesma planta; a terceira e última maneira é a polinização cruzada ou xenogamia, que acontece entre flores diferentes de plantas diferentes (FAEGRI; VAN DER PIJL, 1979; DE JONG et al., 1993; FREITAS, 1995; SANTOS et al., 2008).

De acordo com Araújo (2003), vários são os fatores que podem estar influenciando o baixo pegamento nos casos de polinização natural em ata, dentre eles destacam-se: a maturação sexual em momentos distintos (dicogamia protogínica), assincronia de antese, anatomia das flores com pétalas longas e base muito estreita, a lenta abertura das pétalas e a baixa incidência de insetos polinizadores.

Avaliando a polinização e proteção de frutos de gravioleira no Estado da Bahia, Vilasboas (2012) constatou que a polinização artificial aumenta em quatro vezes o pegamento de frutos nos cultivos de graviola e o ensacamento com papel ou tela demonstram ser os mais adequados para a proteção de frutos de graviola.

Segundo Tighe (2004), a conservação de pólen possibilita sincronia artificial entre a dispersão de pólen com a receptividade floral, além de complementar a ação de agentes polinizadores pouco eficientes ou mesmo inexistentes. Nesse sentido, investigações quanto à conservação de pólen tornam-se imprescindíveis dentro de um programa de melhoramento visando à oferta de materiais mais produtivos e adaptados às diferentes regiões brasileiras. Para anonáceas, além do fato de a polinização natural ser ineficiente, o que justificaria por si só pesquisas de conservação de pólen, ainda há outro problema que afeta a hibridação e a obtenção de novos híbridos, que é a curta viabilidade do pólen depois de retirado da planta (BONAVENTURE, 1999; PINTO-MAGLIO, 2003).

A conservação de pólen é importante para pesquisas básicas, assim como para o intercâmbio e preservação de germoplasma (EINHARDT, 2006; FERES, 2009). O pólen conservado, no entanto, deve preservar sua viabilidade e por isso a necessidade de monitorar essa capacidade antes, durante e depois da conservação. Dessa forma, pode-se estabelecer o período máximo em que os grãos de pólen podem permanecer conservados sem perder a capacidade de germinar e fertilizar, tornando-se dessa forma uma importante ferramenta para o melhoramento e para o intercâmbio do conhecimento (DAMASCENO JUNIOR et al., 2008).

O sucesso da conservação do pólen, além do período, depende principalmente de fatores como o estágio fisiológico da flor, a temperatura e umidade relativa do ambiente de armazenamento, e do grau de umidade do grão de pólen (AKIHAMA et al., 1979; GIORDANO et al., 2003).

Resultados alcançados por Pio et al. (2007) com o pólen de laranjas doces revelaram que os grãos de pólen armazenados em *freezer* (-10°C) apresentaram maior porcentagem de germinação que em refrigerador (4°C). O emprego de baixas temperaturas, normalmente, encontra-se ligado à redução do metabolismo do pólen, o que propicia maior longevidade.

Em estudos sobre o modo de reprodução e as condições para testes de viabilidade *in vitro* de pólen de três espécies de jaboticabeira, Danner et al. (2011) verificaram que a viabilidade do pólen é máxima após 6 horas da antese. Os autores verificaram ainda que é possível a conservação do pólen por até 90 dias em congelador (-18°C), desde que apresente alta germinação inicial (maior que 80%).

Dessa forma, estudos sobre técnicas e condições de armazenamento de pólen que levem ao estabelecimento de uma metodologia de conservação poderiam facilitar e otimizar o trabalho de polinização artificial e melhoramento da produção de frutos. Outro benefício com desenvolvimento de protocolos adequados de conservação, seria a obtenção de seleções potencialmente promissoras. Essas técnicas são ferramentas fundamentais em programas de melhoramento genético.

## 4 MATERIAL E MÉTODOS

### 4.1 Determinação da antese, viabilidade e germinação de grãos de pólen de ateira (*Annona squamosa* L.) submetidos à diferentes condições de armazenamento.

Inicialmente foi realizado o estudo da abertura floral de ateira visando determinar os estágios feminino, masculino e senescência.

Essa etapa foi realizada em um pomar comercial de ata, implantado no Sítio Paricarana, município do Cantá-RR (Latitude: 2° 36' 30" Norte, Longitude: 60° 35' 46" Oeste). O clima da região experimental é do tipo Aw, tropical chuvoso, de acordo com a classificação de Köppen (ALVARES et al., 2013). Com temperatura média de 27,4 °C e 90 m de altitude, com precipitação mínima anual de 944,7 mm, perfazendo-se um total anual de 1678,6 mm e umidade relativa do ar 70% (ARAÚJO et al., 2001).

O pomar foi implantado no ano de 2009, num espaçamento de 4 x 5 m. As plantas foram conduzidas na forma de taça ou vaso aberto, foram podadas manualmente utilizando-se tesouras de poda, em fevereiro de 2015 logo após a colheita do ciclo anterior. Simultaneamente, realizou-se a desfolha manual do ápice para a base dos ramos.

As plantas invasoras foram controladas nas entrelinhas com uso de grade ligada a tomada de força do trator, duas vezes durante o ciclo, na linha de plantio, na projeção da copa, o controle foi realizado utilizando roçadeiras, quatro vezes durante o ciclo.

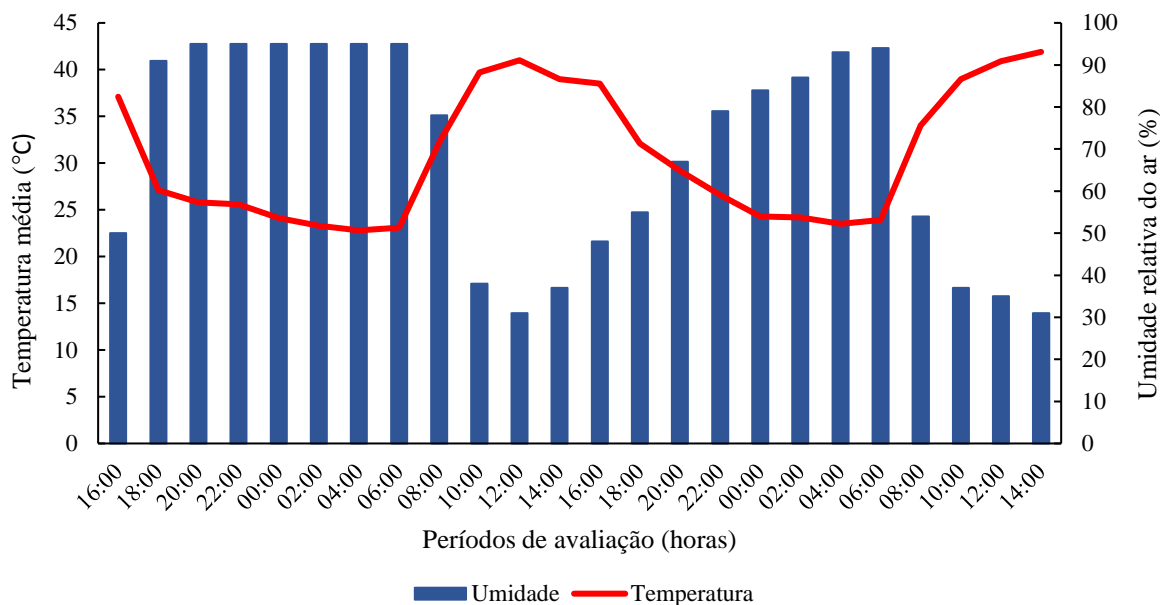
O tratamento fitossanitário consistiu em pulverizações de calda bordalesa para prevenção de possíveis ataques de antracnose no pomar. A calda foi constituída de sulfato de cobre (100 g) e cal agrícola (100 g) para 20 litros de água. As aplicações foram realizadas a cada 15 dias, a partir da poda de produção até o início da abertura da primeira flor do pomar, utilizando um pulverizador costal automatizado com capacidade para 13 litros.

As adubações foram realizadas de acordo com a recomendação de análise do solo e a exigência da cultura seguindo a recomendação base da literatura científica consultada, após a poda de produção. Aplicou-se 990 g de sulfato de amônia por planta como fonte de nitrogênio, 120 g de cloreto de potássio por planta como fonte de potássio, 250 g de superfosfato simples por planta como fonte de fósforo, 40 g de bórax por planta como fonte de boro, 20 g de sulfato de zinco por planta como fonte de zinco. Sendo que o potássio e nitrogênio foram aplicados de forma parcelada em três vezes, a cada 2 meses.

O sistema de irrigação foi desativado durante o estudo da abertura floral.

Durante o período de avaliação das flores de ateira foram coletadas a temperatura (°C) média e umidade relativa do ar (%), conforme apresentado na Figura 01.

**Figura 01** - Temperatura média (°C) e umidade relativa do ar (%) referente aos períodos de avaliação do experimento. Cantá-RR, 2015.



Para esta etapa do estudo foram marcados 100 botões florais, completamente fechados, escolhidos aleatoriamente em condições homogêneas, duas horas antes do início das observações com etiquetas fluorescentes de identificação para facilitar as observações durante a noite. As observações e coleta de dados tiveram início no período em que as flores ainda estavam fechadas às 16 horas. A partir de então, as leituras foram feitas de duas em duas horas, durante 46 horas, quando todas as flores atingiram a fase de senescência.

Os dados coletados nesse período consistiram em anotações das modificações morfológicas de cada flor durante o período de observação. Assim foi possível determinar com precisão o período em que as flores alcançaram o estágio feminino, estágio masculino e senescência.

Posteriormente foram realizados os testes de viabilidade e germinação *in vitro* de grãos de pólen no Laboratório de Cultura de Tecidos e Laboratório de Fitopatologia da Embrapa Roraima.

Para o estudo da viabilidade e germinação dos grãos de pólen, foram coletadas, às 18 horas, 100 flores de ateiros escolhidas aleatoriamente, que se encontravam em condições homogêneas no início do estágio feminino (pétalas levemente afastadas). As flores foram levadas do campo para o laboratório de Cultura de Tecidos, acondicionadas em bandejas

plásticas, em camada única, à temperatura ambiente (em torno de  $27\pm 2$  °C). A partir das 5:30h da manhã do dia seguinte, período em que as flores se encontravam no estágio masculino, foram separados os grãos de pólen e divididos em partes iguais e acondicionado em recipientes plásticos que, depois de fechados, foram identificados como ‘pólen refrigerado’ e ‘pólen ambiente’. O frasco identificado com ‘pólen ambiente’ foi armazenado sob condição ambiente, em torno de  $27\pm 2$  °C, enquanto que o ‘pólen refrigerado’ foi mantido refrigerado em geladeira, a uma temperatura de  $5\pm 2$  °C. Imediatamente após a separação e identificação dos tratamentos de conservação, foram realizados os testes de viabilidade e germinação, sendo que a primeira avaliação foi realizada (0 horas de acondicionamento), às 8h da manhã, logo após a coleta do pólen. As demais avaliações foram realizadas de 4 em 4 horas, após o acondicionamento dos grãos de pólen, às 4, 8, 12, 16, 20 e 24 horas, tanto para o pólen submetido à temperatura ambiente quanto para o pólen armazenado sob refrigeração em geladeira.

Para a avaliação da viabilidade dos grãos de pólen, foi adaptada a técnica descrita por Linsley e Cazier (1963), que constituiu na coloração dos grãos de pólen dispostos sobre lâmina de vidro, com azul-de-algodão a 1%.

No teste de germinação *in vitro*, foi utilizado o meio de cultura composto de 0,076 mg L<sup>-1</sup> de Ca (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>; 0,015 mg L<sup>-1</sup> de MgSO<sub>4</sub>; 0,017 mg L<sup>-1</sup> de KNO<sub>3</sub>; 0,029 mg L<sup>-1</sup> de H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>; 5g de Agar (adaptado de Brewbaker e Kwack, 1963). O meio foi distribuído em placas de Petri. Ao meio de cultura foi adicionada sacarose a 10%, de acordo com a metodologia utilizada por Loguercio (2002). Após a inoculação do pólen, a placa de Petri foi deixada sob condições de temperatura ambiente (27 °C), conforme recomendações de Lorenzon e Almeida (1997).

A placa inoculada foi lavada superficialmente com 15 gotas de água pura para o desprendimento dos grãos de pólen. Logo após, em uma lâmina cavada foram misturadas uma gota da solução contendo pólen e uma gota de azul de algodão em lactofenol. Em seguida foi pipetada 1 gota dessa solução na câmara de Neubauer que foi visualizada no microscópio. Foram montadas 4 lâminas de observação por cada placa inoculada, facilitando a visualização para a contagem de pólen germinado.

O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em um esquema fatorial 2x7, sendo 2 condições de armazenamento (ambiente à  $27\pm 2$  °C e refrigerado à  $5\pm 2$  °C) e 7 horários distintos de acondicionamento dos grãos de pólen (0, 4, 8, 12, 16, 20 e 24). O experimento foi constituído de 4 repetições, sendo que cada repetição foi constituída por uma lâmina formada a partir de cada Placa de Petri. Os grãos de pólen de cada lâmina avaliada foram observados ao microscópio óptico, utilizando-se as objetivas de 10x e 40x.

O método utilizado para testar a viabilidade do pólen foi uma adaptação da técnica do tetrazólio (DAFNI, 1992). A cada 4 horas foram coletadas amostras de pólen dos frascos com pólen em conservação para preparação de lâminas com 2, 3, 5 cloreto de trifetil tetrazólio (TTC) na concentração de 1%, os grãos de pólen foram distribuídos em 3 lâminas por tratamento e adicionados uma gota do corante em cada lâmina. As lâminas permaneceram por quatro horas para verificação da coloração. Lâminas que apresentaram 80% de grãos de pólen corados de vermelho foram considerados como grãos de pólen viáveis.

Para os testes de viabilidade a primeira avaliação foi realizada (0 horas de acondicionamento), às 8h da manhã, logo após a coleta do pólen. O delineamento experimental foi o inteiramente casualizado, em um esquema fatorial 2x7, sendo 2 condições de armazenamento (ambiente à 27±2 °C e refrigerado à 5±2 °C) e 7 horários distintos de acondicionamento dos grãos de pólen (0, 4, 8, 12, 16, 20 e 24). O experimento foi constituído de 3 repetições, sendo que cada repetição foi composta por uma lâmina inoculada. Os grãos de pólen de cada lâmina foram observados ao microscópio óptico, utilizando-se as objetivas de 10x e 40x.

As variáveis avaliadas foram submetidas à análise de variância, sendo os efeitos dos tratamentos quantitativos submetidos à regressão polinomial. As análises foram realizadas pelo programa computacional SISVAR (FERREIRA, 2011).

#### **4.2 Polinização artificial e qualidade da frutificação de ata (*Annona squamosa* L.) nas condições de Roraima**

Este experimento também foi realizado no pomar comercial de ata, implantado no Sítio Paricarana, município do Cantá-RR. As condições de clima e manejo da área foram os mesmos descritos anteriormente.

Para este estudo foram selecionadas aleatoriamente 20 ateiras em condições homogêneas. Posteriormente, as flores no estágio feminino foram selecionadas e devidamente identificadas de acordo com cada tratamento, com o uso de barbantes coloridos e etiquetas. A polinização artificial foi realizada em no máximo três flores por ramo. Os tratamentos foram compostos dos seguintes horários de polinização artificial: 6:00, 7:00, 8:00, 9:00, 10:00, 16:00, 17:00 e 18:00 horas.

Para os tratamentos do turno matutino foram identificadas também flores no estágio masculino para a coleta do pólen. Estas foram retiradas das plantas e colocadas em uma bandeja

plástica forrada com papel. Em seguida, com auxílio de pincel número 2, o pólen foi retirado cuidadosamente, e depositado em uma placa de Petri. Posteriormente, o pólen foi depositado sobre o estigma da flor no estágio feminino, de acordo com cada tratamento. Já para os tratamentos do turno vespertino (16:00, 17:00 e 18:00 horas), foram coletadas flores no estágio feminino pela manhã e armazenadas em placas de Petri sob temperatura ambiente ( $27\pm 2$  °C) para posterior liberação do pólen, quando estas atingiram o estágio masculino.

Após a realização da polinização artificial, as flores foram protegidas com auxílio de sacos de papéis, para evitar a contaminação com pólen externo e assim comprovar de forma efetiva o efeito da polinização artificial e também evitar o ataque de insetos e/ou pragas.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com oito tratamentos e quatro repetições, utilizando-se 40 flores por parcela.

Dois semanas após a polinização os sacos utilizados para a proteção das flores foram retirados e avaliados os percentuais de fixação dos frutos. Aproximadamente, quatro meses após a polinização artificial, quando os frutos apresentaram afastamento dos carpelos da casca e a coloração verde amarelada dos tecidos entre os carpelos, foram colhidos. A colheita foi realizada manualmente com o auxílio de uma tesoura de poda. Os frutos foram identificados e acondicionados em bandejas de plástico e transportados para o Laboratório de Pós-colheita e Cultura de Tecidos da Embrapa Roraima.

Os frutos foram armazenados no laboratório por aproximadamente três dias em temperatura ambiente ( $27\pm 2$  °C) e, quando atingiram a maturidade horticultural (ponto de consumo), foram avaliados: a) Comprimento e diâmetro dos frutos (cm) – avaliados com auxílio de paquímetro digital; b) Firmeza da polpa – avaliada com penetrômetro manual Effegi equipado com ponteira de 8 mm, através da leitura em dois pontos opostos, na região equatorial, após a retirada prévia da casca, e os resultados expressos em N; c) Massa fresca dos frutos (g) – utilizando balança semianalítica; d) Massa fresca da casca e sementes (g) – realizou-se a determinação da massa fresca do fruto utilizando-se balança de precisão semianalítica, precisão de 0,01 g. Posteriormente, os frutos foram despulpados manualmente para a avaliação da massa da casca com pedúnculo, da polpa e da semente. e) Sólidos Solúveis (SS): foi obtido pela metodologia descrita pelo Instituto Adolfo Lutz (IAL), determinando a leitura em (°Brix) em refratômetro digital da marca Atagos com escala variando de 0 - 45°Brix, a determinação foi realizada em temperatura ambiente ( $27\pm 2$  C°) (IAL, 2008); f) Acidez Titulável (AT): determinada por titulometria com solução de hidróxido de sódio (0,01N), utilizando-se como indicadora fenolftaleína 1%. Utilizou-se 5 g de amostra de polpa, diluídos em 100 ml de água destilada, sendo os resultados expressos em gramas de ácido cítrico (IAL, 2008).

As variáveis avaliadas foram submetidas à análise de variância, sendo os efeitos dos tratamentos comparados pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade. As análises foram realizadas pelo programa computacional SISVAR (FERREIRA, 2011).

#### 4.3 Viabilidade e germinação de grãos de pólen de caçarizeiro *in vitro*

Os grãos de pólen foram coletados de flores de caçarizeiro, com idade aproximada de 47 meses, do Campo Experimental Serra da Prata-CESP da Embrapa Roraima, localizada no Município de Mucajaí-RR (Latitude 2° 23'49" Norte; Longitude: 60° 58'40" Oeste). O clima da região é Ami, conforme o sistema de classificação de Köppen (OLIVEIRA, 2006). As chuvas nessa região de transição de florestas vão de abril a agosto, com precipitação total anual de 1.844 mm.ano<sup>-1</sup> (MOURÃO JUNIOR et al., 2003).

Foram coletados ramos de caçarizeiro durante o período de floração, no mês de janeiro de 2017. Os ramos foram trazidos para o Laboratório de Cultura de Tecidos da Embrapa Roraima em um Becker (2000 ml) com água, e mantidos em observação a temperatura ambiente (27±2 °C) até que os botões iniciaram sua abertura. Em seguida foram acondicionados em sacos de papel na região em que se encontravam os botões florais (Figura 02).

**Figura 02** – (A) Ramos de caçarizeiro (*Myrciaria dubia*) colhidos e deixados em água até a abertura dos botões; (B) Botões florais isolados com saco de papel e (C) Flor totalmente aberta (início do desprendimento do pólen). Boa Vista-RR, 2017.



Fonte: ARAÚJO (2015)

Assim que os botões abriam, o pólen foi coletado, constituindo “mixes” de amostras de pólen. Posteriormente, ¼ desse mix de pólen foi identificado como ‘pólen refrigerado’ e ¼

‘pólen ambiente’ para o teste de viabilidade. A placa de petri identificada com ‘pólen ambiente’ foi armazenado sob condição ambiente, em torno de  $27\pm 2$  °C, enquanto que o ‘pólen refrigerado’ foi mantido refrigerado em geladeira, a uma temperatura de  $5\pm 2$  °C. A outra metade do *mix* de pólen foi mantida a temperatura ambiente, em torno de  $27\pm 2$  °C para o teste de germinação em diferentes meios de cultura.

O teste de viabilidade do pólen foi feito com a utilização de solução de 2,3,5 cloreto de trifetil tetrazólio (TTC) na concentração de 1% (DAFNI, 1992). Foram feitas três lâminas para cada condição de acondicionamento e período de armazenamento. Os grãos de pólen imersos na solução de TTC, foram cobertos com lamínula e imediatamente protegidas da luz com papel alumínio e deixadas em repouso por 4 horas, até o período de avaliação. Após esse período, foi realizada a leitura das lâminas em microscópio óptico com objetivas de 10 x e 40 x para verificar a viabilidade dos grãos de pólen. Foram considerados viáveis os grãos de pólen que apresentaram 80% de grãos corados em vermelho no campo observado de acordo com cada horário avaliado. Após a contagem, as lâminas foram fotografadas com câmera digital de 8 megapixel.

O delineamento experimental foi inteiramente casualizado. Utilizou-se esquema fatorial 7 x 2, sendo sete períodos distintos de acondicionamento dos grãos de pólen (0, 4, 8, 12, 16, 20 e 24 horas) e duas condições de armazenamento (ambiente à  $27\pm 2$  °C e refrigerado à  $5\pm 2$  °C). O experimento foi constituído de 3 repetições, sendo que cada repetição foi composta por uma lâmina inoculada.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias submetidas à regressão polinomial, ao nível de 5% de probabilidade. As análises foram realizadas pelo programa computacional SISVAR (FERREIRA, 2011).

Para o estabelecimento do protocolo de germinação de grãos de pólen de caçarizeiro *in vitro* foi utilizado apenas pólen armazenado em condição ambiente ( $27\pm 2$ °C). O delineamento empregado foi o inteiramente casualizado. Utilizou-se esquema fatorial 7 x 2, sendo sete períodos distintos de armazenamento dos grãos de pólen (0, 4, 8, 12, 16, 20 e 24 horas) e dois meios de cultura (com boro e sem boro) para germinação *in vitro* do pólen. O experimento foi constituído de 4 repetições, sendo que cada repetição foi constituída por uma lâmina formada a partir de uma porção de meio de cultura. A composição dos meios de cultura utilizados foram: (1) 10% de sacarose + 1% de ágar e (2) 10% de sacarose + 1% de ágar + 200 mg L<sup>-1</sup> de ácido bórico (H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>).

Foram vertidos, 30 ml de meio de cultura em cada placa de Petri. Após solidificado, o meio de cultura foi cortado em retângulos de 2 x 1,5 cm, com bisturi esterilizado e colocado

sobre laminas. Em seguida, o pólen foi distribuído sobre a superfície do meio com auxílio de um pincel (n° 2), de modo a promover distribuição homogênea dos grãos de pólen. Após a inoculação do pólen, a placa de Petri foi deixada sob condições de temperatura ambiente ( $27\pm 2$  °C), conforme recomendações de Lorenzon e Almeida (1997).

Os grãos de pólen foram observados ao microscópio óptico, utilizando-se as objetivas de 10x e 40x. Foram considerados germinados os grãos de pólen cujo comprimento do tubo polínico tiveram o dobro do seu próprio diâmetro. Após a contagem, as lâminas foram fotografadas com câmera digital de 8 megapixel.

Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias submetidas à regressão polinomial, ao nível de 5% de probabilidade. As análises foram realizadas pelo programa computacional SISVAR (FERREIRA, 2011).

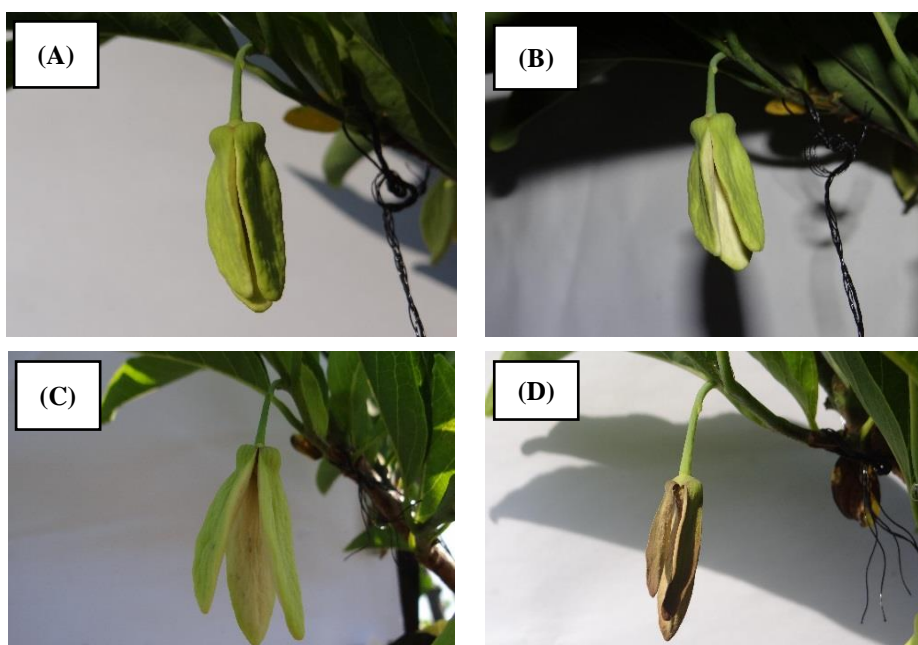
## 5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 5. 1 Determinação da antese, viabilidade e germinação de grãos de pólen de ateira (*Annona squamosa* L.) submetidos à diferentes condições de armazenamento.

A marcação dos botões florais foi realizada às 16:00 horas do primeiro dia de avaliação. A observação visual das flores foi feita a cada 2 horas, perfazendo no total 46 horas de avaliação. Durante o estudo foi verificado uma heterogeneidade no comportamento das flores de ateira, havendo flores em estágio feminino e flores em estágio masculino no período da manhã. Esta informação permite recomendar que a prática da polinização artificial seja realizada no turno matutino, entre 6:00 e 10:00 h.

As fases da flor de ateira (botão floral fechado, antese (estágio feminino), estágio masculino, flor em senescência) observadas durante as avaliações podem ser visualizadas na Figura 03.

**Figura 03** – Ilustração da sequência de desenvolvimento da flor de ateira (*Annona squamosa* L ) desde o botão floral fechado até a senescência nas condições de Roraima. Botão floral fechado (A), Antese (estágio feminino) (B), Flor totalmente aberta (Estágio masculino) (C) e Flor em senescência (D). Cantá – RR, 2015.

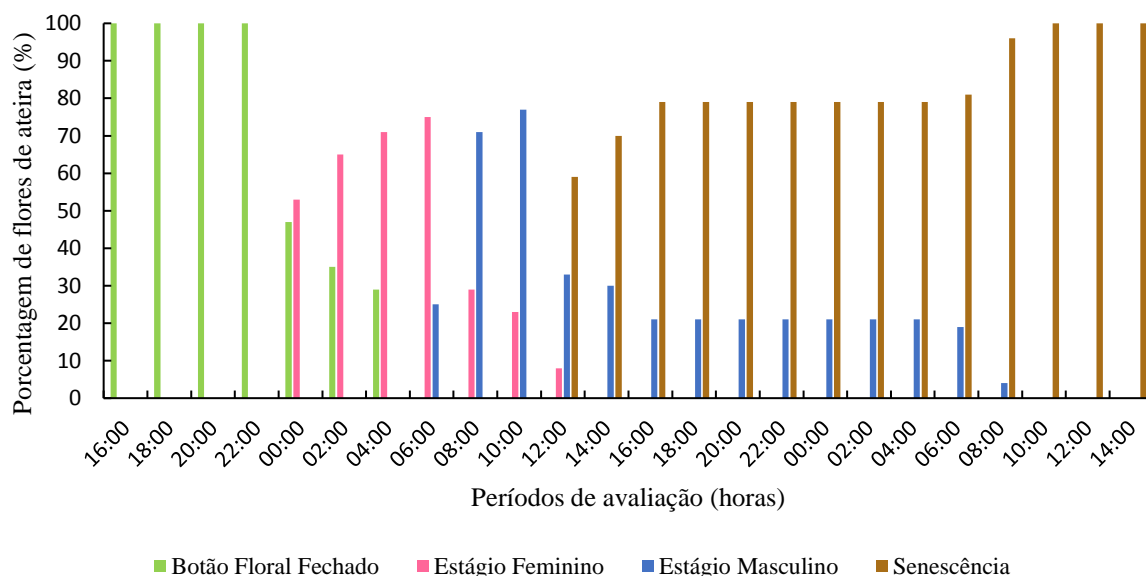


Fonte: ARAÚJO (2015)

De acordo com as observações feitas em campo a antese teve início à 00:00 h (2º dia de avaliação), em 53% das flores marcadas, se estendendo até as 12:00 h do mesmo dia, quando

100% das flores atingiram a antese (Figura 04). Esse resultado é semelhante ao obtido para flores de araticum (*Annona crassiflora* Mart.), onde a antese é gradual e inicia nas primeiras horas do dia e pode se estender até o início da madrugada do dia seguinte (ALMEIDA JÚNIOR, 2015).

**Figura 04** - Porcentagem de flores de ateira (*Annona squamosa* L.) nos estágios: Botão floral fechado, estágio feminino, estágio masculino e senescência em função dos horários de observação (h). Boa Vista-RR, 2015.



A passagem do estágio feminino para o estágio masculino ocorreu entre 6:00 e 12:00 horas da manhã do dia seguinte (2º dia de avaliação). Nesse intervalo 100% das flores atingiram o estágio masculino, sendo que em parte das flores esse estágio se estendeu até as 8:00 horas da manhã do dia subsequente (3º dia de avaliação), conforme Figura 04.

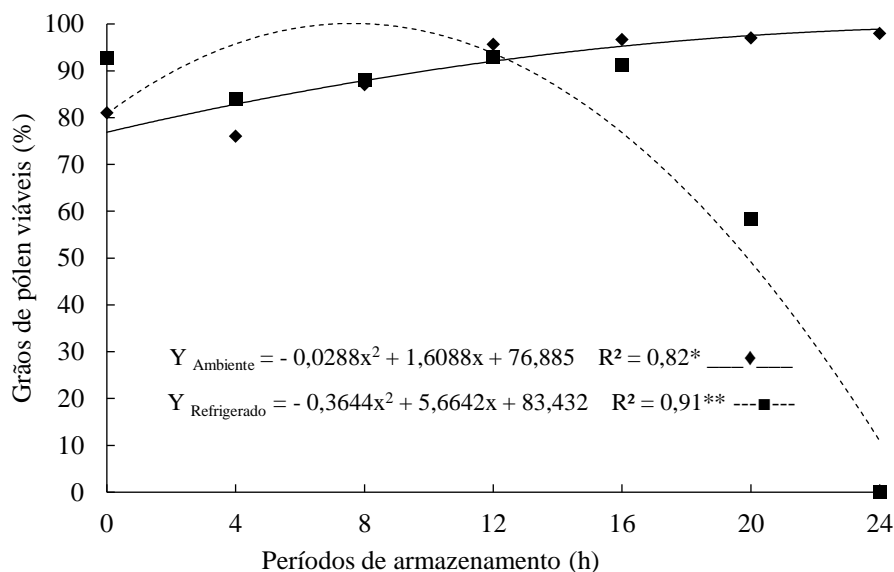
Esta fase transitória de flor feminina para masculina é caracterizada pela abertura completa das flores e deiscência das anteras (RIBEIRO, 2006). Semelhantemente, Cavalcante et al. (2000) estudando as flores de gravioleira verificaram que as mesmas abrem gradativamente durante o dia e apresentam duração de quatro dias, sendo funcionalmente feminina nos três primeiros dias e masculina no quarto dia. Carvalho e Webber (2000) também estudando a biologia de flores de anonáceas relataram que o estágio masculino nas espécies protogínicas ocorre entre 3 e 6 horas da manhã com o início da liberação do pólen.

Observou-se que o número de flores em estágio feminino foi maior no período entre 0 h e 6 h da madrugada, apresentando um decréscimo após esse horário. A porcentagem máxima de flores no estágio masculino foi observada no período entre 6:00 e 10:00 horas da manhã.

Os dados obtidos neste trabalho são de extrema importância para auxiliar os produtores de ata do Estado de Roraima, indicando o horário mais adequado para realizarem a prática da polinização artificial.

Para avaliação da viabilidade dos grãos de pólen da ateira a análise de regressão para porcentagem de grãos de pólen viáveis demonstrou efeito quadrático decrescente para o pólen armazenado em temperatura refrigerada ( $5\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) a partir das 12 horas (Figura 05). Entretanto, o pólen armazenado em condição ambiente ( $27\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ) se manteve viável até 24 horas após o armazenamento. Estes resultados indicam que não se faz necessário o armazenamento em condições refrigeradas para manter a viabilidade do pólen de ateira.

**Figura 05** - Porcentagem de grãos de pólen viáveis de ateira (*Annona squamosa* L.) armazenados em diferentes condições (pólen ambiente:  $27\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  e pólen refrigerado:  $5\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$  e períodos de armazenamento (h). Boa Vista-RR, 2015.



O desdobramento da equação de segundo grau indica que os grãos de pólen podem apresentar uma porcentagem de viabilidade de 99,35% num período de aproximadamente 28 horas de armazenamento em condição ambiente ( $27\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ). Apesar da alta porcentagem de viabilidade inicial de grãos de pólen armazenados em ambiente refrigerado ( $5\pm 2\text{ }^{\circ}\text{C}$ ), chegando a 100% de viabilidade após 8 horas de armazenamento, este não foi considerado um ambiente adequado para o acondicionamento de grãos de pólen de ateira, indicando que o pólen quando refrigerado, deve ser utilizado até 8 horas após o armazenamento, perdendo sua viabilidade após esse período.

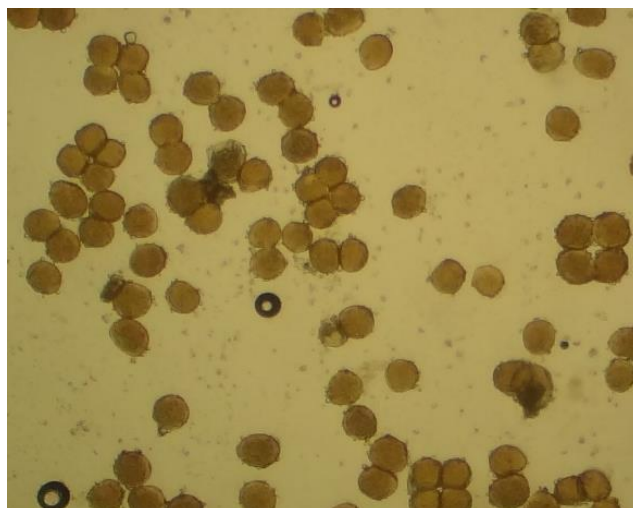
Avaliando a viabilidade polínica de diferentes cultivares de mamona (*Ricinus communis* L., Euphorbiaceae) fixados a 25 °C, através do método de coloração por carmim acético, Vargas et al. (2009), concluíram que a porcentagem de grãos de pólen viáveis foi superior a 86%. Em estudo sobre a viabilidade do pólen de araticum (*Annona crassiflora*, Mart.), pelo teste do carmim acético em condição ambiente, Cavalcante et al., (2009) observaram uma porcentagem de 93,83%, considerada alta. Esses resultados se assemelham com o encontrado no presente estudo, com viabilidade acima de 95% para pólen armazenado em condição ambiente (27±2 °C), utilizando a solução de 2, 3, 5 cloreto de trifênil tetrazólio TTC (Figura 05).

Avaliando a conservação de grãos de pólen de mamoneira (*Ricinus communis* L.) Cuchiara et al. (2012) demonstraram que o armazenamento do pólen a 4 °C não foi eficiente, ocasionando redução drástica na viabilidade polínica quando comparado ao pólen fresco.

De acordo com Nascimento et al. (2012), grãos de pólen com baixa viabilidade resultam, geralmente, em uma baixa fixação de frutos. Por isso, a determinação da viabilidade dos grãos de pólen é importante, pois contribui para a prática da polinização artificial, aumentando a produtividade e qualidade da produção.

A viabilidade polínica pode ser determinada por meio de um grande número de técnicas, sendo a mais utilizada a germinação *in vitro* (SOARES et al., 2008). As estimativas de viabilidade polínica são um dos instrumentos de grande significância na avaliação qualitativa dos materiais a serem utilizados nos cruzamentos (CUSTÓDIO, 2009). A Figura 06 mostra os grãos de pólen de ateira viáveis quando submetidos ao teste de coloração utilizando 2, 3, 5 cloreto de trifênil tetrazólio (TTC).

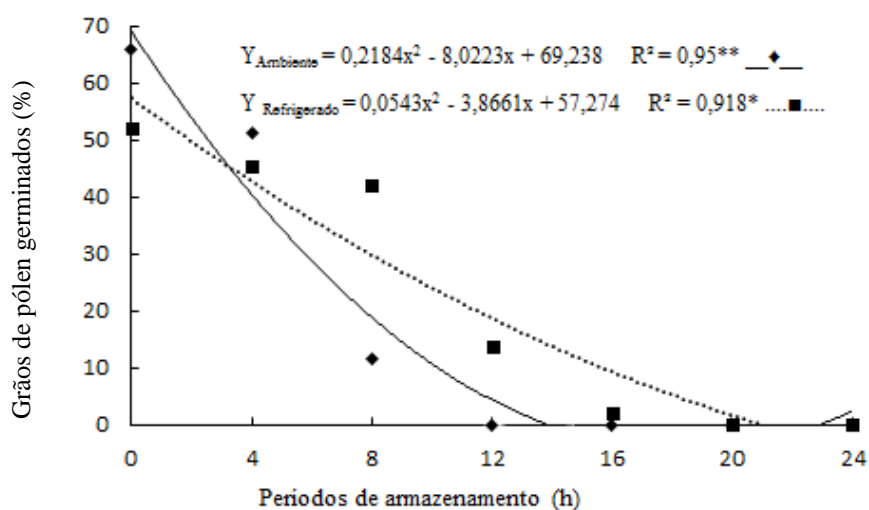
**Figura 06** - Teste de viabilidade de grãos de pólen de *Annona squamosa* L. com 2, 3, 5 cloreto de trifênil tetrazólio (TTC). Grãos de pólen não viáveis. Boa Vista-RR, 2015.



Fonte: ARAÚJO (2015)

Foram observadas diferenças significativas para porcentagem de germinação. Os grãos de pólen de ateira armazenados em condições ambiente ( $27\pm 2$  °C) e refrigerado ( $5\pm 2$  °C) apresentaram taxa de germinação acima de 45%, nas primeiras 4h de armazenamento, ocorrendo queda significativa nos horários posteriores. Os dados da germinação dos tubos polínicos (Figura 07) apresentam uma queda significativa quando comparados aos dados de viabilidade (Figura 06).

**Figura 07** - Porcentagem de grãos de pólen germinados de ateira (*Annona squamosa* L.) armazenados em diferentes condições (pólen ambiente:  $27\pm 2$  °C e pólen refrigerado:  $5\pm 2$  °C e períodos de armazenamento (h). Boa Vista-RR, 2015



Em concordância com este estudo, Nietzsche et al. (2009) nas condições de Janaúba-MG, relataram que a utilização do pólen de ateira logo após a coleta apresenta resultados satisfatórios, acima de 46%, com a utilização do meio de cultura descrito por Brewbaker e Kwack (1963). Confirmando que a utilização do pólen recém-coletado apresenta melhores características de viabilidade, culminando em altas taxas de fixação do fruto através da polinização artificial.

Mendes et al. (2012) também obteve resultados semelhantes para a germinação de pólen de ateira *in vitro*. Avaliando a germinação de grãos de pólen de ateira ‘Brazilian seedless’ utilizando meio de cultura padrão (BREWBAKER; KWACK, 1963), os autores observaram que a porcentagem de germinação *in vitro* alcançou 52,5%, à temperatura controlada de  $25 \pm 1$  °C armazenado por 6 horas. Corroborando com os resultados obtidos neste estudo, onde foi utilizado o meio de cultura composto de  $0,076 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2$ ;  $0,015 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{MgSO}_4$ ;  $0,017 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{KNO}_3$ ;  $0,029 \text{ mg L}^{-1}$  de  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ; 5g de ágar, obtendo uma porcentagem acima

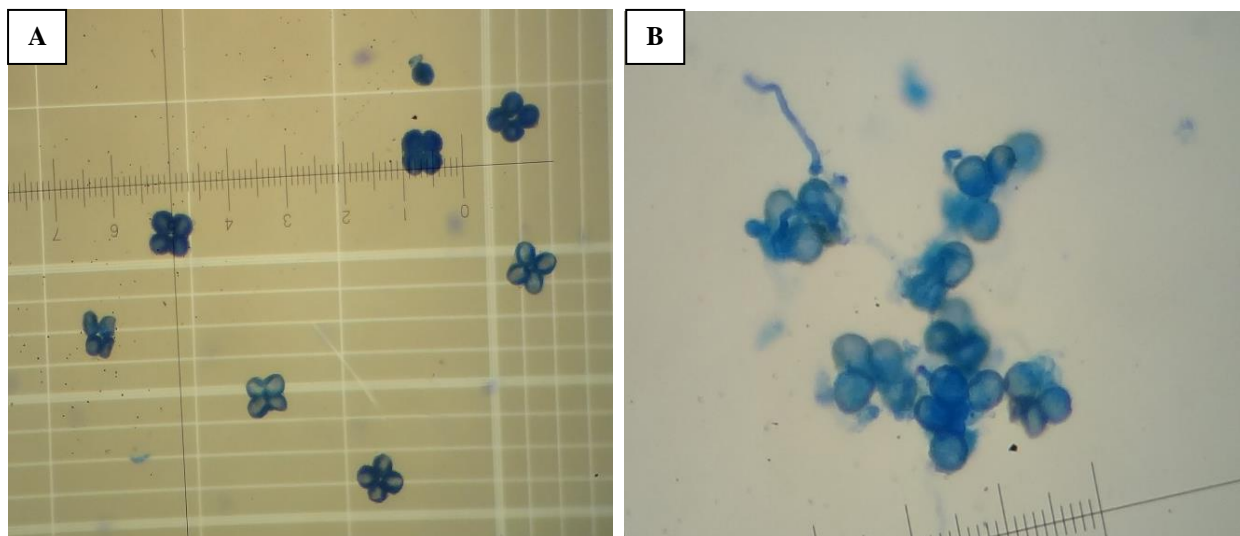
de 45% para as 4 primeiras horas, tanto para grãos de pólen armazenados em condição ambiente como refrigerada (Figura 07).

O sucesso da germinação *in vitro* de grãos de pólen depende de vários fatores tanto endógenos, quanto exógenos tais como: o estado nutricional das plantas, horário e método de coleta dos grãos de pólen, fotoperíodo, temperatura, período de incubação e composição do meio de cultura (SOARES et al., 2008; RAMOS et al., 2008; CHAGAS et al., 2010; SOUZA et al., 2014). Sendo importante também ressaltar que o fator meio de cultura é específico para cada espécie (DAFINI, 1992), por isso este é um componente que deve estudado a rigor para que a germinação *in vitro* aconteça com sucesso,

O armazenamento de grãos de pólen em ambiente refrigerado pode promover ou não boas condições para germinação. Bettiol Neto (2009) nos testes de germinação *in vitro* e polinização em campo de cherimóia, ata e atemóia, verificou-se que amostras de pólen coletadas no período úmido e conservadas em geladeira, foram aquelas com os melhores índices de germinação nas condições do município de Pedra Bela-SP. Já para o presente estudo com ateira nas condições do cerrado de Roraima, os grãos de pólen de ateira sob armazenamento refrigerado ( $5\pm 2$  °C) apresentaram uma porcentagem inferior a 45% após 4 horas de armazenamento, diminuindo drasticamente após esse período, não sendo considerada uma porcentagem de germinação satisfatória após esse período (Figura 07).

Apesar da existência de publicações nas quais testes colorimétricos são usados como parâmetro de vigor polínico (NUNES et al., 2012; CABRAL et al., 2013), a colorimetria não se deve usado como único indicativo de viabilidade polínica pois ela pode apenas apontar para a presença de conteúdo celular, o que necessariamente não implica a formação do tubo polínico e posterior fecundação. Sendo necessários testes *in vitro* de germinação do tubo polínico para comprovar essa viabilidade de forma mais segura. A Figura 08 mostra o teste de germinação de grãos de pólen de ateira no presente experimento.

**Figura 08** - Teste de germinação de grãos de pólen de ateira (*Annona squamosa* L.) *in vitro*. (A) Grãos de pólen em tetrade - início de germinação. (B) Grãos de pólen germinados. Boa Vista-RR, 2015.



Fonte: ARAÚJO (2015)

## **5.2 Polinização artificial e qualidade da frutificação de ateira (*Annona squamosa* L.) nas condições de Roraima**

De acordo com este estudo foi verificado que os frutos provenientes da polinização artificial (um total de 200 frutos) se apresentaram de maneira uniforme, carpelos bem desenvolvidos e formato arredondado, com nenhuma deformidade (Figura 09). Quando a polinização é ineficiente os frutos tendem a apresentar desuniformidade. Com isso a polinização artificial realizada nas flores de ateira trouxe resultados satisfatórios quanto a formação de frutos.

**Figura 09** – (A) Fruto de ata (*Annona squamosa* L.) proveniente da polinização artificial e (B) Fruto de ata proveniente de polinização natural. Boa vista – RR, 2015.



Fonte: ARAÚJO (2015)



Fonte: MOURA (2015)

De acordo com a análise de variância, observou-se que os tratamentos apresentaram diferenças significativas a 5% de probabilidade, nos diferentes horários de polinização artificial testados, para a porcentagem de fixação dos frutos (Tabela 01).

**Tabela 01** – Porcentagem de fixação de frutos de ata em função dos diferentes horários de polinização artificial nas condições de Roraima Boa vista – RR, 2015.

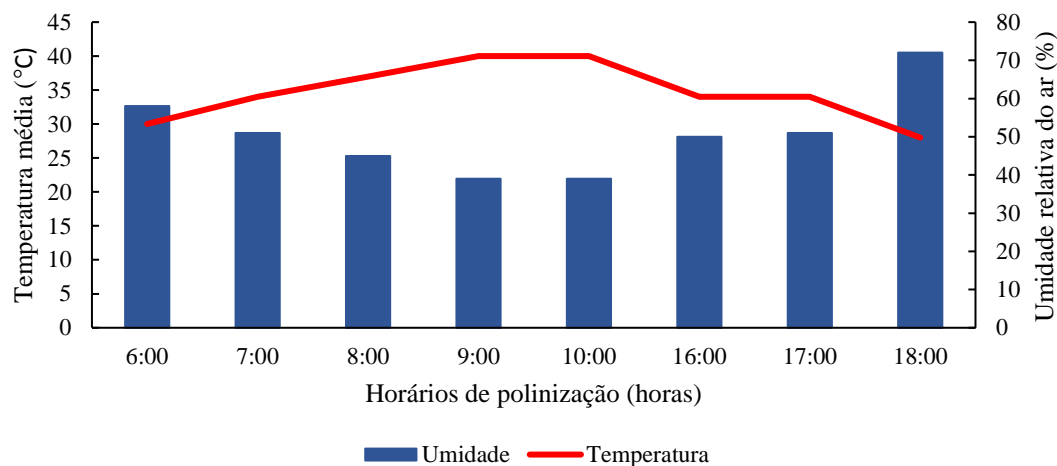
<b>Horários de Polinização Artificial (h)</b>	06:00	07:00	08:00	09:00	10:00	16:00	17:00	18:00
<b>Fixação dos frutos (%)</b>	75ab	92,5 a	70 ab	50 b	65 ab	0 c	0 c	0 c
<b>C.V (%)</b>	26,6							

\*\* Médias seguidas por letras minúsculas iguais na linha não diferem entre si pelo teste de Tukey, ao nível de 5% de probabilidade.

Para as condições do Estado de Roraima, local em que o presente experimento foi realizado, os horários de polinização artificial do período vespertino (16:00, 17:00 e 18:00), não apresentaram fixação de frutos, sendo considerado a porcentagem igual à zero (Tabela 01). Talvez as condições climáticas (temperaturas mais elevadas) do período vespertino tenham prejudicado a germinação dos tubos polínicos e consequentemente, a fertilização e fixação de frutos.

Durante o período experimental foram coletadas a temperatura média (°C) e umidade relativa do ar (%) nos horários que foram realizadas as polinizações artificiais das flores de ateira, conforme apresentado na Figura 10.

**Figura 10** - Temperatura média (°C) e umidade relativa do ar (%) nos horários de polinização artificial de flores de ateira. Cantá-RR, 2015.



Semelhantemente aos resultados obtidos neste trabalho, Nietsche et al. (2003) concluíram que a polinização artificial de flores de ateira no período matutino proporcionou a melhor porcentagem de fixação de frutos, com média de 90%, quando realizada às 8 horas para a região do Norte de Minas Gerais. Souza et al. (2006) em Ilhéus - BA, obtiveram resultados semelhantes, em que a fixação de frutos com polinização artificial foi sete vezes superior à polinização natural em gravioleira. Cavalcante et al. (2009) estudando a polinização e formação de frutos de araticum (*A. crassiflora*), nos municípios de Goiânia e Vila Propício, no Estado de Goiás, encontraram 39,46% e 31,11% de fixação para polinização artificial, respectivamente, enquanto a fixação natural se limitou a 0% e 4,65%. Os resultados obtidos com o presente estudo concordam com os resultados obtidos pelos autores citados, demonstrando assim a necessidade do uso da técnica de polinização artificial para obtenção de resultados superiores quanto a produtividade e qualidade da produção.

Fatores climáticos também podem ter influenciado a baixa porcentagem de fixação de frutos de ata no período vespertino nas condições de Roraima. Melo et al. (2002) estudando a polinização artificial em atemóia, no Estado de São Paulo verificaram que a época da polinização influenciou significativamente na porcentagem de frutos fixados, mostrando que a temperatura e a umidade relativa do ar, aliadas à polinização artificial, são fatores importantes no aumento da produtividade. Os autores também observaram que, na polinização artificial, a

porcentagem de frutos perfeitos foi de aproximadamente quatro vezes superior à de frutos formados na polinização natural.

Observou-se nos primeiros horários da manhã, maior porcentagem de fixação de frutos de ata (Tabela 01), quando as condições de temperatura média apresentavam-se mais baixas e a umidade mais elevada (Figura 10). As condições climáticas mais favoráveis no período matutino, aliado a maior viabilidade dos grãos de pólen logo após a coleta, proporcionou maior fixação de frutos de ata nas condições de Roraima. Nietzsche et al. (2003) avaliando diferentes horários de polinização artificial na fixação e qualidade de frutos de ata na região norte de Minas Gerais, observaram que as menores médias de porcentagem de fixação de frutos ocorreram no período vespertino de polinização (15:00, 16:00 e 17:00 horas), demonstrando que fatores climáticos como altas temperaturas e umidade relativa baixa no momento da coleta e armazenamento do pólen, podem ter influência na baixa taxa de fixação dos frutos de ata.

Com relação às características de qualidade dos frutos de ata, verificou-se que não houve diferença significativa entre as variáveis físicas, químicas e físico-químicas analisadas (Tabelas 2 e 3).

**Tabela 2** – Efeito de diferentes horários de polinização artificial em atermas nas variáveis físicas dos frutos: CF (Comprimento do Fruto), DM (Diâmetro do Fruto), MFF (Massa Fresca do Fruto), MFC (Massa Fresca da Casca), MFS (Massa Fresca da Semente), MFP (Massa Fresca da Polpa), NS (Número de Sementes) e FRP (Firmeza da Polpa), Boa vista – RR, 2015.

<b>Horários de Polinização Artificial (h)</b>	<b>CF (cm)</b>	<b>DF (cm)</b>	<b>MFF (g)</b>	<b>MFC (g)</b>	<b>MFS (g)</b>	<b>MFP (g)</b>	<b>NS</b>	<b>FRP (N)</b>
<b>06:00</b>	62,8a	53,8a	134,6a	57,1a	13,3a	64,3a	46,0a	3,3a
<b>07:00</b>	58,8a	57,2a	117,9a	44,1a	13,7a	59,9a	51,4a	2,4a
<b>08:00</b>	49,6a	51,8a	87,7a	33,3a	10,3a	44,1a	40,0a	1,9a
<b>09:00</b>	58,6a	61,2a	125,7a	46,3a	15,1a	64,3a	54,0a	3,0a
<b>10:00</b>	61,3a	59,8a	139,5a	61,9a	17,9a	59,7a	55,4a	2,4a
<b>C.V (%)</b>	14,18	21,66	34,48	43,08	34,96	30,81	24,33	32,03

\*\*Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Resultados diferentes foram encontrado por Pereira et al. (2003), os autores estudando a produção de atermas polinizadas artificialmente, em diversas horas do dia, encontraram diferenças significativas para a massa dos frutos no horário de 10 horas da manhã para as condições do município de Nova Porteirinha- MG. Mesmo não tendo sido verificada diferença estatística nas características físicas dos frutos de ata oriundos da polinização artificial,

observou-se que os horários das 06:00 e 10:00 da manhã respectivamente, proporcionaram frutos maiores, chegando a 134,6 e 139,5 (g) para massa do fruto.

Santos (2005) avaliando a polinização em ateira e atemoeira constatou que a polinização realizada com pincel proporcionou frutos de ata com maior comprimento, massa, diâmetro, número de sementes e com melhor formato, maior massa dos frutos, da casca e das sementes, com valores médios de 237, 112 e 16,2 g, respectivamente, para as condições do município de Nova Porteirinha- MG. Esses resultados foram superiores ao encontrado neste estudo.

Para firmeza da polpa não houve diferença estatística (Tabela 2). Resultados semelhantes a este estudo foram encontrados por Nietzsche et al. (2003), avaliando diferentes horários de polinização artificial na fixação e qualidade de frutos de ata, concluíram que os horários de polinização artificial não influenciaram na firmeza dos frutos.

**Tabela 3** – Efeito de diferentes horários de polinização artificial em atearas nas variáveis químicas e físico-químicas dos frutos: SS (Sólidos Solúveis), AT (Acidez Titulável) e pH, Boa vista – RR, 2015.

Horários de Polinização Artificial (h)	SS (°Brix)	pH	AT (mg de ácido cítrico 100g <sup>-1</sup> )
06:00	28,1a	4,7a	210,5a
07:00	29,3a	5,4a	220,5a
08:00	29,7a	5,5a	200,4a
09:00	29,9a	5,5a	220,3a
10:00	28,2a	5,7a	200,0a
C.V (%)	18,7	13,01	11,86

\*\* Médias seguidas pela mesma letra na coluna não diferem estatisticamente, pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade.

Para as variáveis químicas e físico-químicas testadas também não houve diferença estatística.

Uma das variáveis analisadas no presente experimento foi o teor de sólidos solúveis, este apresenta relação direta com a aceitação e comercialização de frutos. Mesmo não apresentando diferença significativa conforme observado na Tabela 3, os teores de sólidos solúveis (SS) foram superiores aos encontrados por Pereira et al. (2003), que obtiveram média máxima de 27,52 °Brix e Santos (2005) que obteve em média 22 °Brix, confirmando que os valores encontrados neste trabalho são considerados satisfatórios e mostrando o potencial do Estado de Roraima para o cultivo de ata.

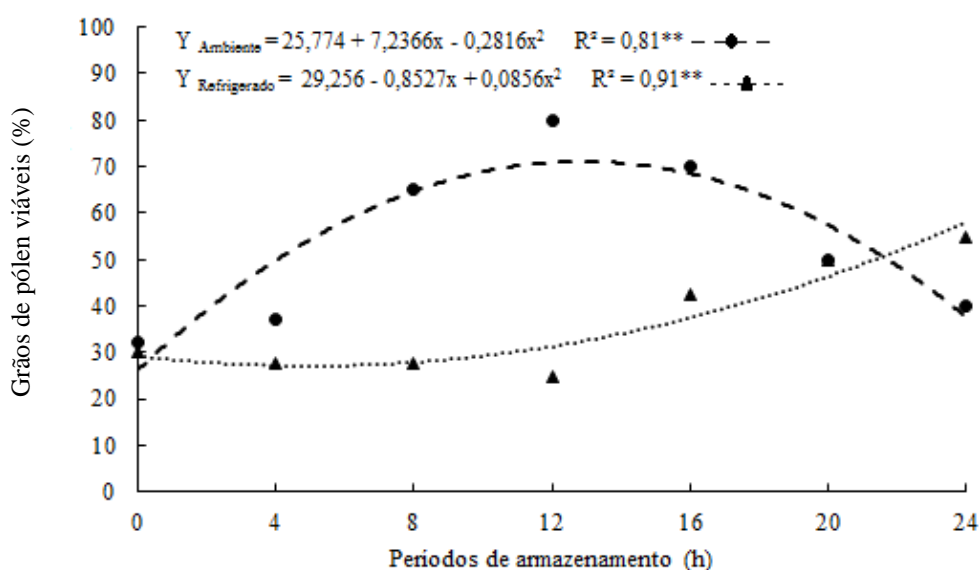
Vilasboas (2012) constatou que a polinização artificial aumenta em 4 vezes a fixação de frutos nos cultivos de graviola na Bahia, e o ensacamento com papel ou tela demonstram ser os

mais adequados para a proteção de frutos de graviola, sendo que os frutos protegidos com o saco de papel tendem a apresentar maiores teores de ácido ascórbico e sólidos solúveis, corroborando com os resultados obtidos nesta pesquisa.

### 5.3 Viabilidade e germinação de grãos de pólen de caçarizeiro *in vitro*

A análise de regressão para porcentagem de grãos de pólen viáveis (GPV%) de caçarizeiro em função dos diferentes períodos de armazenamento apresentou diferenças significativas entre os tratamentos testados (Figura 11). Deste modo, para melhor explicitar os resultados, foi realizado o desdobramento da equação de segundo grau.

**Figura 11** - Porcentagem de grãos de pólen viáveis de caçarizeiro submetidos em diferentes condições (pólen ambiente:  $27\pm 2$  °C e pólen refrigerado:  $5\pm 2$  °C) e períodos de armazenamento (h). Boa Vista-RR, 2017.



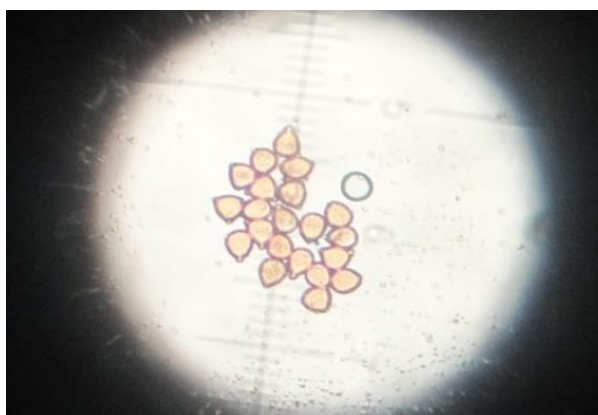
Observou-se que os grãos de pólen de caçarizeiro armazenados em temperatura ambiente ( $27\pm 2$  °C) apresentaram maior porcentagem de viabilidade até o período de armazenamento de 12,85 horas, apresentando uma taxa de viabilidade de 72,23%, a partir desse tempo houve decréscimo na porcentagem de grãos de pólen viáveis. Quando os grãos de pólen foram armazenados em ambiente refrigerado ( $5\pm 2$  °C) por um período de 4,98 horas, apresentaram baixa porcentagem de grãos de pólen viáveis 27,13%, mas a partir das 8 h de armazenamento esse percentual tendeu a crescer, alcançando até 60% num período de 24 horas (Figura 11).

Santos et al. (2016), estudando o uso de tetrazólio para teste de viabilidade polínica em

maracujá silvestre concluíram que a taxa percentual de viabilidade foi acima de 70%, considerando satisfatório para programas de melhoramento. Semelhantemente aos resultados obtidos com o presente estudo, onde a porcentagem de viabilidade obtida para grãos de pólen de caçarizeiro armazenados em temperatura ambiente (72,23%) foi considerada satisfatória.

A Figura 12 mostra os grãos de pólen de caçarizeiro corados (a) e não corados (b) utilizando o corante 2, 3, 5 cloreto de trifênil tetrazólio (TTC).

**Figura 12** – Teste de viabilidade de grãos de pólen de caçarizeiro (*Myrciaria dubia*) com 2, 3, 5 cloreto de trifênil tetrazólio (TTC). Grãos de pólen viáveis (corados). Boa Vista-RR, 2017.



Fonte: ARAÚJO (2017)

O uso de corante é importante para diferenciar os grãos de pólen que estão vivos ou não. Por isso, antes, durante e após o período de conservação dos grãos de pólen, é importante monitorar a sua viabilidade. Dessa forma, pode-se estabelecer o período máximo em que os grãos de pólen podem permanecer conservados sem perder a capacidade de germinar e fertilizar (DAMASCENO JUNIOR et al., 2008).

Espécies diferentes podem responder ao processo de conservação de forma distinta, apresentando menor ou maior porcentagem de viabilidade dos grãos, entretanto, outros fatores podem favorecer ou não o resultado, tais como processo de coleta dos botões florais, tipos e concentrações de corantes, tempo e tipo de armazenamento e entre outros. Deste modo, vale ressaltar que ainda existe vários fatores que poderão ser testados para o caçarizeiro, sendo quesitos importantes para se obter melhores resultados e condições no que diz respeito à conservação dos grãos de pólen.

Santos et al. (2016) testaram diferentes concentrações de 2,3,5 cloreto de trifênil tetrazólio (TTC) (0,075% e 0,30%) e tempos de exposição, onde o tempo de 12 e 24 horas de exposição proporcionaram 97,20 e 96,19% de grãos de pólen viáveis em condição de armazenamento

ambiente para grãos de pólen de cana-do-brejo. Os resultados obtidos foram superiores ao encontrado no presente experimento com grãos de pólen de caçarizeiro que apresentaram viabilidade abaixo de 75%.

Pinto (2012) utilizando teste histoquímico para determinar a viabilidade de grãos de pólen da espécie *Passiflora setacea* durante a antese floral constatou que a porcentagem de pólen viável foi considerada alta em todos os momentos da coleta do pólen, sendo que, a menor taxa de pólen viável encontrada (81%) foi utilizando a solução de Alexander e Carmim Acético (5%). Bacelar-Lima (2009) estudando a viabilidade do pólen de caçarizeiro, utilizando a solução de 2,3,5 cloreto de trifetil tetrazólio, encontrou uma porcentagem acima de 80% de grãos de pólen corados de vermelho, considerados como pólen viáveis no período de coleta (fase de pré-antese).

No presente trabalho com grãos de pólen de caçarizeiro utilizando a solução de 2,3,5 cloreto de trifetil tetrazólio (1%) foram alcançados resultados significativos, acima de 70% de viabilidade em condições ambiente. Corroborando com os resultados de Oliveira (2015), que avaliando o comportamento meiótico e análise polínica de Cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata*), constatou que de um total de 2016 grãos de pólen avaliados com auxílio do método de coloração com Carmim acético 2%, obteve-se um percentual de viabilidade igual a 96%. No teste colorimétrico com Alexander observaram-se 2521 pólenes, dos quais se obteve um valor de viabilidade igual a 98% com grãos de pólen em condição ambiente.

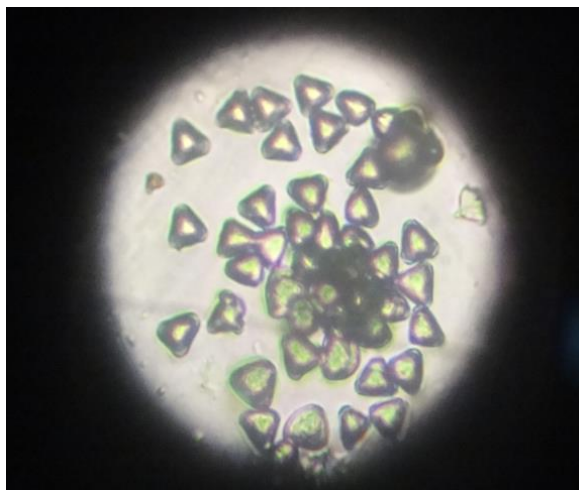
Levando em conta essas informações, se fazem necessários estudos comparando diferentes tipos de testes colorimétricos para o caçarizeiro (*Myrciaria dubia*) visando estimar-se com maior precisão a viabilidade polínica dessa espécie.

A análise de regressão para porcentagem de grãos de pólen germinados (GPG%) de caçarizeiro não apresentou diferenças significativas entre os tratamentos testados, apresentando 100% de grãos de pólen não germinados, tanto para os períodos de armazenamento (0, 4, 8, 12, 16, 20 e 24 horas), como para os dois meios de cultura utilizados (com boro e sem boro).

Nesse sentido, deve-se salientar que existem diversos fatores, tanto bióticos quanto abióticos, no ambiente externo, como: temperatura, pH, polinizadores, pressão, umidade, entre outros, que interagindo podem causar baixa na viabilidade dos grãos de pólen (RAMOS et al., 2008; CHAGAS et al., 2010). Assim como fatores inerentes ao meio de cultura, tais como concentração de macro, micronutrientes e sacarose, sendo este último uma das características mais importante, pois além de desempenhar papel nutritivo para que propicie o máximo de germinação de pólen, também atua no estabelecimento do equilíbrio osmótico que facilita a

difusão dos nutrientes para os grãos de pólen (ALCARAZ et al., 2011). A Figura 13 mostra os grãos de pólen de caçarizeiro não germinados.

**Figura 13** - Grãos de pólen de caçarizeiro não germinados. Boa Vista-RR, 2017.



Fonte: ARAÚJO (2017)

Alguns trabalhos testando a germinação de grãos de pólen, também obtiveram resultados pouco satisfatórios quando se testou meio de cultura com e sem boro. Nesse sentido, Franzon; Raseira; Júnior (2012) trabalhando com três tipos de meios de cultura para germinação de grão de pólen de guabirobeira utilizando na sua composição a presença ou não de boro (Meio 1 = 10% de açúcar + 1% de ágar; Meio 2 = 10% de açúcar + 1% de ágar + 0,65 mM de ácido bórico; Meio 3 = 10% de açúcar + 1% de ágar + 1,3 mM de ácido bórico) verificaram que não houve diferença significativa entre os meios testados, apresentando porcentagem de germinação acima de 30%. Santos et al. (2011) obteve porcentagem de grãos de pólen germinados de *Musa velutina* acima de 50% quando utilizou a dose de 300 m.L<sup>-1</sup> de ácido bórico, entretanto, outros autores observaram que para germinação de pólen de macieira na ausência ou presença de ácido bórico no meio, a germinação não é afetada (DANTAS et al., 2005).

A adição de boro é importante e suas respostas são variáveis, pois cada espécie requer concentrações de nutrientes distintos (SANTOS et al., 2011). O mecanismo de ação do boro consiste em interagir com o açúcar e formar um complexo ionizável açúcar-borato, o qual reage rapidamente com as membranas celulares (BHOJWANI; BHATNAGAR, 1974), facilitando a absorção e, conseqüentemente a germinação *in vitro*. De acordo com os resultados deste experimento faz-se necessário novos estudos, visando definir o meio de cultura adequado para

testes de germinação *in vitro* de pólen de caçarizeiro. Levando em conta que os grãos de pólen se mostraram viáveis, porém não germinaram.

## 6 CONCLUSÕES

A antese das flores (estágio feminino) da ateira tem início às 00:00h, se estendendo até as 12:00h do mesmo dia. As flores da ateira alcançam estágio funcionalmente estaminado (estágio masculino) a partir das 6 horas da manhã do dia seguinte, nas condições de Roraima;

Os grãos de pólen de ateira permanecem viáveis por até 12 horas após a coleta, tanto os grãos de pólen armazenados em condição ambiente ( $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) quanto os grãos de pólen armazenados em ambiente refrigerado ( $5\pm 2^{\circ}\text{C}$ );

Grãos de pólen de ateira apresentam porcentagem de germinação acima de 45%, quando armazenados em condição ambiente ( $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ ) por até 4 horas após a coleta;

Para as condições do Estado de Roraima, é recomendado que a polinização artificial seja realizada nos primeiros horários da manhã, entre 6:00 e 10:00 horas;

Os grãos de caçarizeiro permanecem viáveis por até 12 horas quando armazenados em condição ambiente ( $27\pm 2^{\circ}\text{C}$ ), com porcentagem de acima de 70%;

Faz-se necessário novos estudos sobre a definição de um protocolo de germinação *in vitro* para a cultura do caçari.

## 7 REFERÊNCIAS

- ABANTO-RODRÍGUEZ, C. A. **Efecto del fertirriego sobre la productividad del camu camu (*Myrciaria dubia* H.B.K Mc Vaugh) en la Region de Ucayali**. Tesis para optar el Título de INGENIERO FORESTAL. Lima-Perú 2010.
- ABANTO-RODRÍGUEZ, C.; ALVES-CHAGAS, E. COSTA-SILVEIRA T. A. de.; TADASHI-SAKAZAKI, R.; FARIAS-ARAÚJO, W.; SILVA-CHAVES, J. da. Early growth of camu-camu plants with nitrogen fertili- zation through fertirrigation. **Revista Scientia Agropecuaria**, v. 7, p. 367-376, n. 2016.
- AKIHAMA, T.; OMURA, M.; KOSAKI, I. Long-term of fruit tree pollen and its application in breeding. **Tropical Agriculture Research**. v. 4, p. 238-241, 1979.
- ALCARAZ, M.L.; MONTSERRAT, M.; HORMAZA, J.I. *In vitro* pollen germination in avocado (*Persea americana* Mill.): Optimization of the method and effect of temperature. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 130, p. 152–156, 2011.
- ALMEIDA JÚNIOR, E. B. de. **Distribuição da variabilidade genética e fluxo de pólen em subpopulações de *Annona crassiflora* Mart. (Annonaceae)** Tese de doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas. Goiânia, GO – Brasil, 2015.
- ALVARES, C. A. STAPE, J. L. SENTELHAS, P. C. GONÇALVES, J. L. DE M. SPAROVEK, G. Köppen's climate classification map for Brazil. **Meteorologische Zeitschrift**, Vol.22, No. 6, 711–728. 2013.
- ANTONIO, I. C.; SOUSA, N. R.; NUNES, C. D. M. Testes de campo para a polinização controlada da flor do cupuaçuzeiro (nota científica). **Científica**, Jaboticabal, v.32, n.1, p.82-84, 2004.
- ARAÚJO, J. F. A cultura da pinha. Salvador: Egba, 75 p. 2003.
- ARAÚJO, W.F.; JÚNIOR, A.S. A.; MEDEIROS, R.D.; SAMPAIO, R.A. Precipitação pluviométrica mensal provável em Boa Vista, Estado de Roraima, Brasil. **Revista Brasileira de Engenharia Agrícola e Ambiental**, v.5, n.3, p.563-567, 2001.
- ARAÚJO, M. DA C.R. , VENDRAME, W. A. , CHAGAS, E. A. , RIBEIRO, M. I. G. , VILACA, R. . Preliminary Studies on In Vitro Propagation of Camu-Camu (*Myrciaria dubia*), an Important Medicinal Plant. **Florida State Horticultural Society**, v. 20, p. 210-, n. 2015.
- BACELAR-LIMA. **Estudos da biologia reprodutiva, morfologia e polinização aplicados à produção de frutos de camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K) Mc Vaugh) adaptadas a terra firme da Amazônia Central/Brasil**. Tese (Doutorado). INPA. Manaus. 2009.
- BAÉZ, P., RIVEROS, M.; LEHNEBACH, C. Viability and longevity of pollen of *Nothofagus* species in south Chile. **New Zealand Journal of Botany** 40:671-678. 2002.

BARDALES, R. M. L. **Caracterização intraespecífica da variabilidade biométrica de frutos em populações nativas de camu-camu**. Dissertação de mestrado. Produção Vegetal. Universidade Federal de Roraima Boa vista- RR Brasil. 2013.

BETTIOL NETO, J. E.; NERO, M. D.; KAVATI, R.; PINTO-MAGLIO, C. A. F. Viabilidade e conservação de pólen de três anonas comerciais. Viabilidade e conservação de pólen em anonas. **Bragantia**. Campinas, v.68, n.4, p.825-837, 2009.

BHOJWANI, S.S.; BHATNAGAR, S.P. **The Embryology of Angiosperms**. New Delhi, 264p. 1974.

BIONDO, E.; BATTISTIN, A. Comparação da eficiência de diferentes corantes na estimativa de viabilidade de grãos de pólen em espécies do gênero *Eriosema* (DC.) G. Don e *Rhynchosia* Lour (Leguminosae – Faboideae), nativas da região sul do Brasil. **Bioikos**, Campinas, v. 15, n. 1, p. 39-44, 2001.

BITTENCOURT, M. A. L.; SOBRINHO, C. C. M.; PEREIRA M. J. B. **Biologia, danos e táticas de controle da broca-da-polpa das anonácias**. Bahia Agrícola, 8(1): 16-17. 2007.

BONAVENTURE, L. **A cultura da cherimóia e de seu híbrido a atemóia**. 1.ed. 182 p. São Paulo: Nobel, 1999.

BREWBAKER, J. L.; KWACK, B. H. The essencial role of calcium ion in pollen germination and tube growth. **American Journal Bot.** v.50, p.859-865, 1963.

BRITO, H. O.; NORONHA, E. P.; FRANÇA, L. M.; BRITO, L. M. O.; PRADO, M. S. A. Análise da composição fitoquímica do extrato etanólico das folhas da *Annona squamosa* (ATA). **Revista Brasileira de Farmácia**, 89(3): 180-184, 2008

CABRAL, J. C.; ROSSI, A. A. B.; KLEIN, M. E.; VIEIRA, F. S.; GIUSTINA, L. D. Estimativa da viabilidade polínica em acessos de *Theobroma cacao* L. baseada em testes calorimétricos. **Enciclopédia Biosfera**, Centro Científico Conhecer. Goiânia, v.9, n.17; p. 2782. 2013.

CAMPOS, R. da S., LEMOS, E.E. P. de, OLIVEIRA, J. F. de, FONSECA, F. K .P da, SANTIAGO, A. D., BARROS, P.G. Polinização natural, manual e autopolinização no pagamento de frutos de pinheira (*Annona squamosa* L.) em Alagoas. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 26, n. 2, p. 261-263, Agosto, 2004.

CARVALHO, R.; WEBBER, A. C. Biologia floral de *Unonopsis guatterioides* (A.DC.) R.E.Fr., Uma Annonaceae polinizada por Euglossini. **Revista Brasileira de Botânica**. 23: 419-423. 2000.

CAVALCANTE, T.R.M.; VIEIRA, M.F., ZANUNCIO, J.C., FREITAS, G. B. Polinizações manual e natural da gravioleira (*Annona muricata* L. ) Annonaceae. In: XVI Congresso Brasileiro de Fruticultura, 16, 2000, Fortaleza, CE. **Anais**. Fortaleza:SBF, p.321, 2000.

CAVALCANTE, T.R.M.B., NAVES, R.V., FRANCESCHINELLI, E.V., SILVA, P., DA SILVA, R.P. Polinizacao e formacao de frutos em araticum. **Bragantia**, v. 68, n. 1, p. 13–21, 2009.

CHAGAS, E. A.; PIO, R.; CHAGAS, P. C.; PASQUAL, M.; BETTIOL NETO, J. E. Composição do meio de cultura e condições ambientais para germinação de grãos de pólen de porta-enxertos de pereira. **Ciência Rural**, v. 40, p. 261-266, 2010.

CHAGAS, E.A.; CARVALHO, A. DOS S.; BACELAR-LIMA, C.G.; DUARTE, O.R.; NEVES, L.C.; Albuquerque, T.C.S. Ocorrência e distribuição geográfica de populações nativas de caçari no estado de Roraima. **Anais**. p.22. In: Congresso Brasileiro de Fruticultura, Bento Gonçalves-RS, 2012.

CHAGAS, E. A. LOZANO, R. M. B. CHAGAS, P. C. LIMA, C. G. B. GARCIA, M. I. R. , OLIVEIRA, J. V. , SOUZA, O. M. , MORAIS, B. S. , ARAUJO, M. C. R. . Intraspecific variability of camu-camu fruit in native populations of northern Amazonia. **Crop Breeding and Applied Biotechnology** (Online), v. 15, p. 265-271, n. 2015

CHAVE J., RIE´RA B., DUBOIS M. A. Estimation of biomass in a neotropical forest of French Guiana: spatial and temporal variability. **Journal of Tropical Ecology** 17:79–96. 2001.

COLAS, F.; MERCIER, S. Évaluation et maintien de la viabilité des polens utilisés dans le programme d' amélioration des arbres. **Forêt Québec**, Charlesbourg, 2000.

CORDEIRO, M. C. R.; PINTO, A. C. Q.; RAMOS, V. H. V. O cultivo da pinha, fruta-do-conde ou ata no Brasil. Circular Técnica (Embrapa Cerrados), Planaltina, n. 9, p. 1-52, jul. 2000.

CRANE, J.H.; BALERDI, C.F.; MAGUIRE, I. Sugar apple growing in the Florida home landscape. Gainesville:University of Florida, 9p. 2005.

CUCHIARA, C. C.; SILVA, S. D. DOS A. BOBROWSK, V. L. Conservação de grãos de pólen de mamoneira a baixas temperaturas. **Revista Ceres**, Viçosa, v. 59, n.1, p. 82-87, jan/fev, 2012.

CUSTÓDIO, A. R. **Relações de cruzabilidade entre espécies e acessos de germoplasma do gênero *Arachis* associados ao genoma B do amendoim (*Arachis hypogaea* L.)**. Tese de doutoramento, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, Brazil. 137 p. 2009.

DAFNI, A. FIRMAGE, D. Pollen viability: practical, ecological and evolutionary implications. **Plant Systematics and Evolution**. p. 113-132, 2000.

DAFNI, A. **Pollination ecology: a practical approach (the practical approach series)**. Oxford: University press. 250p. New York, 1992.

DAMASCENO JUNIOR, P. C. et al. Conservação de pólen de mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Ceres**. n. 55, v. 5, p. 433-438. Rio de Janeiro, 2008.

DANNER, M.A.; CITADIN, I.; SASSO, S. A. Z.; SACHET, M. R.; MALAGI, G. Modo de reprodução e viabilidade de pólen de três espécies de jaboticabeira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 33, n. 2, p. 345-352. 2011.

DANTAS, A. C.; PEIXOTO, M. L.; NODARI, R. O.; GUERRA, M. P. Viabilidade do pólen e desenvolvimento do tubo polínico em macieira (*Malus* spp). **Revista Brasileira de Fruticultura**. v.27, n. 3, p. 356-359, 2005.

DE JONG, T.J., WASER, N.M.; KLINKHAMER, P.G.L. Geitonogamy: the neglected side of selfing, **Trends Ecol.** n. 8, p. 321-325, 1993.

DERIN, K.; ETI, S. Determination of pollen quality, quantity and effect of cross pollination on the fruit set and quality in the pomegranate. **Turkish Journal of Agriculture and Forestry** 25:169-173. 1999.

DOMINGUES, E.T., NETO, A.T.; SOBRINHO, J.T. 1999. Viabilidade do pólen em variedades de laranja doce. **Scientia Agricola** 56:265-272. São Paulo, 1999.

EINHARDT, P. M.; CORREA, E. R.; RASEIRA, M. C. B. Comparação entre métodos para testar a viabilidade de pólen de pessegueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura.** v. 28, n.1, p.5-7, 2006.

ENCISO NARAZAS, R. M.; VILLACHICA, H. **Producción y manejo de plantas injertadas de caçari (*Myrciaria dubia*) en vivero.** 20p. Informe técnico 25. Instituto Nacional de Investigación Agrária, 1993.

FAEGRI K, VAN DER PIJL L. *The Principles of Pollination Ecology.* 244 p. 3ª ed. Oxford: Pergamon. 1979.

FERES, J. M. **Diversidade genética, sistema reprodutivo e fluxo de pólen em duas populações de *Tabebuia roseo-alba* (Ridl.) Sand.: Implicações para a conservação.** Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) –Universidade de São Paulo, 2009.

FERREIRA S. A. N.; GENTIL, D. F. O. Propagação assexuada do camu-camu (*Myrciaria dubia*) através de enxertias do tipo garfagem. **Acta Amazonica**, v. 27, n. 3, p. 163-168, 1997.

FERREIRA, C. A., VON PINHO, E. V. de R., ALVIM, P. de O., ANDRADE, V de., SILVA, T. T. de A. CARDOSO, D. L. **Conservação e determinação da viabilidade de grão de pólen de milho.** Revista Brasileira de Milho e Sorgo, v.6, n.2, p. 159-173, 2007.

FERREIRA, D. F. Sisvar: a computer statistical analysis system. **Ciência e Agrotecnologia.** v. 35, n. 6, p. 1039-1042. Lavras, 2011.

FRANZON, R. C.; RASEIRA, M. do C. B.; WAGNER JUNIOR, A. Germinacao in vitro de polen de guabirobeira (*Campomanesia xanthocarpa* Berg). **Revista Ceres**, Vicosa, v. 53, n. 305, p. 129-134, 2006.

FREITAS, B.M. **The pollination efficiency of foraging bees on apple (*Malus domestica* Borkh) and cashew (*Anacardium occidentale* L.).** 197p. University of Wales, Tese Doutorado. Cardiff, Grã- Bretanha, 1995.

FREITAS, B.M.; FONSECA, I.V.L. A importância econômica da polinização. **Mensagem Doce**, n. 80, 2005.

GEORGIEVA, I. D.; KRULEVA, M. M. Cytochemical investigation of long-term stored maize pollen. v. 72, p. 87-94. **Euphytica**, Wageningen, 1994.

GIORDANO, L. B. ARAGÃO, F. A. S., BOITEUX, L. S. **Melhoramento genético do tomateiro**. v. 24, n.219, p. 43-57. Informe Agropecuário, Belo Horizonte, 2003.

GUIRADO, E.; HERMOSO, J.M.; PÉREZ DE OTEYZA, M.A. de; FARRÉ, J.M. **Introducción al cultivo del cherimoyo**. p.78. Finca Experimental “La Nacla”, Caja Rural de Granada, Granada, 2004.

GUIRADO, E.; HERMOSO, J.M.; PÉREZ DE OTEYZA, M.A; GARCÍA-TAPIA, J.; FARRÉ, J.M. **Polinización del cherimoyo**. p.52. Finca Experimental “La Nacla”, Caja Rural de Granada, Granada, 2001.

HARTMANN, H. T. *et al.* Plant propagation: principles and practices. 7. ed. 880p. New Jersey: Prentice Hall, 2002.

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, v.18, n.1, p.135-141, 2016.

HOEKSTRA, F.A.; BRUINSMA, J. Respiration and vitality of binucleate and trinucleate pollen. **Plant Physiology** 34:221-225. 1975.

HUANG, Z., ZHU, J., MU, X.; LIN, J. Pollen dispersion, pollen viability and pistil receptivity in *Leymus chinensis*. **Annals of Botany** 93:295-301. 2004.

IMAN, C.S.; ZAMUDIO, B.L.; SOLIS, S.V.; CRUZ, O.C. Contenido de vitamina C en frutos de camu camu *Myrciaria dubia* (H.B.K) Mc Vaugh, en cuatro estados de maduración, procedentes de la Colección de Germoplasma del INIA Loreto, Perú. **Scientia Agropecuaria** 2(3): 123-130. 2011.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas Analíticas do Instituto Adolfo Lutz: Métodos Químicos e Físicos para Análise de Alimentos**.3ed. IAL. vol. 1, 533 p., 2008.

INSTITUTO DE INVESTIGACIONES DE LA AMAZONIA PERUANA. **Programa de agroexportación del camu camu**. (Hoja divulgativa, 01-97). Iquitos, 1997.

KEVAN, P.G.; FONSECA, I.V.L. **Pollinating bees: the conservation link between agriculture and nature**. 313p. Brasília: Ministério do Meio Ambiente. 2002.

KILL, L. H. P.; COSTA, J. G. da. Biologia floral e sistema de reprodução de *Annona squamosa* L. Annonaceae na região de Petrolina-PE. **Ciência Rural**, v.33, n.5, p. 851-856, Rio Grande do Sul, 2003.

LEDERMAN, I. E., BEZERRA, J. E. F. **Indução e Polinização de Anonáceas**. In: São José, A.R., Souza, I.V.B., Morais, O.M., Rebouças, T.N.H. Anonáceas, produção e mercado (Pinha, graviola, atemóia e cherimólia). Vitória da Conquista (BA): DFZ/UESB, p. 142-149. 1997.

LEDERMAN, I. E.; SILVA JÚNIOR, J. F. da; BEZERRA, J. E. F.; LIRA JÚNIOR, J. S. de. Potencialidades das espécies de Spondias no desenvolvimento da fruticultura brasileira. In: LEDERMAN, I. E.; LIRA JÚNIOR, J. S. de. (Org.) **Spondias no Brasil: Umbu, cajá e espécies afins**. Recife/PE: Editora Universitária da UFRPE, P. 15-22, 2008.

LINSLEY, E. C.; CAZIER, M. A. Further observation on bees which take polle from plants of genus *Solanum*. **Pan Pacific Entomologist**. v.39, n.1, p.1-18. San Francisco, 1963.

LOGUERCIO, L. L. Pollen treatment in high osmotic potencial: a simple tool for *in vitro* preservation and manipulation of viability in gametophytic populations. **Brazilian Journal Plant Physiology**., v.14, n.1, p.65-70, 2002.

LORENZON, M. C. A.; ALMEIDA, E. C. Viabilidade e germinação do pólen de linhagens parentais de cebola híbrida. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**. V.32, n.4, p.345-349, Brasília, 1997.

MADHU, CH.; BRAINARD, J. P.; RAJ, P. G.; SWAPN, J.; RAO, S. S. Anti ulcer activity of aqueous extract of *Annona squamosa* leaves on rats. **International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research**, Jhansi, v.3, n.11, p.4.429-4.433, 2012.

MAEDA, R. N.; PANTOJA, L.; YUYAMA, L. K. O.; CHAAR, J. M. Determinação da formulação e caracterização do néctar de caçari (*Myrciaria dubia* Mc Vaugh). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n. 26, v. 1, p. 70-74. Campinas, 2006.

MAEDA, R. N.; PANTOJA, L.; YUYAMA, L. K. O.; CHAAR, J. M. Estabilidade de ácido ascórbico e antocianinas em néctar de caçari (*Myrciaria dubia* (H. B. K.) Mc Vaugh). **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, n. 27, v. 2, p. 313-316. Campinas, 2007.

MANICA, I. **Taxonomia, morfologia e anatomia**. In: Frutas anonáceas: ata ou pinha, atemólia, cherimólia e graviola. Tecnologia de produção, pós-colheita e mercado. Manica, I. (ed). Cinco Continentes, Porto Alegre, p. 23-64, 2003. .

MELO, M. R.; POMMER, C. V.; KAVATI, R.; TOKUNAGA, T. Polinização natural e artificial da Cherimóia (*Annona cherimola* Mill.) no Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v.24, n.3, p.631-633, 2002.

MENDES, H.T.A, COSTA, M.R., NIETSCHKE, S., OLIVEIRA, J. A. A. PEREIRA, M. C. T. Pollen grain germination and fruit set in 'Brazilian seedless' sugar apple (*Annona squamosa* L.) **Crop Breeding and Applied Biotechnology** 12: 277-280, 2012

MOTA FILHO, V. J.; GONÇALVES, M. C. T. P.; NIETSCHKE, S.; GUIMARÃES, J. F. R.; MOREIRA, G. B. R.; FERNANDES, T. P. Uso de fitoreguladores no desenvolvimento de frutos na atemoieira (*Annona cherimola* x *A. squamosa* cv. Gefner). **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v.59, n.5, p. 636-645, 2012.

MOURÃO JÚNIOR, M.; XAUD, H.A.M.; OLIVEIRA JÚNIOR, J.O.L.; MOURA NETO, M.A.; SMIDERLE, J.O.; PEREIRA, P.R.V.; GIANLUPPI, V. **Precipitação pluviométrica em áreas de savana de Roraima**: campos experimentais Monte Cristo e Água. Boa. Boa Vista: Embrapa Roraima, 6p. 2003.

MULUGETA, D., MAXWELL, B.D., FAY, P.K.; DYER, W.E. *Kochia* (*Kochia scoparia*) pollen dispersion, viability and germination. **Weed Science** 42:548-552. 1994.

NABHAN, G.P.; BUCHMANN, S. Services provided by pollinators. In Daily, G.C. (ed.) *Nature's services: societal dependence on natural ecosystems*. Island Press: Washington. 1997.

NASCIMENTO, W. M.; GOMES, E. M. L.; BATISTA, E. A.; FREITAS, R. A. Utilização de agentes polinizadores na produção de sementes de cenoura e pimenta-doce em cultivo protegido. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v.30, n.3, p. 494- 498, 2012.

NASCIMENTO, W. M.; TORRES, A. C.; LIMA, L. B. Pollen viability in hybrid seed production off eggplant under tropical conditions. **Acta Horticulturae**, p. 37-39, 2003.

NIETSCHKE, S.; PEREIRA, M. C. T.; OLIVEIRA, C.; DIAS, M. M.; REIS, S. T. dos. Viabilidade dos grãos de pólen de flores de pinheira (*Annona squamosa*) em diferentes horários. **Ciênc. agrotec.**, Lavras, v. 33, n. 2, p. 527-531, mar./abr., 2009.

NIETSCHKE, S.; PEREIRA, M. C. T.; ROCHA, M. V.; DURÃES, N. N.; MOTA, W. F. DA.; GONÇALVES, V. D.; BRAZ, L. C.; ABREU, S. C. DE. Diferentes horários de polinização artificial no pegamento e qualidade de frutos de pinheira (*Annona Squamosa* L.) no norte de Minas Gerais. **Unimontes Científica**. Montes Claros, v.5, n.1, jan./jun. 2003.

NOGUEIRA, E.A.; MELLO, N.T.C. de; MAIA, M.L. **Produção e comercialização de anonáceas em São Paulo e Brasil**. Informações Econômicas, São Paulo, v.35, n.2, p. 51-54, 2005.

NUNES, R. C.; BUSTAMENTE, F. O.; TECHIO, V. H.; MITTELMANN, A. Morphology and pollen viability of *Lilium multiflorum* Lam. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 36, p. 180-188, 2012.

OLIVEIRA, L. B. P. de. **Comportamento meiótico e análise polínica de cerejeira-do-mato (*Eugenia involucrata* DC – Myrtaceae)**. Trabalho de conclusão de curso. Curitiba, 2015.

OLIVEIRA, M. do S.; PADILHA, M.M.M.; KALUME, M.A. de A. Viabilidade de pólen in vivo e *in vitro* em genótipos de açaizeiro. **Acta Botanica Brasílica**, v.15, n.1, p.27-33, Sociedade Botânica do Brasil, 2001.

PAGLIARINI, M. S., POZZOBON, M. T. II Curso de citogenética aplicada a recursos genéticos vegetais. Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia – DF. 2004.

PAULINO NETO, H.F.; OLIVEIRA, P.E.A.M. As anonáceas e os besouros. **Ciência Hoje**. v. 38, n. 224, p. 59-61, 2006.

PAULINO-NETO, H. F. **Polinização e biologia reprodutiva de Araticum-liso (*Annona coriacea* Mart.: Annonaceae) em uma área de cerrado paulista: Implicações para fruticultura**. Palestra Anonáceas - V Congresso Internacional & Encontro Brasileiro sobre Annonaceae: do gene à exportação (19 a 23 de Agosto de 2013). Botucatu-SP, 2013.

PELINSON, G. J. B., e outros. Análise do custo de produção e lucratividade na cultura da pinha (*Annona squamosa* L.) na região Jales- SP, ano agrícola 2001- 2002. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal - SP, v. 27, n. 2, p. 226- 229, Agosto 2005.

PEÑA, J. E.; NADEL, H.; BARBOSA-PEREIRA, M.; SMITH, D. Pollinators and pests of *Annona species*. In: PEÑA, J. E.; SHARP, J. L.; WYSOKI, M. Tropical fruit pests and pollinators: biology, economic importance, natural enemies and control. **Oxon: CABI**, P.197-221. 2002.

PEREIRA, M. C. T.; NIETSCHKE, S.; SANTOS, F. S.; XAVIER, A. A.; CUNHA, L. M. V.; NUNES, C. F.; SANTOS, F. A. Efeito de horário de polinização artificial no pegamento e qualidade de frutos de pinha (*Annona squamosa* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.25, n.2, p. 203-205. Jaboticabal, 2003.

PINTO, G. R. R. **Utilização de teste histoquímico para determinar a viabilidade de grãos de pólen da espécie *Passiflora setacea* durante a antese floral**. Trabalho de conclusão de curso. Faculdade de Ciências da Educação e Saúde - FACES Curso de Bacharel em Ciências Biológicas, 2012.

PINTO-MAGLIO, C. A. F. **Análises de pólen de atemóia**. (Relatório Científico). Campinas: Instituto Agrônômico, 2003.

PIO, L.A.S.; RAMOS, J.D.; PASCAL, M.; JUNQUEIRA, K.P.; SANTOS, F.C.; RUFINI, J.C.M. Viabilidade do pólen de laranjas doces em diferentes condições de armazenamento. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, n.1, p. 147-153, jan/fev. Lavras, 2007.

PLINE, W.A., EDMISTEN K.L., OLIVER, T., WILCUT, J.W., WELLS, R.; ALLEN, N.S. Use of digital image analysis, viability stains, and germination assays to estimate conventional and glyphosate-resistant cotton pollen viability. **Crop Science** 42:2193-2200. 2002.

RAMOS, J. D.; PASQUAL, M.; SALLES, L. A.; CHAGAS, E. A.; PIO, R. Receptividade do estigma e ajuste de protocolo para germinação in vitro de grãos de pólen de citros. **Interciência**, v. 33, p. 51-55, 2008.

RIBEIRO, G. S. **Aspectos da biologia floral relacionados à produção de sementes e frutos de pinha (*Annona squamosa* L.)**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia. Campus de Vitória da Conquista. 72p. Vitória da Conquista, 2006.

RIBEIRO, S. I.; MOTA, M. G.; PADINHA, M. L. Recomendações para o cultivo do Camucamuzeiro (*Myrciaria dubia* (H. B. K.) Mc Vaugh no Estado do Pará. **Circular Técnica**, 31. 9p. Belém: Embrapa Amazônia Oriental, 2002.

RIGAMOTO, R.R.; TYAGI, A.P. Pollen fertility status in coastal plant species of Rotuma Island. **The South Pacific Journal Natural Science** 20:30-33. 2002.

ROCHA-ARAÚJO, M. da C. da.; CHAGAS, E. A.; GARCIA, M. I. R.; PINTO, S. T. S.; CHAGAS, P. C.; , VENDRAME, W.; FILHO, A. B. M.; SOUZA, O. M. de . Micropropagation of caari under different nutritive culture media, antioxidants, and levels of agar and pH. **African Journal of Biotechnology**, v. 15, p. 1771-1780, n. 2016.

SANTOS, A.B., NASCIMENTO, F.S.; SOUZA, C.S. Polinização, um importante serviço prestado ao meio ambiente. In: Seabra, G.F. (Org.) A Conferência da Terra: Fórum Internacional do Meio Ambiente. Questões globais e soluções locais. p. 640-646. João Pessoa-PB: Editora Universitária da UFPB, 2008.

SANTOS, F.S. **Polinização em pinheira (*Annona squamosa* L.) e atemoieira (*Annona cherimola* Mill. x *Annona squamosa* L.)** Tese de Pós-Graduação em Fitotecnia, Viçosa. Minas Gerais – Brasil. 2005.

SANTOS, J. C. dos.; SANTOS, A. P. dos.; ROCHA, C. I. L. da. **Estrutura da cadeia produtiva de caçari no Brasil**. Relatório Final de projeto. 35p. Belém: CPATU, 2009.

SANTOS, L. C. B. dos; FERNANDES, L.; DAMASIO, J. F.; MELLO, V. dos S. de; LEITE, D. M.; KARSBURG, I. V.; PRAÇA, M. M. Uso de tetrazólio para teste de viabilidade polínica em maracujá silvestre. *UNESP. Ciência e Tecnologia: Fatec-JB*, Jaboticabal, v. 8, n.1. Número especial 2. 2016.

SANTOS, M. R.A. dos; FERREIRA, M. das G. R; ROCHA, J. F. da; CORREIA, A. de O. Estabelecimento de protocolo para germinação de pólen de *Musa velutina* H. Wendl. & Drude. **Plant Cell Cult. Micropropag.**, Lavras, v.7, n.1, p. 22-29, 2011.

SANTOS, P. C. dos, NOGUEIRA, A. S., FREITAS, M. S. M., FREITAS, J. A. A., CARVALHO, A. J. C. de. Influência da época de poda e tipos de Polinização no florescimento e Frutificação da pinha. V Congresso Internacional & Encontro Brasileiro sobre Annonaceae: do gene à exportação (19 a 23 de Agosto de 2013). Botucatu-SP . v. 36, edição especial, e., p. 192-201, Fevereiro 2014.

SÃO JOSÉ, A. R.; PIRES, M. M.; FREITAS, A. L. G. E.; RIBEIRO, D. P.; PEREZ, L. A. A. **Atualidades e perspectivas das anonáceas no mundo**. In: V Congresso Internacional & Encontro Brasileiro sobre Annonaceae: do gene à exportação. Revista Brasileira de Fruticultura, v. 36, p. 086-093, 2014

SEFFRIN, R. de C.; SHIKANO, I.; AKHTAR, Y.; ISMAN, M. B. Effects of crude seed extracts of *Annona atemoya* and *Annona squamosa* L. against the cabbage looper, *Trichoplusiani* in the laboratory and greenhouse. **Crop Protection**, Guildford, v.29, n.1, p.20-24, 2010.

SENTHIL, R.; SILAMBARASAN, R. Annona: A new biodiesel for diesel engine: A comparative experimental investigation. **Journal of the Energy Institute**, p.1–11, 2014.

SEREJO, J. A. S.; MENEZES, M. C; SOUZA, F. V. D. **Efeito da desidratação na viabilidade de pólen de bananeira**. Anais... Congresso Brasileiro de Recursos Genéticos, Belém, PA. Brasília, DF: Sociedade Brasileira de Recursos Genéticos, 2012.

SILVA, S.C. O Gênero *Myrciaria* O. Berg (*myrtaceae*) na Amazônia Brasileira. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal Rural da Amazônia, Belém. 56p. 2012.

SINGH, S. Pharmacological screening of combined extract of *Annona squamosa* and *Nigella sativa*. **International Journal of Pharma and Bio Sciences**, South Jordan, v.2, n.2, p.520-529, 2011.

SINIMBU NETO, F.A. et al. Viabilidade "*in vitro*" de grãos de pólen de bacurizeiro - Clusiaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**, ahead of print, 03-Jun-2011. 2011.

SOARES, T. L. Eficiência do sistema reprodutivo de bananeira/Taliane Leila Soares. Tese de Doutorado, 101f.:il., 2011. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia. Cruz das Almas, Ba. 2011.

SOARES, T. L.; SOUZA, E. H. DE; ROSSI, M. L.; SOUZA, F. V. D. Morfologia e viabilidade de grãos de pólen de acessos silvestres de abacaxi. **Ciência Rural**, Santa Maria, v.41, n.10, p.1744-1749, out, 2011.

SOARES, T.L., SILVA, S.O., COSTA, M.A.P.C., SANTOS-SEREJO, J.A., SOUZA, A.S., LINO, L.S.M., SOUZA, E.H.; JESUS, O.N. *In vitro* germination and viability of pollen grains of banana diploids. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, 8:111-118. 2008.

SOUSA, V. A. DE.; SCHEMBERG, E. A.; AGUIAR, A. V. Germinação *in vitro* do pólen de jerivá (*Syagrus romanzoffiana* (S.) Cham) *In vitro* pollen germination of Jerivá (*Syagrus romanzoffiana* (S.) Cham) **Sci. For.**, Piracicaba, v. 38, n. 86, p. 147-151, jun. 2010.

SOUSA, V. A. DE; SCHEMBERG, E. A.; AGUIAR, A. V. Germinação *in vitro* do pólen de jerivá (*Syagrus romanzoffiana* (S.) Cham). **Scientia Forestal**. v. 38, n. 86, p. 147-151. Piracicaba, jun. 2010.

SOUZA GS, SOUZA ZM, SILVA RB, BARBOSA RS, ARAÚJO FS. Effects of traffic control on the soil physical quality and the cultivation of sugarcane. **Revista Brasileira de Ciências do Solo**. 38:135-46. 2014.

SOUZA, M. G. de A.; ARAGÃO, A. S. L. de A.; SACRAMENTO, C. K. Fenologia da floração e frutificação da gravioleira na região sul da Bahia, **Anais. In: XII Seminário de Iniciação Científica da UESC - Ciências Agrárias**, p.66-68. 2006.

SOUZA, M.M., PEREIRA, T.N.S., MARTINS, E.R. Microsporogênese e microgametogênese associadas ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em maracujá-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener). **Ciência e Agrotecnologia**. 26:1209-1217. Lavras, 2002.

STANLEY, R. G.; LINSKENS, H. F. Pollen: biology, biochemistry and management. 172 p. New York: Springer verlag, 1974.

TECHIO, V. H.; DAVIDE, I. C; PEDROZO, C. A.; PEREIRA, A.V. Viabilidade do grão de pólen de acessos de capim-elefante, milho e híbridos interespecíficos (capim-elefante x milho) **Acta Scientiarum. Biological Sciences**, v.28, n. 1, p. 7-12. 2006.

TIGHE, M.E. Manual de recolección y manejo de polen de pinus tropicales y subtropicales procedentes de rodales naturales. 1.ed, 20p. Raleigh, NC, USA: NC State University 2004.

VARGAS, D.P., SOUZA, S.A.M., ANJOS E SILVA, S.D., BOBROWSKI, V.L. Análise dos grãos de pólen de diferentes cultivares de manona (*Ricinus communis* L., Euphorbiaceae): conservação e viabilidade. **Arquivos do Instituto Biológico**, São Paulo, v.76, n.1, p.115-120, jan./mar., 2009.

VILASBOAS, F. S. **Polinização e proteção de frutos de gravioleira no estado da Bahia**. Dissertação de Mestrado em Agronomia. Vitória da Conquista – BA, 2012.

VILLACHICA, H.; CARVALHO, J.E.V.; MULLER, C.H. DIAZ, C.; ALMANZA, M. Frutales y hortalizas promissórios de la Amazonia. Lima: FAO. 27-83. 1996.

VILLELA, G.; SOUSA, W. de. Camu-camu: a fonte brasileira de vitamina C. **Manchete Rural**, v. 9, n. 112, p. 20-24, 1996.

YUYAMA, K. A cultura de caçari no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 33, n. 2, p. i-ii. Jaboticabal, 2011.

YUYAMA, K.; YAYAMA, L. K. O.; VALENTE, J. P.; SILVA, A. C.; AGUIAR, J. P.L.; FLORES, W. B. C.; LIMA, C. G. B. C. **Caçari**. 50p. Jaboticabal: FUNEP, 2010.

ZANATTA, C.F. Determination of anthocyanins from caçari (*Myrciaria dubia*) by HPLC-PDA, HPLC-MS, and NMR. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 53(24): 9531-9535. 2005.

ZANOTTO, M.; BRAMMER, S. P.; JÚNIOR, A. N.; SCAGLIUSI, S. M. Viabilidade polínica como seleção assistida no programa de melhoramento genético de Triticale. **Ciência e agrotecnologia**. Lavras - MG, 33(1): 2078-2082, 2009.

ZUCARELI, V.; FERREIRA, G.; SILVÉRIO, E. R. V.; AMARO, A. C. E. Luz e temperatura na germinação de sementes de *Annona squamosa* L. **Revista Brasileira de Biociência**. v. 5, p. 840-842. Porto Alegre, jul. 2007.

## 8 APÊNDICE

**APÊNDICE A.** Quadrado médio da análise de variância da interação entre os períodos de acondicionamento do pólen e condições de armazenamento de *Annona squamosa* para grãos de pólen viáveis (GPV) e grãos de pólen não viáveis (GPNV). Vista – RR, 2017.

FV	GL	Quadrado Médio	
		GPV	GPNV
Períodos de Acondicionamento (P)	6	2342.65**	18.30**
Condições de Armazenamento (A)	1	500.59*	6.26**
P x A	6	3786.92**	27.01**
Resíduo	28	32.50	0.10
CV (%)		7.38	3.86

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade

\*Significativo ao nível de 5% de probabilidade

**APÊNDICE B.** Quadrado médio da análise de variância da interação entre os períodos de acondicionamento do pólen e condições de armazenamento de *Annona squamosa* para grãos de pólen germinados (GPG) e grãos de pólen não germinados (GPNG). Vista – RR, 2017.

FV	GL	Quadrado Médio	
		GPG	GPNG
Períodos de Acondicionamento (P)	6	4946.57**	4946.57**
Condições de Armazenamento (A)	1	330.28*	330.28*
P x A	6	620.49**	620.49**
Resíduo	42	39.65	39.65
CV (%)		30.24	7.95

\*\* Significativo ao nível de 1% de probabilidade

\*Significativo ao nível de 5% de probabilidade

**APÊNDICE C.** Quadrado médio da análise de variância dos Horários de Polinização de *Annona squamosa* para Número de Frutos Fixados (NFF) e Número de Frutos Não Fixados (NFNF) nas condições de Roraima. Vista – RR, 2017.

FV	GL	Quadrado Médio	
		NFF	NFNF
Horários de Polinização	4	955.00 <sup>NS</sup>	955.00 <sup>NS</sup>
Resíduo	15	351.66	351.66
CV (%)		26,60	63,57

<sup>NS</sup> Não Significativo

**APÊNDICE D.** Quadrado médio e coeficientes de variação da análise de variância dos diferentes horários de polinização artificial para comprimento do fruto (CF), diâmetro (DM), firmeza da polpa (FRP), massa fresca do fruto (MFF), massa fresca da casca (MFC), massa fresca da semente (MFS), número de semente (NS), sólidos solúveis (°BRIX), potencial hidrogeniônico (pH), acidez total (AT). Cantá – RR, 2017.

F.V	G.L	QUADRADO MÉDIO									
		CF	DM	FRP	MFF	MFC	MFS	NS	°BRIX	pH	AT
HORÁRIOS DE POLINIZAÇÃO ARTIFICIAL	4	130,66 <sup>NS</sup>	78,64 <sup>NS</sup>	1,55 <sup>NS</sup>	2083,65 <sup>NS</sup>	634,70 <sup>NS</sup>	37,95 <sup>NS</sup>	183,26 <sup>NS</sup>	3,34 <sup>NS</sup>	0,75 <sup>NS</sup>	6,49 <sup>NS</sup>
RESÍDUO	20	68,19	151,44	0,71	1743,16	437,79	24,26	145,16	29,63	0,49	6,42
C.V (%)		14,18	21,66	32,03	34,48	43,08	34,96	24,33	18,7	13,01	11,86

<sup>NS</sup> Não Significativo.

**APÊNDICE E.** Quadrado médio da análise de variância da interação entre os períodos de acondicionamento do pólen e condições de armazenamento de *Myrciaria dúbia*, para grãos de pólen viáveis (GPV) e grãos de pólen não viáveis (GPNV). Vista – RR, 2017.

FV	GL	Quadrado Médio	
		GPV	GPNV
Períodos de Acondicionamento (P)	6	1071,66**	1071,66**
Condições de Armazenamento (A)	1	2578,57**	2578,57**
P x A	6	3766,95**	3766,95**
RESÍDUO	42	46,43	46,43
CV (%)		16,15	11,78

\*\*Significativo ao nível de 1% de probabilidade