

**UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**

**KELLI PIROLA**

**CARACTERIZAÇÃO E FRUTIFICAÇÃO DE UM ACESSO APIRÊNICO**  
**DE PITANGUEIRA**

**TESE**

**PATO BRANCO**

**2017**

KELLI PIROLA

**CARACTERIZAÇÃO E FRUTIFICAÇÃO DE UM ACESSO APIRÊNICO  
DE PITANGUEIRA**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco, como requisito parcial à obtenção do título de Doutor em Agronomia - Área de Concentração: Produção Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. Américo Wagner Júnior  
Co-Orientadora: Prof. Dra. Marciele Felippi

PATO BRANCO

2017

P671c Pirola, Kelli.  
Caracterização e frutificação de um acesso apirênico de pitangueira /  
Kelli Pirola. – 2017.  
156 f. : il. ; 30 cm.

Orientador: Prof. Dr. Américo Wagner Júnior  
Co-Orientadora: Profª Drª Marciele Felippi  
Tese (Doutorado) - Universidade Tecnológica Federal do Paraná.  
Programa de Pós-Graduação em Agronomia. Pato Branco, PR, 2017.  
Bibliografia: f. 110 – 138.

1. *Eugenia uniflora*. 2. *Mirtaceae*. 3. Embriogênese. 4. Fruto sem  
semente. I. Wagner Júnior, Américo, orient. II. Felippi, Marciele, co-orient.  
III. Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Programa de Pós-  
Graduação em Agronomia. IV. Título.

CDD 22. ed. 630

Ficha Catalográfica elaborada por  
Maria Juçara Silveira CRB-9/1359  
Biblioteca da UTFPR Campus Pato Branco



Ministério da Educação  
Universidade Tecnológica Federal do Paraná  
Câmpus Pato Branco  
Diretoria de Pesquisa e Pós-Graduação  
Programa de Pós-Graduação em Agronomia



## TERMO DE APROVAÇÃO

Título da Tese nº 030

### CARACTERIZAÇÃO E FRUTIFICAÇÃO DE UM ACESSO DE PITANGUEIRA APIRÊNICA

por

KELLI PIROLA

Tese apresentada às 14 horas 30 min. do dia 17 de março de 2017 como requisito parcial para obtenção do título de DOUTORA EM AGRONOMIA, do Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal) da Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Câmpus Pato Branco. A candidata foi arguida pela Banca Examinadora composta pelos membros abaixo designados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho APROVADO.

Banca examinadora:

---

**Prof. Dr. Rodrigo César Franzon**  
EMBRAPA

---

**Prof. Dra. Maria do Carmo**  
EMBRAPA

---

**Prof. Dr. Idemir Citadin**  
UFPR

---

**Prof. Dr. Moeses Andriago Danner**  
UTFPR

---

**Prof. Dr. Américo Wagner Júnior**  
UTFPR  
Orientador

Dedico este trabalho ao meu filho Miguel, meu marido Marcelo, meus pais Francisco e Cecília e ao Professor Américo.

## AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a DEUS, por estar sempre presente em minha vida me ajudando nos momentos mais difíceis, e em momentos de desânimos me dando força para continuar.

Ao meu filho Miguel Pirola Dotto, a quem fui agraciada por Deus por dar a vida, e por ser a razão do meu viver e ter me motivado ainda mais a continuar e nunca desistir, essa conquista é sua meu filho.

Ao meu marido Marcelo Dotto, que sempre esteve ao meu lado me dando força e nunca me deixando desanimar nos momentos difíceis, por ser meu companheiro desde o início, obrigado por todo amor, dedicação apoio e compreensão.

Aos meus pais Francisco Pirola e Cecília Pagnoncelli Pirola, pelo dom da vida, e por todo apoio, incentivo e força para vencer mais esta etapa, e por toda a ajuda nos momentos que precisei obrigado por todo amor, dedicação e compreensão.

Aos meus sogros Valmor e Dirce pelo apoio e incentivo necessário para esta conquista.

Aos meus cunhados Deyse e Luciano, por todo apoio e ajuda quando precisei, e a minha afilhada Luíza.

Ao meu orientador e grande amigo Américo Wagner Junior, que sempre me ajudou, incentivou e apoiou em toda minha caminhada desde a graduação até a conclusão do doutorado. Obrigada pela paciência, compreensão e pela dedicação nos momentos que o solicitei. Você é meu espelho, e quero poder seguir os seus passos na vida profissional, pois te respeito e admiro muito.

A minha co-orientadora Marciele Felippi, pelos conselhos e ideias para a realização do trabalho, e por toda ajuda e colaboração para a realização da tese.

Aos meus co-orientadores Idemir Citadin e Rodrigo César Franzon, por sempre estar à disposição para realização dos trabalhos.

A minha co-orientadora na Espanha Dr. Maria Herero, com qual pude aprender muito, o meu muito obrigado por toda dedicação e atenção durante o período em que realizei meu doutorado sandúche, e por ter me recebido tão bem na instituição - Estación Experimental de Aula Dei – Zaragoza, Espanha.

A Reyes, M. Carmen, Erica, Jorge, Marta, de quem tive muita ajuda na instituição espanhola e que me receberam muito bem.

Aos alunos de graduação e pós-graduação do grupo Myrtaceae, que me ajudaram com a realização dos experimentos, e que de uma forma ou outra contribuíram para a realização do meu trabalho. O meu muito obrigado.

A amiga Darcieli Aparecida Cassol pela ajuda e apoio durante o doutorado.

Ao Joel Donazzolo, a quem foi o primeiro a detectar a pitangueira apirênica, e a partir daí surgir a idéia deste trabalho.

A UTFPR e ao Programa de Pós-Graduação em Agronomia pela oportunidade de realizar o doutorado, além de todos os recursos disponíveis para a realização dos experimentos.

A CAPES, pela concessão de bolsa de estudo, subsídio que viabilizou meus estudos durante este período.

Enfim, a todos que não foram citados, mas que de uma forma ou de outra ajudaram na realização deste trabalho.

“Que os vossos esforços desafiem as impossibilidades, lembrai-vos de que as grandes coisas do homem foram conquistadas do que parecia impossível”.

**Charles Chaplin**



## RESUMO

PIROLA, Kelli. Caracterização e frutificação de um acesso apirênico de pitangueira. 156 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Pato Branco, 2013.

As fruteiras nativas vêm ganhando atenção pelos produtores e consumidores, já que são consideradas como alimento funcional. No caso da pitangueira, é uma das únicas fruteiras nativas com plantio comercial, sendo atualmente, explorada pela indústria de sucos e de cosméticos. Para a indústria, em geral, é importante que os frutos da pitangueira apresentem o máximo rendimento de polpa. Entretanto, os frutos desta fruteira não possuem tal característica, por produzirem geralmente sementes grandes comparativamente, ao tamanho dos frutos. Contudo, foi identificado na coleção de fruteiras nativas da UTFPR - Câmpus Dois Vizinhos um genótipo produtor de pitangas sem sementes, o que pode revolucionar o mercado, atraindo mais fruticultores interessados em seu plantio. Porém, as causas desta característica devem ser elucidadas para que se possa futuramente, lançar no mercado, genótipos produtores de frutos com qualidade superior e sem sementes. O objetivo deste trabalho foi buscar elucidar as possíveis causas da apirenia em pitangueira (*Eugenia uniflora* L) e caracterizar comparativamente a qualidade do fruto produzido pela mesma. Os trabalhos foram realizados nos Laboratórios de Microscopia e de Fisiologia Vegetal e, na área da coleção de frutas nativas da UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – Paraná e, na Estação experimental de Aula Dei (Zaragoza, Espanha). Foram utilizados genótipos de pitangueira (*E. uniflora* L.) que produzem frutos com e sem sementes (pirênicos e apirênicos, respectivamente), pertencentes à coleção da referida Instituição. Foram realizados experimentos envolvendo a biologia floral e reprodutiva da pitangueira; feitos cortes histológicos para descrição da embriogênese e ontogênese; níveis de ploidia e avaliação da qualidade de frutos. Pode-se constatar que o acesso apirênico, em muitas características não se diferenciou do acesso pirênico, mas foi verificado que este último tem maior período de floração e frutificação, maior número de pólen por flor, comparado ao acesso apirênico. O acesso apirênico encontrado poderá servir de base para cruzamentos dirigidos no melhoramento genético da cultura, buscando-se novos híbridos, com essa característica, pois seus frutos apresentaram qualidades que permitem enquadrá-las para dupla finalidade.

**Palavras-chave:** *Eugenia uniflora*. Myrtaceae. Embriogênese. Fruto sem semente.

## ABSTRACT

PIROLA, Kelli. Characterization and frutification of an apirenic access of pitangueira. 156 f. Tese (Doutorado em Agronomia) – Programa de Pós-Graduação em Agronomia (Área de Concentração: Produção vegetal), Federal University of Technology - Paraná. Pato Branco, 2012.

The native fruit trees have gained attention by producers and consumers, already that it is considered as functional food. In the case of Surinan Cherry tree, it is one of native fruit trees with commercial cultivation, it being currently exploited by the juice and cosmetics industry. For the industry, in general, it is important that the Surinan Cherry fruit to present the maximum pulp content. However, the fruits of this species do not have this characteristic, because they generally produce large seeds comparatively to the fruit size. Nevertheless, there is a genotype that produces fruit without seed from UTFPR - Câmpus Dois Vizinhos, Paraná State, Brazil, what to change the market, and it can attract more fruit growers interested in its cultivation. But, the causes of this characteristic have to be elucidated for in the future for it be possible have in the market genotypes producing fruit quality superior and without seed. The aim of this work was to elucidate the causes of fruit without seed in the Surinan Cherry (*Eugenia uniflora* L.) and its fruit quality was compared with of the other Surinan Cherry trees. The works were carried out at the Microscopy and Plant Physiology Laboratories and at the native fruit collection area from UTFPR - Câmpus Dois Vizinhos - Paraná State, Brazil. In addition, to have works at Aula Dei Experimental Station (Zaragoza, Spain). Genotypes of Surinan cherry (*Eugenia uniflora* L.), which produce fruits with and without seeds (pirenic and apirenic, respectively) it was studied. Experiments were carried out involving floral and reproductive biology of Surinan cherry tree; it was realized histological sections for description of embryogenesis and ontogenesis; levels of ploidy and evaluation of the fruit quality. It can be observed that the apirenic genotype in many characteristics was not different to pirenic genotype. It was verified that the pirenic genotype presented a longer period of flowering and fruiting and, presented a higher number of pollen by flower compared to apirenic genotype. The apirenic genotype can serve as a basis for crosses directed in the fruit breeding of Surinan cherry, to try obtaining new hybrids, with this characteristic, already that, this fruit present quality to in nature or industry market.

**Key words:** *Eugenia uniflora*. Myrtaceae. Embryogenesis. fruit without seeds.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

<b>Figura 1:</b> Médias mensais das temperaturas (°C) máxima e mínima e precipitação (mm) nos anos de 2013, 2014 e 2015. Dados coletados na estação meteorológica da UTFPR, Dois Vizinhos.....	56
<b>Figura 2.</b> Visitação de abelha ( <i>Apis mellifera</i> ) em flores de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) entre 8 h às 10 h da manhã. Detalhe da floração em massa, tipo big-bang.....	58
<b>Figura 3:</b> Estágios de desenvolvimento do grão de pólen de pitangueira com e sem semente. A e B: Grãos de pólen após a meiose, Tétrade; C e D: Grãos de pólen maduros. Preparações por esmagamento (squash) e tingidas com Azul de Anilina. E e F: Anteras contendo Grãos de polens maduros. Secções em parafina de 10µm e tingidas com Azul de Anilina. Barras de escala: A, B, C e D = 50µm; E e F = 100µm.....	60
<b>Figura 4:</b> Balões florais de pitangueira pirênica (A e B) e apirênica (C e D), no estágio 0B, onde foi possível identificar as tétrades. Observações feitas na Lupa.....	61
<b>Figura 5:</b> Pistilos de flores de pitangueira com e sem semente. A e B: Grãos de pólen germinados no estigma; C e D: Tubos polínicos crescendo ao longo do estilo; E e F: Tubos polínicos chegando a base do estilo. Preparações por esmagamento (Squash) e tingidas com Azul de Anilina. Barra de escala = 100µm.....	64
<b>Figura 6:</b> Tubos polínicos em flores de pitangueira com e sem semente de acordo com os dias após a antese. A: Flores (%) com tubos polínicos na base do estilo; B: Longitude (%) do tubo polínico ao longo do estilo; C: Número de tubos polínicos na base do estilo.....	66
<b>Figura 7:</b> Estádios fenológicos da pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) utilizando a nomenclatura para espécies frutíferas de acordo com a escala geral BBCH.....	69
<b>Figura 8:</b> Peso do fruto e da semente (g) (A e B) e diâmetro do fruto e da semente (mm) (C e D), das flores de pitangueira pirênica e apirênica de acordo com os dias após a antese.....	72
<b>Figura 9:</b> Estádios de desenvolvimento do fruto e semente de pitangueira pirênica (Estádios: 6 (A), 8(B), 9(C), 10 (D), 11 (E), 13 (F), 15 (G), 18 (H), 21 (I), 23 (J), 25 (K), 30 (L), 35 (M), 37 (N) e 40 (O) dias após a antese).....	74
<b>Figura 10:</b> Estádios de desenvolvimento do fruto e semente de pitangueira apirênica (Estádios: 6 (A), 8(B), 9(C), 10 (D), 11 (E), 13 (F), 15 (G), 18 (H), 21 (I), 23 (J), 25 (K), 30 (L), 35 (M), 37 (N) e 40 (O) dias após a antese).....	75
<b>Figura 11:</b> Quantificação de óvulos no ovário de <i>E. uniflora</i> , pirênica (A) e apirênica (B). Observações feitas na lupa (aumento 4x).....	81

- Figura 12:** Secções longitudinais de óvulos de flores de pitangueira pirênica e apirênica. A e B: Óvulos unitegumentados, ou seja, apenas um tegumento; C e D: Óvulos hemicampilótrofo; Secções em resina de 2µm e tingidas com PAS e Azul de Toluidina. Barras de escala: A, B, C e D = 100µm.....83
- Figura 13:** Secções longitudinais de óvulos de flores de pitangueira pirênica e apirênica cinco dias após a antese. A e B: Ovário com inúmeros óvulos; C e D: Óvulo com detalhe da micrópila; E e F: Óvulos com detalhe do saco embrionário; G e H: Óvulo após fertilização. Secções em resina de 2µm e tingidas com PAS e Azul de Toluidina. Barras de escala: A e B = 200µm; C e D = 50µm; E e F = 20µm; G e H = 100µm. (te) – tegumento; (mi) – micrópila; (se) – saco embrionário; (an) – antípodas; (np) – núcleo polar; (zi) – zigoto; (si) – sinérgides; nu - nucelo.....84
- Figura 14:** Secções longitudinais de óvulos de flores de pitangueira pirênica e apirênica. A: Óvulo com zigoto em formação cinco dias após a antese; B: Óvulo com zigoto formado cinco dias após a antese; C e D: Óvulo com zigoto formado oito dias após a antese. Secções em resina de 2µm e tingidas com PAS e Azul de Toluidina. Barras de escala: A e B = 100µm. (zi) – zigoto.....86
- Figura 15:** Secreção e calose em óvulos de pitangueira pirênica e apirênica. A e B: Tubos polínicos entre os óvulos e o obturador; C e D: Estruturas dos óvulos. Secções em parafina de 10µm e tingidas com Azul de Anilina. Barras de escala: A e B = 50µm; C e D = 100µm (40x). (tp) – tubo polínico; (ca) - calose.....89
- Figura 16:** Secções transversais do ovário de flores de pitangueira pirênica e apirênica seis dias após a antese. A e B: Ovário com inúmeros óvulos e tubos polínicos entre os óvulos; C e D: Tubos polínicos no loco; E: Tubo polínico entrando pela micrópila; F: Óvulo com embrião, porém sem entrada de tubo polínico pela micrópila. G e H: Tubos polínicos entre os óvulos e detalhe da secreção e calose nos óvulos e obturador. Secções em parafina de 10µm e tingidas com Azul de Anilina. Barras de escala: A e B = 200µm; C, D, E, F, G e H = 50µm. Setas apontando para tubos polínicos no ovário.....91
- Figura 17:** Secções longitudinais de óvulos de flores de pitangueira pirênica e apirênica. A e B: Óvulo antes da antese (estágio 0B); C e D: Óvulos cinco dias após a antese; E e F: Óvulos oito dias após a antese. Secções em resina de 2µm e tingidas com PAS e Azul de Toluidina. (np) Núcleo Polar; (si) Sinérgides; (te) Tegumento; (se) Saco embrionário; (mi) Micrópila; (nu) Nucela; (em) Embrião. Barras de escala: A, B, C e D = 100µm; E e F = 50µm .....93
- Figura 18:** Secções longitudinais de óvulos de flores de pitangueira pirênica e apirênica, com detalhe dos grãos de amido. A e B: Óvulos de balões florais antes da antese; C e D: Óvulos 5

dias após a antese; E e F: Óvulos 8 dias após a antese; G e H: Cavidades secretoras, 5 dias após a antese. Secções em resina de 2 $\mu$ m e tingidas com PAS e Azul de Toluidina. Setas menores apontando para grãos de amido, e setas maiores apontando outras substâncias depositadas. Barras de escala = 50 $\mu$ m.....96

**Figura 19:** Óvulos de pitangueira pirênica e apirênica, A e B: 0 dias, correspondente a flores ainda em balão; C e D: 6 dias após a antese; E e F: 8 dias após a antese; G e H: 10 dias após a antese; I e J: 14 dias após a antese; K: 17 dias após a antese, já degenerados; L: Ovário com óvulos todos saltados; M e N: 21 dias após a antese, degenerados; O e P: 24 dias após a antese, muitos degenerados e formação da semente. Secções em parafina de 10 $\mu$ m e tingidas com Gerlach. Barras de escala: C, D, E, F, G, H, I e J = 50 $\mu$ m; K, L, M e N = 100 $\mu$ m; A, B, O e P = 200 $\mu$ m.....99

**Figura 20:** Citometria de fluxo do conteúdo de DNA em folhas de pitangueira apirênico (A); pirênico, acesso 1 (B) e acesso 2 (C), em escala logarítmica.....105

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1:</b> Principais estádios de crescimento de acordo com a escala geral BBCH.....	53
<b>Tabela 2.</b> Quantificação das fases fenológicas dos dois acessos de pitangueira, sendo com produtor de frutos com semente e outro sem semente.....	54
<b>Tabela 3.</b> Período inicial e final da frutificação dos dois acessos de pitangueira, sendo com produtor de frutos com semente e outro sem semente.....	56
<b>Tabela 4:</b> Número médio de anteras por flor, de grãos de pólen por antera e de pólen por flor, em flores de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) do acesso pirêico e apirênico.....	59
<b>Tabela 5:</b> Germinação in vitro de pólen (%) obtidas após 3, 5, 7, 9 e 24 horas de incubação a 25°C, de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) pirênico e apirênico coletados de balões florais e flores após a antese.....	62
<b>Tabela 6:</b> Frutificação efetiva (%) em plantas de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) pirênica e apirênica, submetidos a diferentes tratamentos de polinização (T1 – ramos ensacados com TNT; T2 – ensacados com tela anti-afídeo; T3 – polinização livre).....	70
<b>Tabela 7:</b> Número de óvulos em ambos os locos e tamanho do ovário dos acessos de pitangueira pirênica e apirênica, cujas contagens foram realizadas em óvulos nos estágios 0 (antes da antese), 1, 2 e 3 dias após a antese.....	82
<b>Tabela 8:</b> Peso do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente e, sólidos solúveis totais (SST), de 22 acessos de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2012.....	111
<b>Tabela 9:</b> Peso do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente e sólidos solúveis totais (SST), de 22 acessos de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2013.....	114
<b>Tabela 10:</b> Peso do fruto e da semente e diâmetro do fruto e da semente de 21 acessos de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ), da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2015...116	

## SUMÁRIO

<b>1. INTRODUÇÃO GERAL.....</b>	<b>28</b>
<b>2. REVISÃO DE LITERATURA.....</b>	<b>29</b>
2.1 FRUTEIRAS NATIVAS.....	29
2.1.1 Família Myrtaceae.....	31
2.1.1.1 <i>Eugenia uniflora</i> L. ....	31
2.2 FENOLOGIA REPRODUTIVA .....	34
2.3 BIOLOGIA REPRODUTIVA.....	36
2.3.1 Apirênia.....	37
2.3.2 Germinação do Pólen.....	38
2.4 EMBRIOGÊNESE.....	40
<b>3. CAPITULO I: BIOLOGIA FLORAL, REPRODUTIVA E MORFOMETRIA DE FRUTOS E SEMENTES DE PITANGUEIRA PIRÊNICA E APIRÊNICA.....</b>	<b>43</b>
<b>3.1 RESUMO.....</b>	<b>43</b>
<b>3.2 ABSTRACT.....</b>	<b>43</b>
<b>3.3 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>44</b>
<b>3.4 MATERIAL E MÉTODOS .....</b>	<b>47</b>
3.4.1 LOCAL DE COLETA DO MATERIAL.....	47
3.4.2 BIOLOGIA FLORAL.....	47
3.4.2.1 Antese, senescência floral e frutificação de <i>E. uniflora</i> .....	47
3.4.2.2 Quantificação do número de anteras por flor e pólen por antera.....	48
3.4.3 BIOLOGIA REPRODUTIVA.....	49
3.4.3.1 Caracterização do pólen de <i>E. uniflora</i> .....	49
3.4.3.2 Germinação in vitro do pólen.....	50
3.4.3.3 Germinação do pólen em condições naturais e crescimento do tubo polínico.....	51
3.4.3.4 Codificação BBCH dos estádios fenológicos de <i>E. uniflora</i> .....	52
3.4.3.5 Frutificação efetiva.....	53
3.4.4 MORFOMETRIA DE FRUTOS DE <i>E. uniflora</i> .....	54
<b>3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>54</b>
3.5.1 BIOLOGIA FLORAL.....	54
3.5.1.1 Antese, senescência floral e frutificação de <i>E. uniflora</i> .....	54
3.5.1.2 Quantificação do número de anteras por flor e pólen por antera.....	58
3.5.2 BIOLOGIA REPRODUTIVA.....	59
3.5.2.1 Caracterização do pólen de <i>E. uniflora</i> .....	59

3.5.2.2 Germinação in vitro do pólen.....	62
3.5.2.3 Germinação do pólen em condições naturais e crescimento do tubo polínico.....	63
3.5.2.4 Codificação BBCH dos estágios fenológicos de <i>E. uniflora</i> .....	66
3.5.2.5 Frutificação efetiva.....	70
3.5.3 MORFOMETRIA DE FRUTOS DE <i>E.uniflora</i> .....	71
<b>3.5 CONCLUSÕES.....</b>	<b>75</b>
<b>4. CAPITULO II: EMBRIOGÊNESE E ONTOGÊNESE EM <i>E. uniflora</i> PIRÊNICA A APIRÊNICA.....</b>	<b>77</b>
<b>4.1 RESUMO.....</b>	<b>77</b>
<b>4.2 ABSTRACT.....</b>	<b>77</b>
<b>4.3 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>78</b>
<b>4.4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>80</b>
<b>4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>81</b>
4.5.1 QUANTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO ÓVULO E OVÁRIO DE <i>E. uniflora</i> .....	81
4.5.1.1 Presença de tubos polínicos no ovário.....	89
4.5.2 EMBRIOGÊNESE APÓS A FECUNDAÇÃO.....	92
4.5.2.1 Degeneração dos óvulos.....	97
<b>4.6 CONCLUSÕES.....</b>	<b>100</b>
<b>5. CAPITULO III: NÍVEIS DE PLOIDIA EM ACESSOS DE PITANGUEIRA (<i>E. uniflora</i>) PIRÊNICA E APIRÊNICA.....</b>	<b>101</b>
<b>5.1 RESUMO.....</b>	<b>101</b>
<b>5.2 ABSTRACT.....</b>	<b>101</b>
<b>5.3 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>102</b>
<b>5.4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>103</b>
<b>5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>104</b>
<b>5.6 CONCLUSÕES.....</b>	<b>106</b>
<b>6. CAPITULO IV: QUALIDADE DOS FRUTOS DE ACESSOS DE PITANGUEIRA (<i>E. uniflora</i>).....</b>	<b>108</b>
<b>6.1 RESUMO.....</b>	<b>108</b>
<b>6.2 ABSTRACT.....</b>	<b>108</b>
<b>6.3 INTRODUÇÃO.....</b>	<b>109</b>
<b>6.4 MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>110</b>
<b>6.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....</b>	<b>111</b>
<b>6.6 CONCLUSÕES.....</b>	<b>119</b>



<b>7. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>120</b>
<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>121</b>
<b>ÍNDICE DE APÊNDICES.....</b>	<b>150</b>
<b>APÊNDICES.....</b>	<b>155</b>

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

O Brasil se destaca por ser um dos principais centros de diversidade genética de fruteiras silvestres do mundo. Entretanto, muito pouco se conhece sobre a maioria destas espécies. No Sul do país, as fruteiras nativas assumem papel importante, com potencial para exploração econômica, principalmente quando relacionadas aquelas da família Myrtaceae (FRANZON, 2008).

Para desenvolver esse potencial econômico são necessárias pesquisas básicas, principalmente as relacionadas ao melhoramento genético e a propagação assexuada. Assim, pode ser alterado esse quadro de negligenciadas para opção de cultivo, permitindo com os estudos ser lançadas e mantidas cultivares atrativas para o mercado, com frutos de qualidades em relação ao tamanho, forma, coloração e sabor, aliado a capacidade produtiva da planta, época de maturação dos frutos, além de resultados mais rápidos após a implantação de pomares (GOMES et al., 2007).

A pitangueira (*Eugenia uniflora* L.), cujo nome indígena vem do tupi, pi'tãg, que significa vermelho (DONADIO et al., 2002) é originária da região que se estende desde o Estado de Minas Gerais até o Rio Grande do Sul, demonstrando dessa maneira ampla adaptação a diferentes condições edafoclimáticas. No entanto, está distribuída por quase todo o território brasileiro, como também em algumas partes do mundo (BEZERRA et al., 2000; DONADIO et al., 2002). É árvore que pode atingir entre três a 12 m de altura, com copa arredondada, tronco tortuoso, com pecíolo curto e flores hermafroditas (FRANZON, 2004).

Normalmente, é possível encontrar em cada fruto de uma a duas sementes, porém, em alguns casos encontram-se até três ou quatro. A maioria dos frutos de pitangueira é formada por 66% de polpa e 34% de semente (VILLACHICA et al., 1996), o que é desvantajoso para comercialização e/ou beneficiamento, já que o rendimento de polpa é baixo, principalmente para indústria de sucos, que absorve maior parte da produção.

Por isso, o uso de plantas produtoras de frutos com ausência de sementes torna-se vantajoso para a produção comercial, facilitando para o maior rendimento da polpa e manuseio pela indústria, fator talvez que pode alavancar a implantação de pomares comerciais com esta espécie.

Na videira, por exemplo, devido à produção de uvas apirênicas, foi possível colocá-la entre as frutas brasileiras mais exportadas. No ano de 2005, ocupou o 2º lugar

em exportação, apresentando crescimento de 171% em relação ao ano de 2004 (JORNAL DA FRUTA, 2005), números estes relacionados a expansão de sua área de cultivo.

Esta ausência de sementes em videira foi resultante de dois processos biologicamente distintos, a partenocarpia ou a estenoespermocarpia (PRATT, 1971). Nos frutos partenocárpicos ocorre o desenvolvimento do ovário sem a fecundação prévia dos óvulos, não havendo, portanto, sementes no interior do fruto (DAMIÃO FILHO; MÔRO, 2001).

No processo de estenoespermocarpia, o desenvolvimento do embrião e do endosperma inicia-se após a fertilização, mas os tecidos do endosperma degeneram prematuramente, levando à produção de frutos contendo traços de sementes não esclerificados. Cronologicamente, a degeneração do endosperma e conseqüentemente morte do embrião ocorrem de três a seis semanas após a antese, com o embrião atingindo, no máximo, estágio globular (PRATT, 1971; CAMARGO et al., 1999).

Segundo Matheou et al. (1995), a apirenia é controlada por genes recessivos e sua herdabilidade é significativamente influenciada pelo genótipo materno. Porém, o comportamento que provoca tal efeito na pitangueira ainda permanece sem respostas, já que até então, não haviam sido encontrados registro de outros genótipos que produzissem todos os frutos em única planta com tal característica.

Como na área da coleção de frutas nativas da UTFPR - Câmpus Dois Vizinhos foi identificado um acesso de pitangueira produtora de frutos apirênicos, este poderá servir de base para realização de estudos buscando-se entender a causa e tipo de apirenia nesta espécie, com alguns conhecimentos básicos poder-se-á usar essa característica comercialmente.

Dessa forma, com tais esclarecimentos pode-se fazer uso desse comportamento durante os cruzamentos dirigidos no melhoramento genético da cultura, buscando-se novo híbridos ou somente partir para propagação deste genótipo.

O objetivo deste trabalho foi buscar elucidar as possíveis causas da apirenia em pitangueira (*E. uniflora* L.).

## **2. REVISÃO DE LITERATURA**

### **2.1 FRUTEIRAS NATIVAS**

A flora brasileira é rica em espécies frutíferas que apresentam frutos comestíveis saborosos. Estas espécies estão presentes em muitos centros brasileiros de diversidade, os quais abrangem diferentes ecossistemas tropicais, subtropicais e temperados. Entretanto, apresentam a mais ampla variabilidade nos Centros de Diversidade que são classificados como centros Nordeste/Caatinga, Sul-Sudeste, Brasil Central/Cerrado, e em todos os setores do centro Mata Atlântica, que engloba as regiões costeiras da Paraíba ao Rio Grande do Sul (GIACOMETTI, 1993).

Apesar da existência de tais centros, o Brasil vem se destacando nos últimos anos, praticamente, pela produção de frutas exóticas, havendo exportado anualmente volume de produção considerável, no qual envolveram mais de 90 milhões de toneladas de frutas, o que o classifica entre os três maiores produtores mundiais. Entretanto, as fruteiras nativas do Brasil, mesmo tendo potencial para consumo in natura e para uso pela indústria farmacêutica, de cosméticos e alimentícia, já que seus frutos são ricos em vitaminas e em substâncias antioxidantes, assim como óleos essenciais, ainda são pouco exploradas (MARIN et al., 2004).

Todavia, a partir do início dos anos 80, o interesse em encontrar antioxidantes naturais para o emprego em produtos alimentícios ou para uso farmacêutico aumentou consideravelmente. Tal interesse tem o intuito de substituir antioxidantes sintéticos, pelos quais têm potencial de certa toxicidade (CURTI, 2003).

Com a busca por produtos naturais e com a crescente utilização de compostos antioxidantes em terapias preventivas de doenças, nas quais os radicais livres estão implicados, as vitaminas e flavonoides naturais, tem merecido atenção especial (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2000) e encontram-se presentes nas frutas nativas.

Vários estudos demonstraram que algumas espécies nativas tem compostos com ação antioxidante como *Psidium guajava* (goiaba) (MELO et al., 2008a), *E. dysenterica* (cagaita) (ROESLER et al., 2007), *E. uniflora* (pitanga) (MELO et al., 2008b; BAGETTI, 2009), *E. pyriformis* Camb. (uvaia), *E. involucrata* DC. (cereja-do-mato) e *Plinia sp.*, Berg (jaboticaba) (SCHLLEMER et al., 2009), sendo todas estas pertencentes a família Myrtaceae (DANNER, 2009).

Dessa forma, acredita-se que o quadro de negligência presente com a maioria das fruteiras nativas seja revertido, pois o interesse crescente dos consumidores aumenta a sua demanda, o que desperta o interesse de produtores ávidos por nichos de mercado.

### 2.1.1 Família Myrtaceae

A família Myrtaceae é uma das maiores famílias botânicas, compreendendo aproximadamente em 130 gêneros e 4.000 espécies, com distribuição predominantemente em regiões tropical e subtropical (SOUZA; LORENZI, 2005; MANICA, 2002).

As espécies da família Myrtaceae são uma das mais importantes na estrutura das florestas brasileiras, em especial na floresta pluvial atlântica (MORI et al., 1983). Essa família é também, a de maior riqueza de espécie nos neotrópicos, abrangendo cerca de 10-15% do total de espécies arbóreas nas florestas úmidas e no Cerrado do leste brasileiro (LUCAS et al., 2007).

Todas as espécies brasileiras desta família estão incluídas na tribo Myrteae, nas quais são produtoras de frutos carnosos (LANDRUM; KAWASAKI, 1997).

As Myrtaceae apresentam ampla representatividade nas diferentes formações vegetais do Brasil, especialmente na Floresta Atlântica (LANDRUM; KAWASAKI, 1997; SILVA, 2000; GUILHERME et al., 2004), com destaque em diversos estudos como uma das famílias mais representativas nas florestas do Sul e Sudeste do Brasil (ARANTES, 1997).

Dentre os gêneros da família Myrtaceae, quatro possuem importância econômica na fruticultura, sendo eles, *Eugenia*, *Acca*, *Plinia* e *Psidium* (MANICA, 2002).

Dentre estes gêneros da família destaca-se a *Eugenia*, com cerca de 1000 espécies, de porte arbóreo ou arbustivo, distribuídas, principalmente, nas Américas Central e do Sul (MERWE et al., 2005). Os frutos das *Eugenias* são bagas, geralmente comestíveis, coroados pelo cálice e achatados nas extremidades (AURICCHIO; BACCHI, 2003), muitos dos quais são usados como alimento, a exemplo da *E. uniflora* (FISCHER et al., 2005), que é uma das espécies mais conhecidas e apreciadas do gênero (CONSOLINI et al., 1999).

#### 2.1.1.1 *Eugenia uniflora* L.

A pitangueira pertence à classe Magnoliopsida, subclasse Rosidae, ordem Myrtales, família Myrtaceae, gênero *Eugenia* e espécie *E. uniflora* L. (CRONQUIST, 1988).

A pitangueira é árvore com cerca de seis a 12 m de altura, podendo ser utilizada no paisagismo ou cultivada em pomares domésticos. O tronco geralmente é curto, tortuoso e com 20 a 50 cm de diâmetro, tendo casca que pode ser lisa ou rugosa, apresentando manchas claro-acinzentadas, resultado da deiscência em placas irregulares (MARCHIORI, 1997).

Segundo descrições de Sanchotene (1985) e Villachica et al. (1996), as folhas são opostas, simples, com pecíolo curto de mais ou menos 2,0 mm. O limbo é oval ou oval-lanceolado, de 2,5 a 7,0 cm de comprimento e 1,2 a 3,5 cm de largura, nervura central saliente na parte inferior e quando macerado, exala odor característico.

As flores são hermafroditas, solitárias ou fasciculadas (4 a 8), na axila das brácteas dos ramos jovens; pedicelo filiforme de 1,0 a 3,0 cm de comprimento; cálice com quatro sépalas de 2,5 a 4,0 mm de comprimento; corola com quatro pétalas, livres, branco-creme, caducas, ovaladas, de 6,0 a 8,0 mm de comprimento.

Apresenta inúmeros estames; possui ovário bilocular, com vários óvulos; estilete filiforme, com 6 mm de comprimento e estigma capitado. O florescimento ocorre entre agosto e novembro e, o amadurecimento dos frutos entre outubro e janeiro. O fruto é do tipo drupa, contendo de uma a duas sementes, apresentando entre outros nutrientes, a vitamina C (LORENZI, 2002).

A *E. uniflora*, é fruteira com grande potencial para exploração econômica, principalmente em nichos de mercado ávidos por novidades. Além da possibilidade de exploração para consumo in natura, os frutos da pitangueira podem ser utilizados pela agroindústria (MARIN et al., 2004), como também ser recomendada para uso em reflorestamentos destinados à recomposição de áreas degradadas de preservação permanente, visando proporcionar alimento a avifauna. Além disso, é usada na ornamentação em parques e jardins, além de possuir óleos essenciais, os quais são utilizados pela indústria de cosméticos e farmacêutica (KORBES, 1995).

A principal forma de propagação desta fruteira é por semente, porém, esta apresenta comportamento recalcitrante (NEVES, 1994), sendo sensível à desidratação, fazendo com que na fase final da maturação do embrião não passem pela fase de dessecação, pois são dispersas com grau de umidade relativamente alto (BERJAK; PAMMENTER, 2000).

No Brasil, alguns trabalhos (BEZERRA et al., 1999; BEZERRA et al., 2002), com propagação vegetativa da pitangueira, recomendaram a utilização da enxertia por garfagem, devido ao menor tempo para a formação da muda e aos resultados

insatisfatórios até então obtidos com as outras técnicas.

Franzon (2008), testando a enxertia de garfagem no topo em fenda cheia, na saída do inverno, indica-a como a mais indicada para ser utilizada na propagação vegetativa da pitangueira. Porém, existe diferença entre genótipos desta espécie quanto à capacidade de sobrevivência na enxertia de garfagem de topo em fenda cheia, cujos percentuais variaram de 40,0% e 87,5% entre os genótipos avaliados.

Outra técnica promissora é a mini-estaquia, a qual demonstrou ser satisfatória para pitangueira (HOSSEL, 2016).

Tais estudos com propagação se fazem necessários e importantes para cultura, principalmente visando o estabelecimento de pomares comerciais por meio do uso de clones de genótipos selecionados ou recomendados para plantio.

No Nordeste brasileiro, genótipos com elevado potencial produtivo e boas características agrônomicas foram selecionados pela Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA (BEZERRA et al., 1995; 1999). Estes trabalhos de seleção resultaram no lançamento da primeira cultivar brasileira de pitangueira, denominada “Tropicana” (BEZERRA et al., 2004; 2008), que apresenta como principais vantagens a capacidade produtiva, que é de 20,8 Kg de frutos ano<sup>-1</sup> (média de dez anos), peso médio de fruto variando de 3 a 4,5 gramas, polpa avermelhada e relação SST/Acidez (ratio) de 4,1 (IPA, 2000).

No Sul do Brasil, pesquisadores da Embrapa Clima Temperado, em Pelotas-RS, também realizaram estudos agrônomicos com algumas fruteiras nativas da região, dentre as quais a pitangueira se destacou, com existência de trabalhos adiantados envolvendo a seleção de clones (FRANZON et al., 2004).

No Brasil, particularmente no Nordeste, a principal utilização da pitanga está no aproveitamento industrial ou doméstico, sendo para o preparo de polpas e sucos, como também na fabricação de sorvete, picolé, refrescos, geléias e licor (DONADIO, 1983; FERREIRA et al., 1987; LEDERMAN et al., 1992). O valor comercial dessa fruta reside na pouca oferta do mercado (BEZERRA et al., 2000).

O que se observa é ampla diversidade genética manifestada na cor do fruto maduro, encontrando-se desde o vermelho-claro até o quase negro. Mattos (1993) registrou a existência de variedade botânica denominada pitanga-preta (*E. uniflora* var. rubra Mattos), cujos frutos são de coloração atropurpúrea. Outros caracteres bastante variáveis são o tamanho do fruto (entre 1,5 e 5 cm de diâmetro), presença e ausência de sulcos, acidez, teor de sólidos solúveis totais e número de sementes.

Além desses, há diferenças na tolerância às geadas e à seca, sendo que, alguns genótipos selecionados pela Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA são mais tolerantes ao estresse hídrico que outros (NOGUEIRA et al., 2000).

No que se refere à produção e comercialização de frutos de pitangueira, não se dispõe de dados oficiais. No entanto, acredita-se que o Brasil seja o maior produtor mundial desta fruta. Os maiores plantios de que se tem registro estão localizados em Pernambuco, onde somente na região de Bonito e municípios vizinhos, como Barra de Guabiraba, há cerca de 300 ha cultivados com tal fruteira. A maior área plantada do país (50 ha) pertence à Bonito Agrícola Ltda - Bonsuco (BEZERRA et al., 2000). Na Bahia, com áreas cultivadas no Extremo Sul, destaca-se os plantios da Frutelli (36 ha) (SILVEIRA, 1997), e da Fazenda Esperança (16 ha), em Porto Seguro (BEZERRA et al., 2000).

No sul do Brasil, as áreas com presença de pitangueira envolvem remanescentes florestais ou fundos de quintais.

Com a demanda crescente dos mercados interno e externo por produtos à base de frutas nativas e de sabor exótico, vislumbra-se a possibilidade de crescimento do mercado interno em pelo menos 100% sobre o volume atual com esta fruta.

Contudo, a elevada perecibilidade da pitanga faz com que o mercado da fruta in natura torne-se restrito aos centros próximos às regiões de plantio, com a comercialização ocorrendo apenas durante o período de colheita, encontrando-se na entressafra apenas a polpa congelada. De maneira geral, é considerada fruta que não tem problema de comercialização, desde que seus plantios situem-se próximos ao local de beneficiamento (GOUD et al., 1997).

Assim, a venda da polpa ou a utilização desta em processamento, são alternativas que possibilitam a comercialização durante o ano todo e até atingir mercados externos.

## 2.2 FENOLOGIA REPRODUTIVA

A fenologia é o estudo das fases ou atividades do ciclo de vida de plantas envolvendo sua ocorrência temporal ao longo do ano, contribuindo para o entendimento dos padrões reprodutivos e vegetativos de plantas que delas dependem (MORELLATO, 1995). Além do estudo da ocorrência de eventos biológicos repetitivos, sua relação às forças seletivas bióticas e abióticas, assim como a inter-relação entre as fases



caracterizadas nestes eventos, analisados dentro de uma ou de várias espécies (TALORA; MORELLATO, 2000). Os estudos fenológicos das espécies vegetais são importantes para a compreensão da dinâmica dos ecossistemas florestais e para o entendimento da reprodução das plantas, além de terem importância ecológica, pois permitem estabelecer a época em que folhas, flores, frutos e sementes estão disponíveis aos animais na comunidade (MORELLATO et al., 2000).

Os estudos sobre fenologia reprodutiva de espécies arbóreas em áreas florestais são necessários para fornecer parâmetros com vistas à conservação e exploração racional, conciliando sustentabilidade com economicidade (FANTINI et al., 1992; REIS, 1996; REIS et al., 2000).

Assim, o conhecimento da floração e frutificação permite prever períodos de reprodução das plantas, seus ciclos de crescimento e outras características de grande valia no manejo florestal (FOURNIER, 1974; 1976).

Estudos fenológicos envolvendo observação direta de plantas têm utilizado, em sua maioria, dois métodos de avaliação, denominados como qualitativa e quantitativa. Na qualitativa envolve apenas a presença ou ausência da fenofase considerada e na quantitativa, têm-se a aplicação de categorias de quantificação que estimam a intensidade do evento fenológico em cada indivíduo (BULLOCK; SOLIS-MAGALLANES 1990; MORELLATO et al.1990, 2000; SMITH-RAMIREZ; ARMESTO, 1994; SUN et al.1996; TALORA; MORELLATO, 2000).

Porém, apesar da importância da família Myrtaceae na estrutura dos biomas brasileiros, há poucos estudos sobre a fenologia reprodutiva de suas espécies (STAGGEMEIER et al., 2007).

Portanto, esses estudos são necessários para contribuição do conhecimento das espécies desta família, que tem grande dominância em vários biomas, muitos dos quais são complexos e ameaçados (STAGGEMEIER et al., 2007). Por isso, se fez a escolha da *E. uniflora*, importante espécie desta família.

A *E. uniflora* apresenta a fenofase de floração no final do inverno, entre agosto a outubro, frutificando entre setembro a novembro. Apresenta nova fenofase de floração entre fevereiro e março e, novos frutos imaturos em abril. Possui poucas folhas de maio a junho e inicia nova brotação no período de aparecimento de botões florais, ou seja, em agosto e fevereiro (ALVES et al., 2010). A brotação nesta época está correlacionada com aumentos da temperatura média e do fotoperíodo (MARCHIORETTO et al., 2007).

### 2.3 BIOLOGIA REPRODUTIVA

O conhecimento da biologia reprodutiva (biologia floral e mecanismos reprodutivos da espécie) é essencial para o desenvolvimento de programas de melhoramento genético e compreensão do processo de domesticação (SILVA et al., 2001).

O modo de reprodução de uma espécie torna-se importante devido a vários aspectos, como, no manejo e preservação de recursos genéticos vegetais (SOUZA, 1996). No melhoramento genético, é fundamental para maior êxito da utilização de espécies nativas no sistema de produção de frutas. Estudos da interação pólen-pistilo, bem como, o conhecimento da maneira e no momento em que ocorre a fecundação, são alguns dos aspectos que devem ser estudados para elucidar o processo reprodutivo (FRANZON, 2008).

Nas angiospermas, o gineceu é dividido em estigma, estilo e ovário. Mesmo ocorrendo grande variação da morfologia floral, o desenvolvimento do tubo polínico no pistilo da flor é processo preservado na maioria das espécies, germinando no estigma, crescendo através do estilo e entrando no ovário (HERRERO, 2003).

A polinização ocorre com a chegada do pólen ao estigma das flores, que pode ocorrer por contato direto da antera com o estigma ou por agentes polinizadores (JOHRI et al., 2001). A polinização por insetos, a forma mais comum em fruteiras, é realizada principalmente por abelhas (RODRIGO E HERRERO, 2000).

A pitangueira é autocompatível, porém, necessita de insetos polinizadores para melhorar a frutificação (FRANZON, 2008). Tal fruteira pode ser considerada auto-fértil, pois o pólen germina e cresce no pistilo da própria flor, chegando até os óvulos ocorrendo sua fecundação (FRANZON, 2004).

Contudo, estudos sobre a biologia reprodutiva de Myrtaceae brasileiras são raros (FRANZON, 2008), podendo citar-se o trabalho de Silva et al. (2006) com pitangueiras, no qual observaram que a frutificação pode ocorrer por geitonogamia, ocorrendo polinização com a transferência do pólen entre flores da mesma planta. Todavia, tais autores descreveram que pode haver também por autopolinização passiva.

Franzon (2004) em seu estudo sobre o crescimento do tubo polínico no pistilo da flor de pitangueira observou que provavelmente esta não apresenta auto-incompatibilidade, pois, o pólen germina e cresce normalmente no pistilo da própria planta, ocorrendo também fecundação de óvulos.

Franzon (2008) avaliou a biologia reprodutiva de pitangueira, sendo o desenvolvimento dos tubos polínicos até a chegada ao ovário normal e contínuo, alcançando a base do estilo a partir do terceiro dia.

### 2.3.1 Apirenia

O termo semente é utilizado para designar um óvulo maduro, possuindo embrião em algum estágio de desenvolvimento, material de reserva alimentar e envoltório protetor, o tegumento. Entretanto, de acordo com os mesmos autores, algumas espécies apresentam a poliembrionia que, nada mais é do que a formação de vários embriões a partir de único zigoto, derivados da oosfera fecundada (DAMIÃO FILHO; MÔRO, 2001).

A ausência de sementes que ocorre em frutos como a uva é denominada de apirênia, no qual é controlada por genes recessivos e sua herdabilidade é significativamente influenciada pelo genótipo maternal (MATHEOU et al., 1995). Estes frutos apirênicos são desejados pelo mercado que os processa, pois a presença de sementes dificulta seu aproveitamento e manuseio, como é o caso das pimentas para preparo de temperos, salsas e pastas (SHIFRISS; EIDELMAN, 1986), da uva (*Vitis vinifera* L.) e do citros (*Citrus sp.*). Entretanto, para o gênero *Eugenia*, não existem relatos na literatura científica.

Uma planta é considerada apirênica quando é capaz de produzir frutos sem sementes, com traços de sementes ou com sementes reduzidas em número e tamanho (VAROQUAUX et al., 2000).

A pitangueira possui sementes grandes, o que é desvantajoso na produção comercial, já que o rendimento de polpa é baixo. Por isso, a apirênia é característica altamente desejável para diversas espécies.

Existem dois tipos de apirênia, a partenocarpia e a estenospermocarpia (MULLINS et al., 1992)

De acordo com Damião Filho e Môro (2001), nos frutos partenocárpicos ocorre o desenvolvimento do ovário sem a fecundação prévia dos megasporângios (óvulos), não havendo, portanto, sementes no interior do fruto, como no limão Tahiti, bananeira, certas variedades de macieira e pereira. Da mesma forma, em uva, a partenocarpia ocorre quando as bagas desenvolvem-se sem ter ocorrido fertilização, sendo inteiramente sem sementes e o fruto é desenvolvido exclusivamente a partir de tecidos

maternos. A partenocarpia é atribuída à formação defeituosa do saco embrionário e o desenvolvimento do fruto depende do estímulo ao aumento do conteúdo de auxinas, através de incisão anelar ou aplicação de reguladores de crescimento (WINKLER, 1965).

Alguns reguladores vegetais como a giberelina, auxina e citocinina estão sendo utilizados para estimular esse efeito. A giberelina quando aplicada exógenamente nas plantas, promove a partenocarpia (CANO-MEDRANO; DARNELL, 1997), como é o caso das pimentas (TOFANELLI et al., 2003), sendo o GA<sub>3</sub> o mais utilizado por produzir frutos bem similares àqueles produzidos em condições normais (RODRIGO; GARCÍA-MARTÍNEZ, 1998).

A estenoespermocarpia é o termo utilizado quando ocorrem polinização e fertilização normal, seguida pelo aborto do embrião ainda imaturo, devido à ausência ou má formação do endosperma. Desse processo, originam-se frutos maduros com sementes pouco desenvolvidas e macias, imperceptíveis ao consumidor (STOUT, 1936). Na maioria dos casos, o aborto do embrião ocorre depois de oito semanas da fecundação (POMMER et al., 1995), mas pode aparecer de duas a 10 semanas após a polinização (CAMARGO et al., 1999).

A estenoespermocarpia vem sendo utilizada desde o século passado em cruzamentos incluindo genitor feminino pirênico e masculino apirênico (LEDBETTER; RAMMING, 1989). Este modelo de cruzamento é considerado de baixa eficiência porque não se pode esperar que mais de 25% da progênie seja portadora de apirenia (RAMMING, 1990). Diante desta baixa frequência, torna-se essencial a formação de grandes populações para aumentar as chances de seleção do indivíduo apirênico. Por outro lado, também exige maior tempo, uma vez que, o mínimo de oito anos é necessário para reunir as características de dois genitores apirênicos. Isto decorre de duas gerações de cruzamentos, com quatro anos para cada geração, onde é dependente do genitor pirênico para garantir a produção de sementes.

A necessidade de ampliação da variabilidade genética, através de cruzamentos para a seleção de indivíduos apirênicos superiores, determinou o abandono da partenocarpia e a adoção da estenoespermocarpia por todos os programas de melhoramento, empenhados na obtenção de cultivares de uvas apirênicas (CAMARGO et al., 1999).

### 2.3.2 Germinação do Pólen

O conhecimento do sistema de reprodução de uma espécie é importante para a conservação do germoplasma, para o manejo em cultivo e para o melhoramento genético, pois, permite definir estratégias de seleção com base em cruzamentos intra e inter-populacionais (DANNER et al., 2011).

Os estudos referentes à morfologia, ultra-estrutura polínica, germinação *in vitro* e armazenamento do pólen são muito importantes em programas de melhoramento genético, visando à obtenção de seleções potencialmente promissoras (CHAGAS et al., 2010).

Com relação às fruteiras da família Myrtaceae, nativas do Sul do Brasil, foram encontrados na literatura estudos com viabilidade de pólen de cerejeira-do-mato (*E. involucrata*) (FRANZON; RASEIRA, 2006) e pitangueira (*E. uniflora*) (FRANZON et al., 2007), demonstrando algumas condições necessárias para a conservação de pólen dessas espécies.

Scorza e Sherman (1995) consideram que o bom pólen deve apresentar 50 a 80% de grãos germinados, com tubos bem desenvolvidos. Porém, à medida que o pólen envelhece essa porcentagem, bem como o comprimento dos tubos polínicos diminuem. Ainda que o pólen pareça fraco, a presença de alguns tubos polínicos vigorosos indica que o mesmo ainda é suficientemente bom para assegurar, pelo menos, moderada frutificação efetiva, apesar da baixa porcentagem de germinação.

A viabilidade do pólen é considerada medida de fertilidade masculina muito empregada no monitoramento de pólen armazenado, de modo a garantir a fecundação e tornar possível cruzamentos entre genótipos de potencial econômico que apresentam floração em épocas distintas. Essa determinação da viabilidade do pólen pode ser feita através de métodos diretos, tais como, a indução da germinação *in vitro* (PIO et al., 2007).

Existem quatro métodos para se estimar a viabilidade de pólen, sendo estes, testes de germinação *in vitro*; a avaliação com o uso de corantes; testes de germinação *in vivo*, avaliando-se o crescimento do tubo polínico no estigma e/ou no pistilo e a formação de sementes após polinização normal do genitor feminino selecionado (GALLETTA, 1983).

O uso de corantes é o método mais rápido e usado para verificar a viabilidade de pólen. Porém, este método pode superestimar a viabilidade, pois, muitas vezes, grãos de pólen inviáveis podem ainda corar, por possuírem quantidade suficiente de enzimas,

amido ou outras substâncias (GALLETTA, 1983).

A germinação *in vitro* é o método mais conveniente e seguro para se testar a viabilidade de grãos de pólen. Segundo Marcellán e Camadro (1996), este método revela o verdadeiro estado das reservas, a condição das membranas e a conversão das reservas para o grão de pólen germinar. O sucesso da germinação *in vitro* depende de vários fatores como, espécie vegetal, estado nutricional, 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 na composição dos meios de cultura peculiar para cada espécie (CHAGAS et al., 2010; SINIMBU NETO et al., 2011).

O meio básico usado nos testes de germinação *in vitro* é constituído de açúcar e de ácido bórico (MIRANDA; CLEMENT, 1990), podendo variar ainda com a combinação de outros nutrientes (GALLETTA, 1983). A adição de açúcar ao meio de cultura tem por objetivo o equilíbrio osmótico entre o pólen e o meio de germinação, bem como, fornecer energia para auxiliar o processo de desenvolvimento do tubo polínico (STANLEY; LINSKENS, 1974). Já a presença de boro no meio estimula o crescimento do tubo polínico, sendo a resposta variável de acordo com a espécie. O boro interage com o açúcar formando complexo açúcar-borato, o qual reage mais rapidamente com as membranas celulares (PFAHLER, 1967). Assim, a constituição do meio para cada espécie torna-se importante para que o pólen analisado apresente resposta condizente a sua condição de viabilidade.

Os demais métodos são bastante trabalhosos, necessitando de maior tempo para se obter os resultados.

## 2.4 EMBRIOGÊNESE

A embriogênese compreende rota ontogênica que inicia o ciclo de vida das plantas superiores e seus estudos têm impacto direto sobre a produtividade agrícola (CAIRNEY et al., 1999). Uma melhor compreensão dos fatores associados à embriogênese pode ser buscada na interface entre a embriogênese somática e zigótica (ZIMMERMAN, 1993). Durante sua ontogênese, uma célula inicial usa o seu potencial genético em divisões celulares complexas e consecutivas que resultam em organismo pluricelular. Assim, este processo configura no modelo biológico importante para

estudos associados à competência celular, histogênese e histodiferenciação (INOCENTE, 2007).

A embriogênese somática é o processo pelo qual células haplóides ou somáticas diplóides desenvolvem-se em plantas diferenciadas, pelos estádios embrionários característicos, sem a fusão de gametas (WILLIAMS; MAHESWARAN, 1986). A embriogênese somática é processo análogo a embriogênese zigótica, onde a célula isolada ou pequeno grupo de células somáticas são os precursores dos embriões (TAUTORUS et al., 1991).

A embriogênese zigótica se inicia na divisão assimétrica do zigoto, dando origem a célula apical e basal, o embrião globular, o qual posteriormente passará para o estágio cotiledonar, com a iniciação do primórdio radicular, seguido pelo caule, no caso de dicotiledôneas (ALMEIDA, 2007). A embriogênese zigótica ocorre após a fecundação dos gametas, sendo caracterizada pela formação do embrião bipolar, com os meristemas apicais caulinares e radiculares posicionados em pólos opostos do eixo embrionário, definido no início da embriogênese.

As mudanças no desenvolvimento do embrião são visíveis, passando pelos estádios da embriogênese zigótica, ou seja, estágio globular, cordiforme e torpedão, em dicotiledôneas; globular e cotiledonar, em monocotiledôneas; globular, cotiledonares precoces e tardios, em coníferas (TOONEN E VRIES, 1996; DONG; DUNSTAN, 2000). Tais estruturas terminam se convertendo em plantas completas (TISSERAT et al., 1979).

Os estudos da embriogênese zigótica de *Acca sellowiana* (goiaba-serrana) mostraram que esta espécie apresenta características embriológicas que se adequam ao conhecido para Myrtaceae (Myrteae, Myrtinae) e ampliaram o conhecimento sobre a reprodução sexual dessa espécie nativa, cujo cultivo comercial tem se expandido. Para esta espécie foi observado que o zigoto é formado 21 dias após a polinização controlada, e sofre a primeira divisão mitótica no 24º dia. Os embriões nas fases globular, cordiforme e torpedão foram observados no 30º, 45º e 60º dia após a polinização, tornando-se maduros após 120 dias da polinização, respectivamente (PESCADOR et al., 2009).

Uma fase importante no desenvolvimento do embrião é o processo de maturação, pois ocorrem várias mudanças morfológicas e bioquímicas, evidentes pela deposição de materiais armazenados, pela interrupção da germinação e pela tolerância à dessecação, principalmente em espécies com sementes ortodoxas (THOMAS, 1993;

MCKERSIE; BROWN, 1996).

A estenoespermocarpia em uva, uma forma de apirênia, tem determinação genética, sendo caracterizada pela formação de sementes-traço no fruto, geralmente imperceptíveis na degustação. Neste sistema, o desenvolvimento do fruto depende da fertilização e formação do embrião, mas o desenvolvimento da semente não se completa devido ao aborto do embrião e degeneração do endosperma (STOUT, 1936). O aborto do embrião pode ocorrer em períodos variáveis pós-fertilização. Na maioria das cultivares de uva avaliadas por Emershad et al. (1989), foi observado o início deste processo na oitava semana após a polinização.



### 3. CAPITULO I: BIOLOGIA FLORAL, REPRODUTIVA E MORFOMETRIA DE FRUTOS E SEMENTES DE PITANGUEIRA PIRÊNICA E APIRÊNICA.

#### 3.1 RESUMO

A *E. uniflora* é Myrtaceae perene, cujo padrão de floração é classificado como do tipo big-bang, ou floração em massa, que se caracteriza por apresentar grande produção de flores em curto espaço de tempo. Ele é espécie autógama que necessita de agente polinizador. Porém, têm-se na Coleção da UTFPR uma planta produtora de frutos sem sementes, nos quais desperta grande interesse comercial, necessitando elucidar possíveis causas desta característica. O objetivo deste trabalho foi observar a biologia floral e reprodutiva de pitangueiras apirênica e pirênica (*E. uniflora* L.). O trabalho foi realizado nos Laboratórios de Microscopia e de Fisiologia Vegetal, na área da coleção de frutas nativas da UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – Paraná e também na Estação Experimental de Aula Dei (Zaragoza, Espanha). Genótipos de pitangueira (*E. uniflora* L.) que produzem frutos com e sem sementes (pirênicos e apirênicos) foram estudados quanto aos aspectos fenológicos, a fim de determinar o horário de antese e senescência floral, presença de polinizadores e, o período inicial e final da floração, bem como, de frutificação, correlacionando esses eventos fenológicos com dados meteorológicos. Também foi feita a caracterização da flor, através da contagem do número de anteras por flor e de pólen por antera. Fez-se a codificação dos estágios fenológicos através da escala BBCH. Foram observados a frutificação efetiva, o crescimento dos frutos e sementes até a maturação dos frutos. A antese das flores de pitangueira é diurna, sendo a polinização mais efetiva quando realizada principalmente por abelhas. O período total da frutificação é de aproximadamente 85 dias para o acesso pirênico e de 75 dias para o apirênico. A pitangueira pirênica apresenta maior número de anteras por flor, pólen por antera e pólen por flor em comparação ao acesso apirênico. Os grãos de pólen apresentam formato triangular formando-se normalmente em ambos os acessos, encontrando-se maduros pouco antes da antese floral. A viabilidade dos grãos de pólen é maior quando coletados de flores após a antese e em períodos maiores de incubação. Em condições naturais, a germinação do grão de pólen e o crescimento do tubo polínico ocorrem normalmente, chegando ao final do estilo 48 horas após a antese. Os estágios fenológicos de *E. uniflora* foram descritos pela primeira vez de acordo com a escala BBCH, sendo ferramenta viável que permite observar e descrever todos os estádios fenológicos desta espécie.

**Palavras-chave:** *Eugenia uniflora*. Myrtaceae. Floração. Fruto sem semente. Escala BBCH.

#### 3.2 ABSTRACT

*Eugenia uniflora* is a perennial Myrtaceae tree, that it has flowering pattern classified as the big-bang type or mass flowering, which is characterized by large flower production on a short time. This is specie autogamy that need to pollinizer agent. But, in

the Fruit Native Collection from Universidade Tecnológica Federal do Paraná – Câmpus Dois Vizinhos, Paraná State, Brazil had a genotype that produce fruit without seed, it to demonstrate commercial interest, what to do necessary the elucidation of possible causes of this characteristic. The aim of this work was to observe the floral and reproductive biology of apirenic and pirenica Surinan cherry tree (*E. uniflora* L.). The work was carried out at the Microscopy and Plant Physiology Laboratories, in the area of the native fruit collection at UTFPR - Câmpus Dois Vizinhos - Paraná State, Brazil. To part of studies also was carried out the Aula Dei Experimental Station (Zaragoza, Spain). Genotypes of Surinan cherry (*E. uniflora* L.) that produce fruits with and without seeds were studied for the phenological aspects, in order to determine the time of anthesis and floral senescence, presence of pollinators agents and, the initial and end flower period, as well as fruiting, correlating these phenological events with meteorological data. The flower characterization also was studied by counting the number of anthers by flower and pollen per anther. Phenological stages were characteristic by BBCH scale. The fruit set, fruit and seed growth were evaluated until fruit ripening. The flowers open Surinan cherry tree is diurnal, being the pollination more effective when realized mainly by bees. The total fruiting period is approximately 85 days in the pirenica genotype and 75 days for the apirenic. The pirenica Surinan cherry presents a greater number of anthers per flower, pollen per anther and pollen per flower compared to apirenic genotype. The pollen grains have a triangular shape in the two genotypes evaluated, it being mature just before the floral open. The viability of pollen grains is greater when collected from flowers after anthesis and during longer incubation periods. In natural conditions, pollen grain germination and pollen tube growth normally occur, with the pollen tube in the end of the style 48 hours after anthesis. The phenological stages of *E. uniflora* were described for the first time according to the BBCH scale, being a viable tool that allows to observe and to describe all the phenological stages of this species.

**Key words:** *Eugenia uniflora*. Myrtaceae. Flowering. Fruit without seeds. BBCH scale.

### 3. 3 INTRODUÇÃO

O estudo da biologia floral associado aos mecanismos reprodutivos das espécies vegetais é de fundamental importância, tanto para subsidiar a condução de programas de melhoramento genético de plantas, já que auxiliam na definição de métodos mais apropriados a serem usados (FERREIRA et al., 2004), quanto para o correto manejo de determinada cultura (KIILL; COSTA, 2003).

Com base nos estudos da biologia floral e dos sistemas reprodutivos, pode-se entender o processo de domesticação das espécies (HAMRICK, 1989), o que é muito importante para aquelas que sofreram pouca ou nenhuma manipulação genética, além de compreender os padrões de fluxo gênico e a diferenciação genética entre e dentro de populações (BAWA, 1974; CLEGG, 1980; HAMRICK, 1989), para obter informações importantes sobre os padrões de cruzamentos, a dinâmica dos processos

microevolucionários e as melhores formas para conservação e manejo da espécie (OLIVEIRA et al., 2002; LINA et al., 2003), além de explicar as possíveis relações entre as plantas e o ambiente em que vivem (OLIVEIRA et al., 2003).

Dentre as inúmeras espécies que fazem parte da família Myrtaceae, a *E. uniflora*, conhecida como pitangueira é planta perene, com porte arbóreo de 6-12 metros de altura (MARCHIORI, 1997), com ocorrência principalmente nas Américas Central e do Sul (MARWE et al., 2005), podendo ser empregada na alimentação, utilizada tanto para consumo in natura como processados pela indústria alimentícia (MARIN et al., 2004), além de possuir óleos essenciais, utilizados pela indústria de cosméticos e farmacêutica, ou também usada para reflorestamento de áreas degradadas e na ornamentação (KORBES, 1995).

A pitangueira possui inflorescências racemosas com flores pediceladas inseridas nas axilas foliares, sendo que de cada nó foliar são emitidas mais de duas flores, apresentando de quatro a sete nós foliares por ramo vegetativo (ROMAGNOLO; SOUZA, 2006; SILVA; PINHEIRO, 2007).

O padrão de floração da pitangueira é classificado como do tipo big-bang, ou floração em massa (LUGHADHA; PROENÇA, 1996), que se caracteriza por apresentar grande produção de flores em curto espaço de tempo (SILVA; PINHEIRO, 2007). Durante o pico de floração, as flores se destacam da folhagem dando aspecto branco às plantas, assim como ocorre em muitas outras espécies de Myrtaceae (BRIGGS; JOHNSON, 1979; BEARDSSELL et al., 1993b; LUGHADHA; PROENÇA, 1996).

Essa agregação de flores pode ser considerada como estratégia para atração dos polinizadores (FAEGRI; PIJL, 1979; BAWA, 1983; O'BRIEN; CALDER, 1993). Franzon (2008) classificou a espécie como autocompatível, mas que necessita da atuação de agentes polinizadores, principalmente abelhas melíferas, para melhor frutificação.

Silva e Pinheiro (2007) relataram que a antese em pitangueira é diurna, com duração das flores em apenas um dia, onde são visitadas por ampla variedade de insetos, incluindo himenópteros, dípteros, coleópteros e neurópteros. As abelhas são os visitantes mais comuns, dentre as quais, destaca-se a *Apis mellifera* L. por ser mais frequente e abundante, sendo considerada a polinizadora efetiva. O início da antese se dá logo ao amanhecer, por volta das 5h30min e se estende durante todo o dia (PROENÇA; GIBBS, 1994). Durante o período de antese, os grãos de pólen estão

totalmente expostos, não havendo quaisquer restrições à sua coleta, característica comum das flores generalistas (FAEGRI; PIJL, 1976; ENDRESS, 1994).

Durante o processo de abertura floral, o estigma já se encontra receptivo, pois, neste momento, suas papilas estão túrgidas e brilhosas (PROENÇA; GIBBS, 1994), prontos para receber o grão de pólen e ocorrer à polinização e fecundação dos óvulos. O estigma é único, formado por papilas delgadas e se apresenta, geralmente, acima dos estames (ROMAGNOLO; SOUZA, 2006; SILVA; PINHEIRO, 2007; FRANZON, 2008).

O ovário da espécie é bilocular, apresentando 18 a 20 óvulos por lóculo (ROMAGNOLO; SOUZA, 2006). No entanto, o fruto apresenta em geral somente duas a três sementes, o que leva a inferências sobre a existência de sistemas degenerativos para os demais óvulos ou a restrição na fecundação.

Segundo Silva et al. (2013), o óvulo de *E. uniflora* é hemicampilótopo, unitegmentado, crassinucelado, com obturador tegumentar. A vascularização do óvulo é formada por feixe que penetra no funículo e sofre bifurcação formando dois ramos. De acordo com estes mesmos autores, a embriogênese tem início no período entre 48 e 72 horas pós-polinização.

Os embriões são do tipo eugenióide, o que caracteriza o gênero, apresentando cotilédones globosos, carnosos, conferruminados com linha de separação presente entre os cotilédones, mas com eixo hipocótilo-radícula pouco desenvolvido (ROMAGNOLO; SOUZA, 2006).

Quando maduros, os frutos possuem aroma característico e intenso, com sabor doce e ácido. No processo de maturação, o epicarpo passa de verde para amarelo, alaranjado, vermelho, vermelho escuro, podendo chegar até quase negro (BEZERRA et al., 2002), sendo a coloração do fruto variável entre os genótipos.

O tamanho grande das sementes de pitanga, é característica desvantajosa na produção comercial, já que o rendimento de polpa é reduzido. Por isso, a ausência de sementes é característica altamente desejável.

Essa característica, denominada como apirênia, é controlada por genes recessivos e sua herdabilidade é influenciada pelo genótipo materno (MATHEOU et al., 1995). Uma planta é considerada apirênica quando é capaz de produzir frutos sem sementes, com traços destas ou com estas reduzidas em número e tamanho (VAROQUAUX et al., 2000).

Frutos apirênicos são desejados pelo mercado que os processa, pois a presença

de sementes dificulta seu aproveitamento e manuseio (SHIFRISS; EIDELMAN, 1986). Entretanto, para o gênero *Eugenia*, não existem relatos na literatura de sua ocorrência.

Na UTFPR - Câmpus Dois Vizinhos foi encontrado genótipo de pitangueira produzindo frutos sem sementes. Com isso, o objetivo desse estudo foi caracterizar as estruturas reprodutivas floral, o período de floração e frutificação e a morfometria do fruto e semente, desse genótipo, comparando-o com acessos de *E. uniflora* pirênica.

### 3.4 MATERIAL E MÉTODOS

#### 3.4.1 LOCAL DE COLETA DO MATERIAL

Os trabalhos foram realizados na coleção de fruteiras nativas e nos Laboratórios de Fisiologia Vegetal e Microscopia, da Universidade Tecnológica Federal do Paraná (UTFPR) - Câmpus Dois Vizinhos, Dois Vizinhos – Paraná. O clima é do tipo Cfa segundo a classificação de Koppen. Além disso, foram feitas análises na Estación Experimental de Aula Dei - CSCI - Zaragoza, Espanha.

Na instituição brasileira foi identificado a planta na coleção de fruteiras nativas, produtora de frutos sem semente ou, quando presentes, muito pequenas. A partir desta planta apirênica e por meio de outra pirênica que foi utilizada para comparação coletaram-se os materiais para os estudos.

As plantas da coleção da UTFPR possuem 12 anos de idade, encontrando-se em espaçamento entre elas de 4 x 4 metros, sem a realização de práticas de manejo como poda, raleio de frutos, adubação, ocorrendo somente o controle de ervas daninhas por meio de roçada. Além de vários acessos de pitangueira, na área, existem outras espécies, como jabuticabeiras (*P. cauliflora*), cerejeiras-da-mata (*E. involucrata*) e vacunzeiros (*Allophylus edulis*).

A planta apresentando apirenia foi obtida pela via seminífera de planta proveniente de produtor rural de Honório Serpa - PR.

#### 3.4.2 BIOLOGIA FLORAL

##### 3.4.2.1 Antese, senescência floral e frutificação de *E. uniflora*

A determinação do horário de antese, alterações da flor durante a antese e a

senescência floral, assim como, possíveis polinizadores, foram provenientes de cinco ramos, escolhidos aleatoriamente de cada matriz (pirênica e apirênica). A partir disso, foram contabilizados 10 botões florais em cada ramo e durante 72 horas, no período das seis às 19 horas, com intervalo de uma hora, foram realizadas as observações, segundo metodologia de Felippi (2006).

A determinação do período inicial e final da floração foi baseada no método descrito por Franzon (2004), com início se caracterizando com 10% de flores abertas e final com 90% de flores abertas. Também foi observado o início e final da frutificação. Para ambos, foram feitas observações visuais nas plantas.

Foram coletados os dados de temperaturas máxima, média e mínima oriundos da Estação Meteorológica da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Câmpus Dois Vizinhos, junto ao Grupo de Estudos em Biometeorologia (GEBIOMET), a fim de relacionar com os eventos fenológicos da pitangueira, no período das observações.,

#### 3.4.2.2 Quantificação do número de anteras por flor e pólen por antera

Foram coletados aleatoriamente ramos contendo flores em estágio de balão de pitangueiras apirênicas e pirênicas. Destes, foram coletadas 10 flores, também aleatoriamente, pouco antes da antese. A contagem do número de anteras de cada flor foi feita utilizando-se microscópio estereoscópico, com objetiva de 10X. Destas amostras citadas acima, também foram coletadas, ao acaso, 20 flores pouco antes da antese, das quais foram retiradas cinco anteras por flor, totalizando-se em 100 anteras, para contagem do número de grãos de pólen por antera.

As anteras foram colocadas em frascos de vidro (tipo penicilina), os quais permaneceram destampados, mas mantidos em temperatura ambiente para secagem e liberação do pólen. Após completa deiscência das anteras (dois a três dias), foi adicionado 1 mL de ácido láctico a 85% em cada frasco, formando-se suspensão de grãos de pólen. Os frascos foram, então, tampados com tampas de borracha para frascos de penicilina e homogeneizados.

A contagem foi feita em placa de Newbauer. Para isso, foram montadas lâminas com lamínula sobre a placa e uma gota da suspensão de grãos de pólen em cada extremidade da placa. Após alguns minutos foram feitas as contagens. Foram observadas quatro lâminas (repetições), fazendo-se duas contagens/lâmina, ou seja, uma em cada campo da placa de Newbauer, em microscópio ótico com objetiva de 20 X.

O número de grãos de pólen por antera foi calculado pela fórmula abaixo, conforme descrito por Petri et al. (1976):

$$N = [(X * 1000)/0,1] * (1/100)$$

Em que:

N = número de grãos de pólen/antera;

X = número médio de grãos de pólen/contagem;

1000 = volume de ácido láctico em mm<sup>3</sup>;

0,1 = volume da câmara de Newbauer em mm<sup>3</sup>;

100 = número de anteras componentes da suspensão.

Os dados foram submetidos previamente ao Teste de Normalidade de Liliefors, sendo que, não houve necessidade de transformação dos dados. Após, estes foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ). Todas as análises foram efetuadas pelo aplicativo computacional ASSISTAT<sup>®</sup> (SILVA; AZEVEDO, 2009).

### 3.4.3 BIOLOGIA REPRODUTIVA

#### 3.4.3.1 Caracterização do pólen de *E. uniflora*

A fim de verificar o desenvolvimento de grãos de pólen de pitangueira pirênica e apirênica, na instituição espanhola, foram feitas preparações por esmagamento e coloração com azul de Anilina, específico para observar a calose. Foram também feitos cortes histológicos de balões florais em pré-antese, observando-se seus grãos de pólen.

Para o método de esmagamento foram coletadas anteras de balões florais em diferentes estágios de desenvolvimento, nos quais foram denominados como 0A, 0B e 0C, correspondendo a um, cinco e dez dias antes da antese, respectivamente. Após foram preparadas lâminas com as anteras mediante esmagamento (squash), com gota de Azul de Anilina a 0,1% em PO<sub>4</sub>K<sub>3</sub> 0,1N (LINSKENS; ESSER, 1957). Foram realizadas observações em microscópio Leica DM2500 (Cambridge, UK) com luz fluorescente, sendo fotografadas por meio de câmera DFC310 FX (Leica, Cambridge, UK).

Para os cortes histológicos, foram coletados a partir das matrizes apirênicas e pirênicas, flores em pré-antese, em diferentes estágios de desenvolvimento e fixados em

solução FAA 70 (90 álcool: 5 ácido acético: 5 formoldeído) (JOHANSEN, 1940). As amostras foram desidratadas em série etílica ascendente (álcool 70%, 80%, 90% e 100%) em etapas de 15 minutos e infiltradas em parafina. Os blocos foram seccionados em micrótomo de rotação, em cortes de 10 nm de espessura, distendidos em lâminas, após desparafinado e corados com Azul de Anilina a 0,1% em  $\text{PO}_4\text{K}_3$  0,1N (LINSKENS E ESSER, 1957), sendo então, os cortes montados em resina sintética (Permout®) para observação e descrição dos estágios correspondentes dos grãos de pólen. As observações também foram feitas em microscópio Leica DM2500 (Cambridge, UK) com luz fluorescente e fotografados usando câmera DFC310 FX (Leica, Cambridge, UK).

#### 3.4.3.2 Germinação do pólen in vitro

Foi coletado pólen de flores em estágio de balão (pré-antese) e de flores logo após a antese, tanto das plantas apirênicas quanto pirênicas. As flores em balão foram coletadas a campo em embalagens de papel e levadas para Laboratório de Fisiologia Vegetal, no qual permaneceram em temperatura ambiente por 48 horas. Já para coleta do pólen após a antese, foram colhidos ramos contendo balões florais, levados ao respectivo Laboratório, os quais permaneceram fixados em espuma fenólica embebidas em água até momento da antese, quando se retirou o pólen.

Em ambos os casos, o pólen foi coletado conforme metodologia descrita por Franzon et al. (2007), onde as anteras foram destacadas e colocadas para secar em bandejas de papel, à temperatura ambiente (20 a 25°C) por 48 horas.

Após a coleta, o pólen foi utilizado para teste de germinação in vitro. Para isso foi feito meio de cultura padrão composto por 10% de açúcar + 1% de Agar (FRANZON, 2004). Os componentes do meio de cultura foram misturados e dissolvidos em água destilada, sendo aquecidos em forno micro-ondas até completa dissolução do ágar, sem deixar que entrasse em ebulição.

O meio, ainda quente, foi distribuído em lâminas (para observação em microscópio óptico), contendo dois anéis de PVC de 21 mm de diâmetro e três mm de altura, adaptação esta que substitui a lâmina escavada. Cada lâmina com os dois anéis de PVC, representou uma repetição.



Após o meio de cultura esfriar, o pólen foi aspergido sobre o meio, com auxílio de pincel fino de lã de camelo (número 2). As lâminas com os polens aspergidos no meio de cultura foram colocadas em placas de Petri<sup>®</sup> com tampa, contendo papel absorvente umedecido, formando-se câmara úmida e incubadas em estufa tipo B.O.D. a 25°C durante três, cinco, sete, nove e 24 horas, na ausência de luz.

Após cada período, foi realizada contagem dos grãos de pólen germinados (que emitiram o tubo polínico), efetuada com auxílio de microscópio ótico, com objetiva de 20 X. Foi escolhido um campo e contados 100 grãos de pólen com auxílio de contador manual, obtendo-se a porcentagem de grãos de pólen viáveis (germinados) e não viáveis (não germinados). Considerou-se germinados aqueles que apresentavam o comprimento do tubo polínico igual ou superior ao diâmetro do próprio grão de pólen.

O delineamento empregado foi inteiramente casualizado, com quatro repetições (lâminas), contando-se 100 grãos de pólen por lâmina.

Os dados foram submetidos previamente ao Teste de Normalidade de Lilliefors, e para ambos os acessos (pirênico e apirênico) houve transformação dos dados segundo arco seno  $\sqrt{x/100}$ , os quais foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ). As análises foram efetuadas pelo aplicativo computacional SANEST<sup>®</sup> (ZONTA; MACHADO, 1984).

#### 3.4.3.3 Germinação do pólen em condições naturais e crescimento do tubo polínico

Foram coletadas, aleatoriamente de plantas apirênica e pirênica, flores com 1, 2, 3, 4, 5, 6, 7 e 8 dias após a antese, e portanto, já polinizadas em condição natural. Para coleta foram utilizados frascos de vidro (tipo penicilina) contendo solução fixativa FAA (formol, ácido acético e álcool 70%, na proporção 1:1:8). Posteriormente, foi retirado somente o pistilo da flor, sendo deste, separado o ovário para análises histológicas. O restante do pistilo (estigma e estilo) foi usado para analisar a germinação e o crescimento do tubo polínico ao longo do estilo, sendo observado se o mesmo conseguiu germinar e chegar até a base do estilo.

Para observação do crescimento do tubo polínico ao longo do estilo, os pistilos foram retirados do fixativo, deixados em frascos de vidro (tipo penicilina) com água destilada por uma hora. Depois, fez-se a retirada da água e repetiu-se o mesmo

procedimento por três vezes. Após, os mesmos foram colocados em Sulfito sódico 5% e deixados por 24 horas. Posteriormente, os pistilos foram cozidos em sulfito sódico por aproximadamente dois minutos, contados após a ebulição. A solução de sulfito sódico a 5% foi preparado, dissolvendo-se 5g de sulfito sódico em 100 mL de água destilada. O corante Azul de Anilina foi preparado a 0,1% em  $\text{PO}_4\text{K}_3$  0,1 N, o qual foi utilizado 0,1 gramas do corante, solúvel em água, para 100  $\text{cm}^3$  de  $\text{PO}_4\text{K}_3$  0,1 N.

Para visualizar a germinação do pólen e o crescimento dos tubos polínicos das pitangueiras apirênica e pirênica, com intuito de verificar possíveis diferenças entre as mesmas, foram preparadas lâminas mediante esmagamento (squash), com gota de Azul de Anilina a 0,1% em  $\text{PO}_4\text{K}_3$  0,1N (LINSKENS; ESSER, 1957), com objetivo de colorir a calose.

As observações foram feitas 24 horas após a preparação das lâminas em microscópio Leica DM2500 (Cambridge, UK) com luz fluorescente e fotografado com câmera DFC310 FX (Leica, Cambridge, UK).

Foi observado a compatibilidade ou incompatibilidade do tubo polínico. A incompatibilidade foi verificada através da presença de inchamento da base do tubo polínico, o qual não consegue mais crescer e a compatibilidade pelo crescimento normal e com a chegada do tubo polínico no ovário. O número de grãos de pólen germinados; o comprimento do tubo polínico ao longo do estilo (%) e o número de tubos polínicos que chegaram à base do estilo foram analisados. Atribuiu-se grau de 0 a 100%, de acordo com estágio de desenvolvimento dos tubos polínicos, tendo 0%, grãos de pólen que não germinaram; 30% aqueles que germinaram e que os tubos polínicos encontraram-se entre o estigma da flor e 1/3 do estilete; 50% quando o tubo polínico se encontrou entre 1/3 e 2/3 do estilete; 90% com o tubo polínico se encontrando entre a base do estilo; e 100% quando chegou ao ovário, observando nesse caso em que foi retirado o ovário, os tubos polínicos chegando na base do estilo.

#### 3.4.3.4 Codificação BBCH dos estádios fenológicos de *E. uniflora*

O estudo de eventos biológicos, como a brotação, floração e desenvolvimento dos frutos, ou seja, a fenologia da pitangueira, foi descrita de acordo com a escala BBCH (Biologische Bundesantalt, Bundessortenamtund Chemische Industrie), proposta por Bleiholder et al. (1989). Como a pitangueira não tem ainda escala fenológica, utilizou-se a escala geral BBCH para espécies frutíferas conforme Tabela 1.

As medições e observações foram realizadas durante várias períodos de crescimento, cuja frequência foi dependente de cada estágio. Os estágios de desenvolvimento e as características morfológicas de cada órgão em desenvolvimento foram registrados com câmera fotográfica.

**Tabela 1:** Principais estágios de crescimento de acordo com a escala geral BBCH.

<b>Estádio</b>	<b>Descrição</b>
0	Brotação, desenvolvimento da gema
1	Desenvolvimento das folhas (broto ou haste principal)
2	Formação de brotos laterais/ perfilhamento
3	Alongamento do caule ou crescimento em roseta, desenvolvimento de brotos (rebentos) / alongamento do caule (haste principal)
4	Desenvolvimento de órgãos vegetativos
5	Emergência da inflorescência
6	Floração
7	Desenvolvimento do fruto
8	Coloração ou maturação de frutos e sementes
9	Senescência.

Fonte: Hack et al. (1992).

#### 3.4.3.5 Frutificação efetiva

Foram marcados 10 ramos por plantas e feita a contagem do número de balões florais em cada ramo, sendo aplicados os seguintes tratamentos, T1 – ramos ensacados com TNT, a fim de evitar a polinização por insetos e vento; T2 – ramos ensacados com tela anti-afídeo, para evitar polinização por insetos e; T3 – ramos sem ensacar, para observar a frutificação, em polinização aberta. Trinta dias decorridos da antese, foi contado o número de frutos formados e, a partir disso, calculou-se a porcentagem de frutificação efetiva.

O experimento foi conduzido no delineamento inteiramente casualizado, em esquema fatorial 3 x 2 (formas de proteção do ramo x acessos de pitangueira), com quatro repetições.

Os dados foram submetidos previamente ao Teste de Normalidade de Lilliefors, e para ambos os acessos (pirênico e apirênico) houve transformação dos dados segundo

arco seno  $\sqrt{x/100}$ . Após foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas pelo teste de Tuckey ( $\alpha = 0,05$ ). Todas as análises foram efetuadas pelo aplicativo computacional ASSISTAT<sup>®</sup> (SILVA; AZEVEDO, 2009).

#### 3.4.4 MORFOMETRIA DE FRUTOS DE *E. uniflora*

A fim de observar o crescimento dos frutos e sementes, foram coletadas durante 45 dias, 10 flores ou frutos diariamente, conforme o período de floração e frutificação, estendendo-se as coletas desde balões florais até a maturação dos frutos.

A coleta do material iniciou logo após a marcação dos ramos, os quais continham flores em estágio de balão, em pré-antese. Após a primeira coleta dos balões florais fez-se as demais diariamente.

Após, os materiais foram levados para o Laboratório de Fisiologia Vegetal, onde se realizou o registro fotográfico, tanto externo quanto interno e a pesagem e, mensuração das flores, frutos e sementes, conforme seus estádios de desenvolvimento.

### 3.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

#### 3.5.1 BIOLOGIA FLORAL

##### 3.5.1.1 Antese, senescência floral e frutificação de *E. uniflora*

A primeira observação dos balões florais foi feita logo que o botão pode ser observado. Neste estágio, o botão floral tem forma globosa, de coloração verde clara (Figura 7, estágio 51). O tempo total desde o início do aparecimento do botão floral ao final da floração foi de 18 dias para o acesso com semente e de 14 dias para o acesso sem semente (Tabela 2). De acordo com Franzon (2004), o tempo necessário para passar da fase de balão para flor é muito dependente da temperatura, pois caso seja muito elevada pode durar menos de um dia.

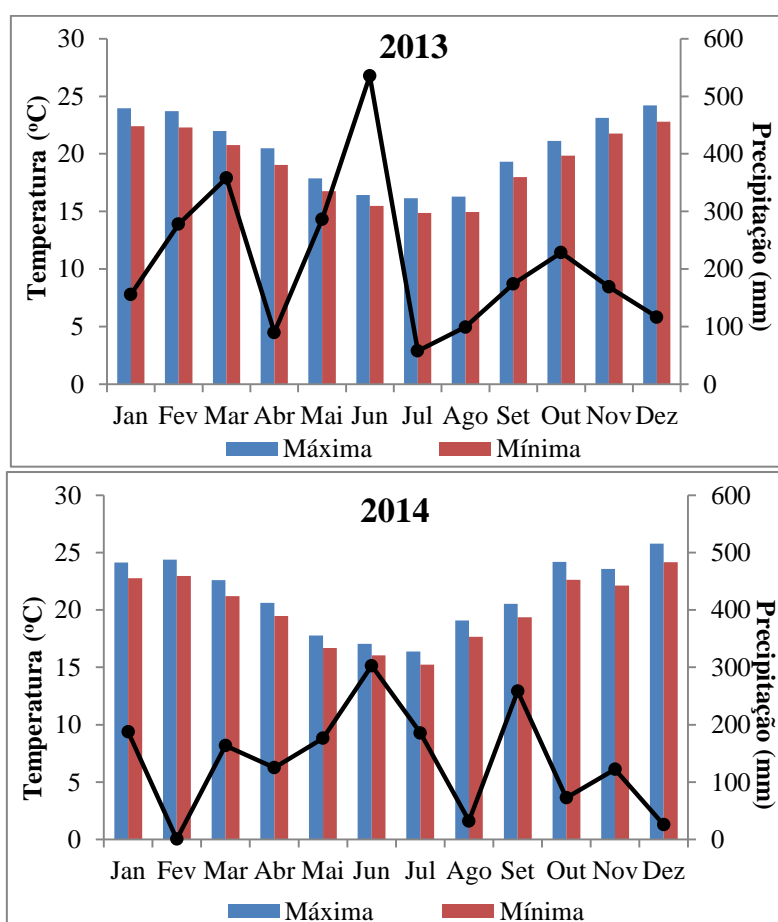
**Tabela 2.** Quantificação das fases fenológicas dos dois acessos de pitangueira, um pirênico e outro apirênico.

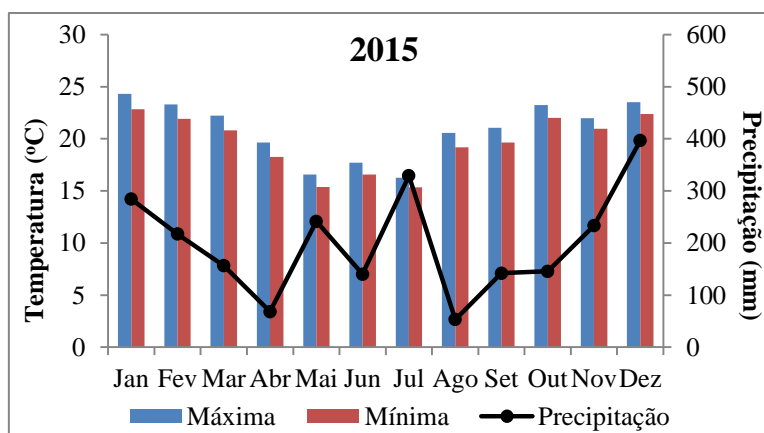
Acesso	Início da floração	Final da floração	Duração da floração
--------	--------------------	-------------------	---------------------

			(dias)
Pirênico	05/09/2014	23/09/2014	18
Apirênico	05/09/2014	19/09/2014	14

Nesse experimento a floração de ambos os acessos (pirênico e apirênico) começou no início de setembro de 2014 (Tabela 2), época em que a temperatura começou a aumentar, pois em julho e agosto as médias foram de 16°C e 18°C, respectivamente e, em setembro de 20°C (Figura 1).

Como as flores da pitangueira são muito atrativas para insetos polinizadores, principalmente para as abelhas, a condição climática tem que ser favorável a visita dos mesmos, uma vez que sem isso ocorrerá a queda das flores naturalmente, dois a três dias após a antese (FRANZON; RASEIRA, 2004), sem ocorrência de frutificação.





**Figura 1:** Médias mensais das temperaturas (°C) máxima e mínima e precipitação (mm) nos anos de 2013, 2014 e 2015. Dados coletados na estação meteorológica da UTFPR, Dois Vizinhos.

O início do desenvolvimento dos frutos de ambos os acessos (pirênico e apirênico) ocorreu no final de setembro de 2014, com a maturação entre meados e final de novembro. Para o acesso com semente o período do início até o final da maturação foi de 60 dias e para o sem semente de 57 dias (Tabela 3).

**Tabela 3.** Período inicial e final da frutificação dos dois acessos de pitangueira, sendo com produtor de frutos com semente e outro sem semente.

Acesso	Início da frutificação	Final da frutificação	Duração da frutificação (dias)
Pirênico	24/09/2014	24/11/2014	60
Apirênico	20/09/2014	17/11/2014	57

As épocas de florescimento e frutificação da pitangueira são influenciadas pelas variações das condições climáticas das diferentes regiões de cultivo (LIRA JÚNIOR et al., 2007). Nas regiões Sul e Sudeste do Brasil, a floração e a frutificação podem ocorrer duas ou até mais vezes durante o ano (SANCHOTENE, 1985; MATTOS, 1993; DEMATTÊ, 1997). Nessas regiões, a floração ocorre, normalmente, de agosto a dezembro, podendo novamente acontecer, de fevereiro a julho. Já a frutificação comumente acontece entre agosto e fevereiro, podendo também haver entre abril e julho.

Conforme observado nas Tabelas 2 e 3, o período total entre o início do aparecimento dos botões florais até a maturação dos frutos foi de 78 e 71 dias para o acesso com e sem semente, respectivamente.

Dessa forma, a diferença ocorrida foi de 7 dias, que no caso da fruticultura torna-se importante, pois se consegue agregar maior valor de mercado pela precocidade, aliado ao fato do ciclo rápido reduzir as chances de problemas com fatores de estresse biótico ou abiótico que porventura possam ocorrer. Assim, esta pode ser também mais uma vantagem para o uso da pitangueira sem semente.

A abertura em massa das flores (tipo big-bang) de pitangueira de ambos os acessos (pirênico e apirênico) ocorreu aproximadamente entre as 6 h e 7 h da manhã. O início da antese em espécies do gênero *Eugenia*, dentre elas, a *E. uniflora*, se dá logo ao amanhecer, e se estende durante todo o dia, confirmando o que foi observado no presente trabalho. Durante o processo de abertura floral, o estigma já se encontra receptivo, pois, neste momento, suas papilas estão túrgidas e brilhosas (PROENÇA; GIBBS, 1994).

Os insetos visitantes mais comuns encontrados durante as observações foram as abelhas, sendo período de maior visitação entre 8 h e 10 h da manhã, com predominância as 9 h (Figura 2).

Para jabuticabeira, fruteira da mesma família da pitangueira, o horário de maior visitação das abelhas também ocorre as 9 h da manhã (MALERBO-SOUZA et al., 2004; DANNER et al., 2011).



**Figura 2.** Visitação de abelha (*Apis mellifera*) em flores de pitangueira com semente (*E. uniflora*) entre 8 h às 10 h da manhã. Detalhe da floração em massa, tipo big-bang.

Além das abelhas, ao longo do dia de observações, foi possível visualizar outros insetos presentes, da ordem das Dípteras, Coleópteros, Hymenopteras e Hemípteras. Silva e Pinheiro (2007) relataram que a antese em pitangueira é diurna, com as flores durando apenas um dia. Neste período são visitadas por ampla variedade de insetos, incluindo-se Himenópteros, Dípteros, Coleópteros e Neurópteros. As abelhas são os visitantes mais comuns e, dentre elas, *Apis mellifera* L, sendo a espécie mais frequente e abundante.

#### 3.5.1.2 Quantificação do número de anteras por flor e pólen por antera

Para as variáveis, número de anteras por flor, de pólen por antera e de pólen por flor, o acesso apirênico teve as menores médias em comparação ao acesso pirênico (Tabela 4).

**Tabela 4:** Número médio de anteras por flor, de grãos de pólen por antera e de pólen por flor, em flores de pitangueira (*E. uniflora*) do acesso pirênico e apirênico.



<b>Acesso</b>	<b>Anteras/flor</b>	<b>Pólen/antera</b>	<b>Pólen/flor</b>
<b>Pirênico</b>	65,27 a*	1.875,00 a*	122.437,50 a*
<b>Apirênico</b>	60,00 b	1.202,50 b	72.600,00 b
C.V (%)	1,28	9,48	9,80

\*Médias com letras diferentes na mesma coluna, diferem pelo teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ).

Silva e Pinheiro (2007) descreveram o androceu de espécies de *Eugenia* como polistêmone com muitos estames, variando em número de 42,4 em *E. puniceifolia* (cereja do cerrado), 52,9 em *E. uniflora*, 84,2 em *E. rotundifolia* (jabuticaba da praia), e 143,7 em *E. neonitida* (pitangatuba).

Para jabuticabeiras (*Plinia* sp.), avaliando diferentes genótipos, as flores apresentaram média de 47,3 anteras e 421,8 grãos de pólen por antera. Porém, os valores de grãos de pólen por antera foram muito distintos entre os genótipos, sendo o menor de 60 e o maior de 1.512,00, para os genótipos denominados Cauliflora 3 (*P. cauliflora*) e Cabinho 2 (*P. trunciflora*), respectivamente (DANNER, 2009).

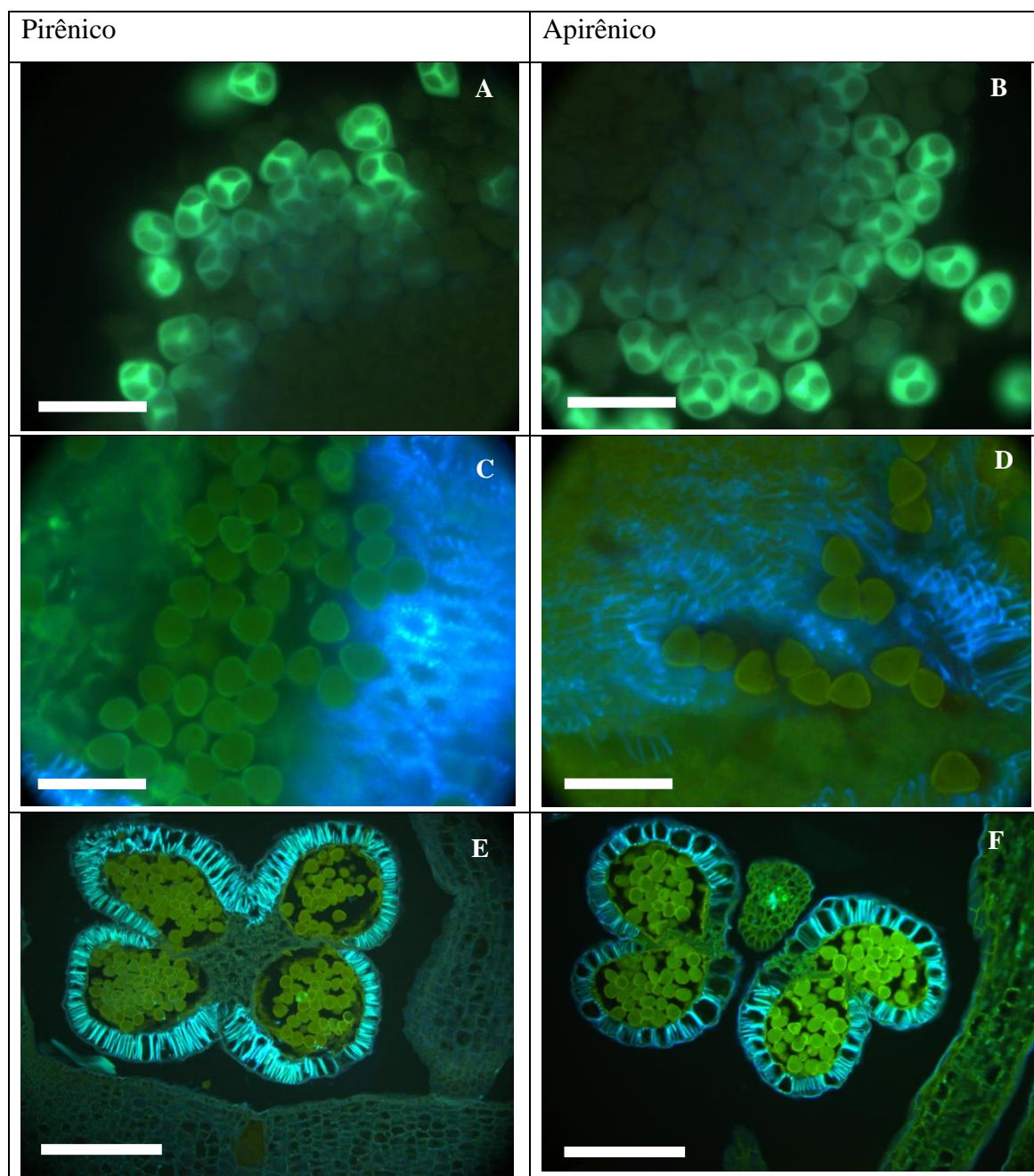
Segundo Gaaliche et al. (2011), o número de grãos de pólen por antera e por flor pode influenciar no aumento da produção. A quantidade de anteras formadas na flor pode variar de um ano para o outro, pois as condições ambientais têm grande influência na formação desse tipo de órgão floral (PETRI et al., 1976).

Este menor número observado com as pitangueiras produtoras de frutos sem sementes deve ser novamente avaliado para observar se tais valores serão mantidos e, caso o seja, até que ponto esse menor número interfere na fertilização.

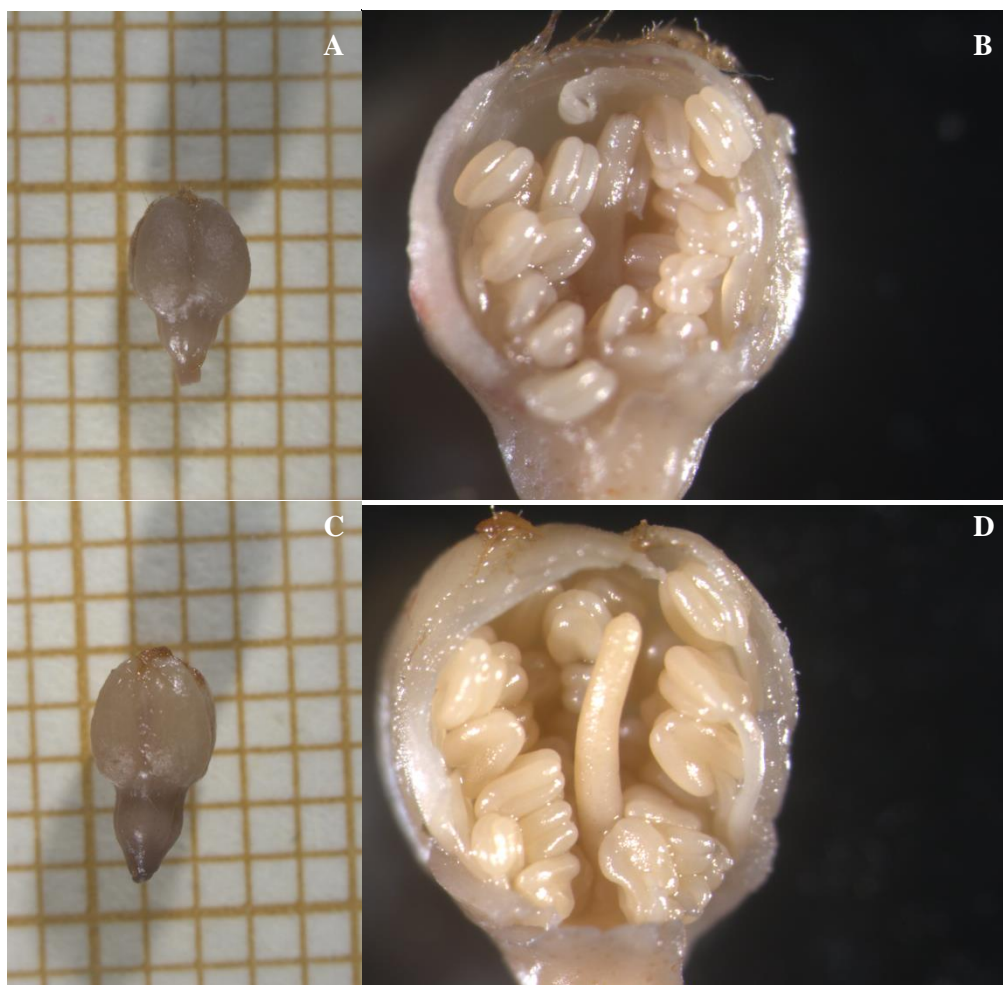
### 3.5.2 BIOLOGIA REPRODUTIVA

#### 3.5.2.1 Caracterização do pólen de *E. uniflora*

Durante as fases de desenvolvimento do grão de pólen, de ambos os acessos de pitangueiras estudados, uma pirênica e outra apirênica, observou-se que o estágio de tétrade, fase posterior a meiose, ocorreu durante o estágio 0B (Figuras 3A e 3B), correspondentes a botões florais cinco dias antes da antese (Figura 4), os quais possuem cerca de 2,5 mm de diâmetro. No dia imediatamente anterior a antese, no estágio 0C, já foi possível observar os grãos de pólen maduros, tanto pelo método de esmagamento (squash) das anteras (Figura 3C e 3D), quanto por cortes histológicos (3E e 3F).



**Figura 3:** Estágios de desenvolvimento do grão de pólen de pitangueira pirênica (A, C e E) e apirênica (B, D e F). A e B: Grãos de pólen após a meiose, Tétrade; C e D: Grãos de pólen maduros. Preparações por esmagamento (squash) e tingidas com Azul de Anilina. E e F: Anteras contendo Grãos de polens maduros. Secções em parafina de 10µm e tingidas com Azul de Anilina. Barras de escala: A, B, C e D = 50µm; E e F = 100µm



**Figura 4:** Balões florais de pitangueira pirênic (A e B) e apirênic (C e D), no estágio 0B (correspondente a cinco dias antes da antese), quando foi possível identificar as tétrades. Observações feitas na Lupa.

A fase meiótica de tétrades é indicada como a mais aconselhável para avaliar, com precisão razoável e maior rapidez, o comportamento na formação do grão de pólen (DEL LUCA, 1976).

Índices meióticos inferiores a 90% podem ocasionar problemas em programa de melhoramento genético, devido à instabilidade da planta ou da espécie (LOVE, 1949).

Segundo Franzon (2004), a viabilidade do pólen está diretamente relacionada com a formação de tétrades normais, ou seja, com o índice meiótico. As diferenças no índice meiótico poderão ocorrer entre plantas da mesma espécie e, possivelmente, na viabilidade do pólen.

Como observado mais detalhadamente nas Figuras 3C e 3D, os grãos de pólen da pitangueira apresentaram principalmente a forma triangular. JUNIOR et al. (2006), observaram esta mesma característica dos grãos de pólen de *E. involucrata* (cereja-da-

mata). Os grãos de pólen das espécies do gênero *Eugenia* variam de pequenos a médios, sendo isopolares; oblato-esferoidais triangular, quadrangular ou pentagonal, dependendo da espécie (STANSKI, 2014).

### 3.5.2.2 Germinação in vitro do pólen

De maneira geral, praticamente não houve diferenças para germinação in vitro dos pólenes de ambos os acessos de pitangueira (pirênico e apirênico). Apenas nas sete e 24 horas de incubação do pólen, constatou-se a maior germinação in vitro do pólen no acesso apirênico coletados de flores após a antese. Todavia, quando o pólen foi coletado de balões florais, este foi menor, ocorrendo diferenças naqueles mantidos por cinco horas de incubação. O acesso apirênico teve maior germinação do pólen em relação ao pirênico (Tabela 5).

**Tabela 5:** Germinação in vitro de pólen (%) obtida após 3, 5, 7, 9 e 24 horas de incubação a 25°C, de pitangueira (*E. uniflora*) pirênica e apirênica, coletados de balões florais e flores após a antese.

Acessos de pitangueira	Tempo (Horas)	Tipo de flor	
		Antese	Balão
<b>Pirênico</b>	3	19,2 a <sup>a</sup> A <sup>b</sup> (a) <sup>c</sup>	1,8 b <sup>a</sup> B <sup>b</sup> (a) <sup>c</sup>
	5	25,9 a A (a)	1,2 b B (b)
	7	19,9 a A (b)	3,4 b B (a)
	9	24,6 a A (a)	10,3 a B (a)
	24	20,5 a A (b)	8,6 a B (a)
<b>Apirênico</b>	3	22,1 b A (a)	0,7 d B (a)
	5	28,5 b A (a)	5,1 bc B (a)
	7	27,1 b A (a)	4,4 c B (a)
	9	23,2 b A (a)	8,6 ab B (a)
	24	46,6 a A (a)	10,9 a B (a)
C.V (%)		14,39	

<sup>a</sup>Médias seguidas por letras minúsculas distintas na coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade para o fator tempo dentro de cada tipo de flor x acesso de pitangueira.

<sup>b</sup>Médias seguidas por letras maiúsculas distintas na linha diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade para o fator tipo de flor dentro de cada tempo x acesso de pitangueira.

<sup>c</sup>Médias seguidas por letras minúsculas (entre parênteses) distintas na coluna diferem entre si pelo Teste de Tukey a 5% de probabilidade, para o fator acesso de pitangueira dentro do tipo de flor x tempo.

Tanto para o acesso pirênico quanto para o apirênico, a germinação do pólen foi maior quando coletado de flores logo após a antese, em todos os períodos de incubação avaliados. As maiores médias foram de 25,9 % na pós-antese e 10,33 % com balões florais para o acesso pirênico e, para o acesso apirênico, as médias superiores foram de 46,60 % para pós-antese e as inferiores de 10,88 % em balões florais.

Resultados semelhantes foram encontrados por Franzon (2004), para a mesma espécie, o qual obteve média de 22,9 % de germinação para pólen coletado pós-antese e de 16,5 % para balões florais.

No acesso pirênico, quando comparado cada tempo de incubação do pólen com a forma de coleta do mesmo, observou-se que a germinação de pólen coletados pós-antese não apresentaram diferenças entre os períodos de incubação.

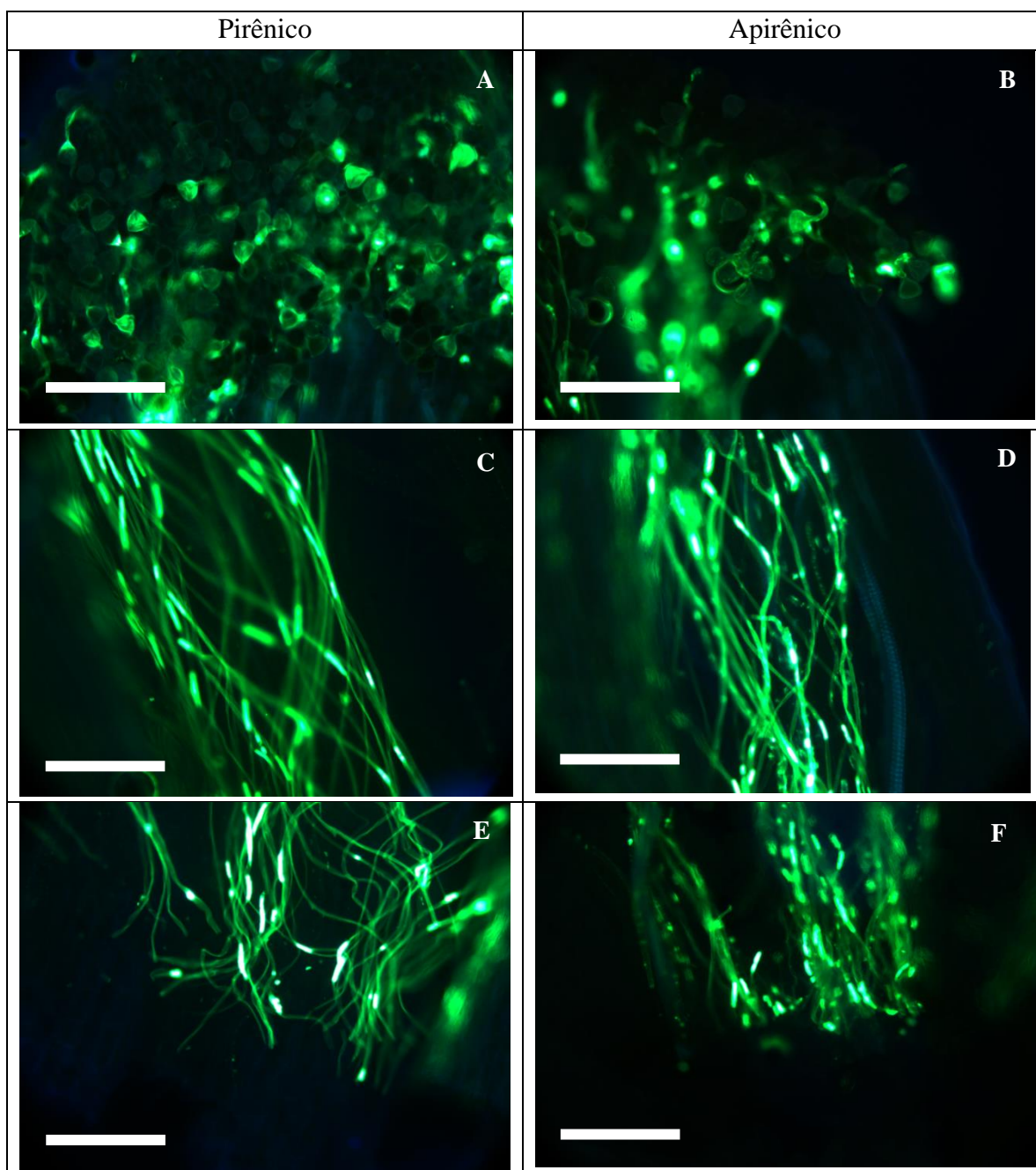
Já para aqueles coletados de balões florais, a maior germinação ocorreu nos períodos em que se aumentou a incubação (9 e 24 horas).

Para o acesso apirênico, observou-se que a germinação de pólen coletado na pós-antese e de balões florais foi maior no período de 24 horas de incubação. Todavia, dentro dos balões florais as médias de 24 horas não diferiram daquelas com nove horas de incubação (Tabela 5). Franzon (2004), também verificou esse aumento na germinação, conforme se incrementou o período de incubação.

### 3.5.2.3 Germinação do pólen em condições naturais e crescimento do tubo polínico

O grão de pólen germinou e o tubo polínico cresceu normalmente no pistilo de ambas as pitangueiras, pirênica e apirênica. Pelo padrão de crescimento no estigma e estilo, ambas as plantas não apresentam autoincompatibilidade (Figura 5), visto que, quando existe incompatibilidade, o tubo polínico se desenvolve lentamente ou nem

mesmo chega a se desenvolver, podendo este apresentar algum tipo de anormalidade (THIELE; STRYDON, 1964; CARVALHO, 1989).



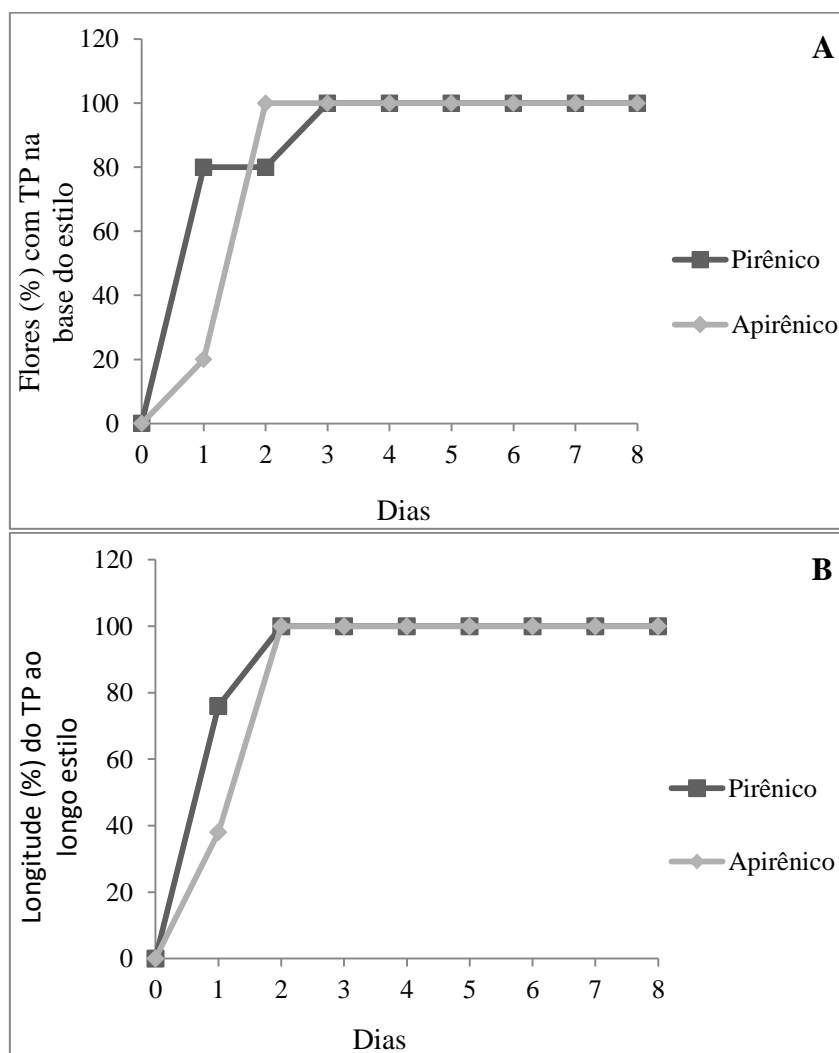
**Figura 5:** Pistilos de flores de pitangueira pirênica (A, C e E) e apirênica (B, D e F). A e B: Grãos de pólen germinados no estigma; C e D: Tubos polínicos crescendo ao longo do estilo; E e F: Tubos polínicos chegando a base do estilo. Preparações por esmagamento (Squash) e tingidas com Azul de Anilina. Barra de escala = 100 $\mu$ m.

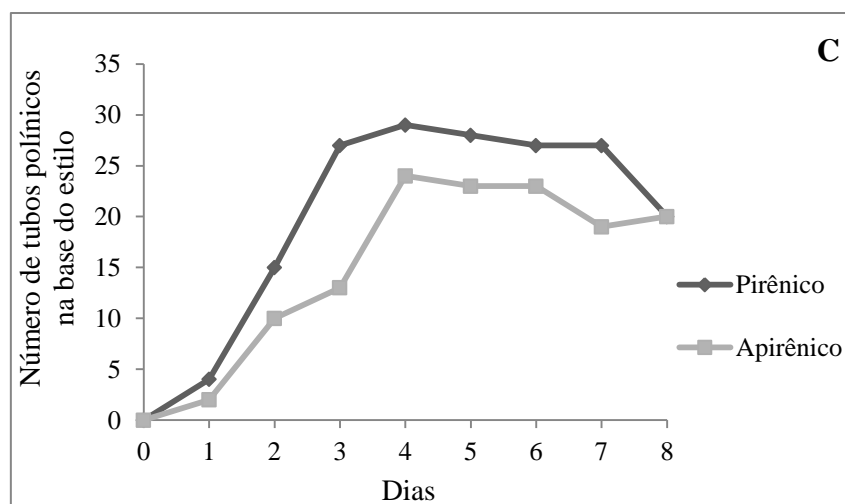
O tempo necessário para o tubo polínico atingir o ovário é variável de acordo com a espécie, podendo levar horas ou dias (TANGMITCHAROEN; OWENS, 1997). No

presente estudo, observou-se que o crescimento do tubo polínico foi rápido, sendo que em 24 horas após a antese, alguns tubos polínicos já alcançavam a base do estilo (Figura 6C) e, em 48 horas já foi possível verificar alguns traços de tubos polínicos no ovário, de ambos os acessos de pitangueira.

Porém, na pitanga apirênica o crescimento do tubo polínico foi pouco mais lento em relação ao acesso com semente. Em 24 horas após a antese, a longitude do tubo polínico alcançou 38% naquela sem semente, enquanto que na com semente foi de 76%. Porém, 48 horas após a antese a longitude do tubo polínico já alcançava 100% em ambas às espécies (pirênica e apirênica) (Figura 6B).

A porcentagem de flores com tubos polínicos na base do estilo também foi variável entre as duas, sendo que, 24 horas após a antese, a pitangueira apirênica apresentava 20% das flores com tubos polínicos na base do estilo e a pirênica com 80% (Figura 6A).





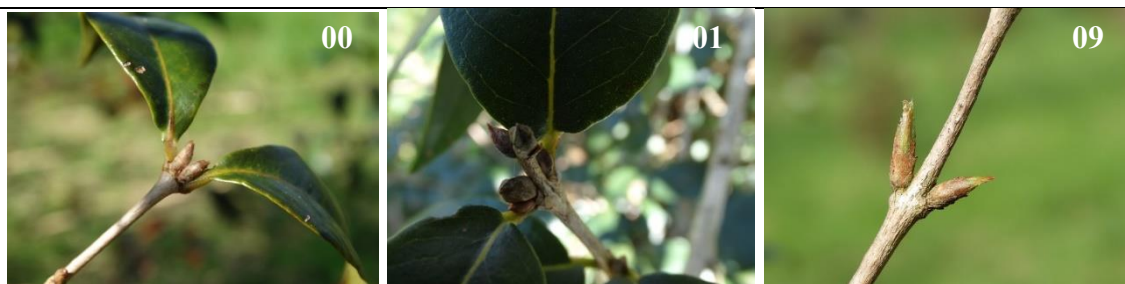
**Figura 6:** Tubos polínicos em flores de pitangueira pirênica e apirênica de acordo com os dias após a antese. A: Flores (%) com tubos polínicos na base do estilo; B: Longitude (%) do tubo polínico ao longo do estilo; C: Número de tubos polínicos na base do estilo.

#### 3.5.2.4 Codificação BBCH dos estádios fenológicos de *E. uniflora*

A descrição dos estágios fenológicos da pitangueira, permitiu descrever diferentes fases, como, brotação, desenvolvimento foliar, emergência, floração e inflorescências e crescimento e amadurecimento dos frutos. Tal descrição dos estágios fenológicos da pitangueira de acordo com a escala geral BBCH para espécies frutíferas foi descrita na Figura 7.

---

#### Código BBCH – Descrição



#### **Estádio 0: Desenvolvimento das gemas**

00 – As gemas no início de desenvolvimento, em latência;

01 – Começo do inchaço das gemas;

09 – A gema começa a mostrar bordas verdes.





### Estádio 1: Desenvolvimento das folhas

- 10 – As primeiras folhas se separam dos brotos;
- 12 – Ocorre o desenvolvimento do segundo par de folhas verdadeiras;
- 19 – Ocorre o desenvolvimento de 9 ou mais folhas verdadeiras.



### Estádio 3: Alongamento da haste, desenvolvimento do broto

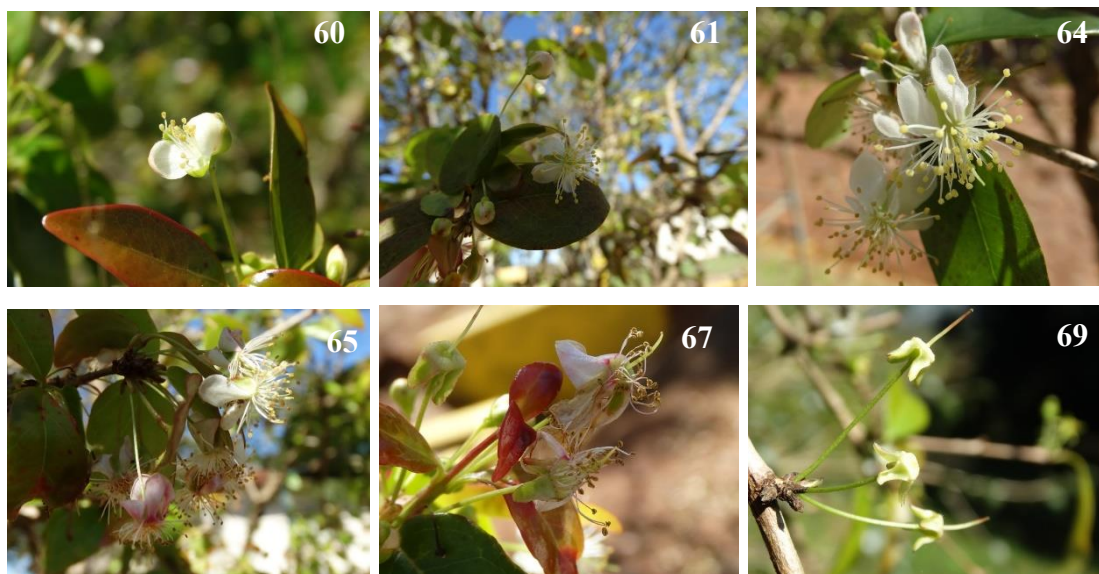
- 35 – O broto alcança cerca de 50% de sua longitude e diâmetro final;
- 39 – O broto alcançou o máximo de sua longitude e diâmetro final.



### Estádio 5: Aparição do órgão floral

- 51 – Os botões florais estão visíveis e apresentam-se ligeiramente verdes;
- 55 – As flores estão visíveis, porém ainda fechadas (botões verdes) e apresentam-se distribuídas isoladas ou agrupadas em inflorescências com ou sem folhas;
- 56 – As pétalas crescem, e as sépalas cobrem cerca da metade da corola (botão branco);

59 – As sépalas estão abertas e a maioria das pétalas ainda fechadas, prestes a abrirem.



### Estádio 6: Floração

60 – Primeiras flores abertas;

61 – Início da floração: cerca de 10% das flores abertas;

64 – Cerca de 40% de flores abertas;

65 – Plena floração: cerca de 50% das flores abertas. As primeiras pétalas começam a secar e cair. E suas anteras também começam a secar.

67: Floração chegando ao seu final. A maioria das pétalas e das anteras caídas;

69: Final da floração: Caíram todas as pétalas e anteras e o fruto começa a se tornar visível, e suas sépalas estão voltadas para baixo.



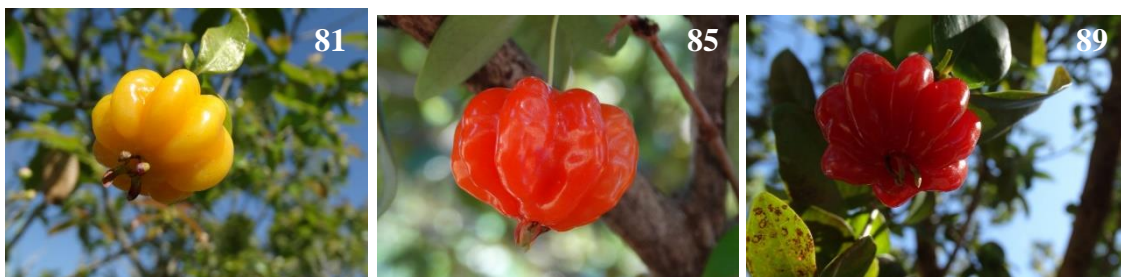
### Estádio 7: Formação do fruto

70 – Primeiros frutos visíveis, com as sépalas ainda voltadas para baixo;

72 – Os frutos com cerca de 20% do seu tamanho específico, de coloração verde escuro. Suas sépalas apresentam-se em forma de coroa e voltadas para cima;

75 – Os frutos alcançam cerca de 50% de seu tamanho específico, e apresentam-se de coloração verde claro;

79 – Os frutos alcançam o tamanho específico da espécie.



### **Estádio 8: Maturação dos frutos**

81 – Início da maturação e mudança de coloração dos frutos (alaranjado);

85 – Maturação avançada. Continuação da coloração específica da espécie, passando do alaranjado para vermelho;

89 – Maturação plena. Final da coloração específica da espécie, apresentando vermelho intenso.



### **Estádio 9: Início da parada de crescimento**

91 – As brotações completaram seu desenvolvimento e as folhas adquirem sua plena coloração verde.

---

**Figura 7:** Estádios fenológicos da pitangueira (*E. uniflora*) utilizando a nomenclatura para espécies frutíferas de acordo com a escala geral BBCH.

Os estádios fenológicos de *E. uniflora* foram descritos pela primeira vez no presente estudo de acordo com a escala BBCH, possibilitando descrever todas as fases dos diferentes estádios vegetativos e reprodutivos da espécie, sendo ferramenta importante e útil para correto manejo do pomar (Figura 7). Porém, fez-se adaptação, pois na verdadeira escala têm-se o período de dormência, fato que a pitangueira não apresenta.

Até o início da década de 1990, não havia nenhuma codificação homogênea para descrever os estádios de desenvolvimento das principais plantas cultivadas. Anteriormente, os estádios eram geralmente caracterizados pela combinação de letras e números (FLECKINGER, 1948).

Zadoks et al. (1974) publicaram o primeiro código decimal para tentar normalizar na descrição dos estádios de desenvolvimento homólogos de diferentes espécies, utilizando os mesmos códigos. A continuação do desenvolvimento deste sistema é a escala BBCH (Biologische Bundesantalt, Bundessortenamt und Chemische Industrie) proposto por Bleiholder et al. (1989). A extensão desta escala foi proposto por Hack et al. (1992). Desde então, a escala BBCH tem sido amplamente aceita para utilização em inúmeras espécies como feijão-fava (LANCASHIRE et al., 1991), Cucurbitáceas (FELLER et al., 1995), beterraba (MELGAREJO et al., 1997), nêspera (MARTINEZ-CALVO et al., 1999), café (ARCILA-PULGARIN et al., 2002), caqui (GARCÍA-CARBONELL et al., 2002).

### 3.5.2.5 Frutificação efetiva

A média de frutificação efetiva foi maior em ramos de polinização livre na pitangueira pirênica (45,26%), seguido daqueles com tela anti-afídeo (14,75%). Ramos ensacados com TNT não formaram fruto. A frutificação efetiva do acesso apirênico também foi maior em polinização livre (14,57%), mas os demais tratamentos não apresentaram frutificação (Tabela 6).

**Tabela 6:** Frutificação efetiva (%) em pitangueira (*E. uniflora*) pirênica e apirênica, submetidos a diferentes tratamentos de polinização (T1 – ramos ensacados com TNT; T2 – ensacados com tela anti-afídeo; T3 – polinização livre).

Tratamento	Frutificação Efetiva (%)	
	Pitanga pirênica	Pitanga apirênica
T1	0,00 a C*	0,00 a B
T2	14,75 a B	0,00 b B
T3	45,26 a A	14,57 b A
C.V (%)	41,20	

\*Médias com letras diferentes, maiúsculas na mesma coluna e minúscula na mesma linha, diferem pelo teste de Tukey ( $\alpha = 0,05$ ).

Esses dados demonstraram que, para ambos os acessos da espécie em estudo, necessita-se de agente polinizador para maior frutificação efetiva. O mesmo foi verificado por Franzon (2008), que observou aumento da frutificação efetiva em ramos com polinização livre, concluindo que é necessário agente polinizador.

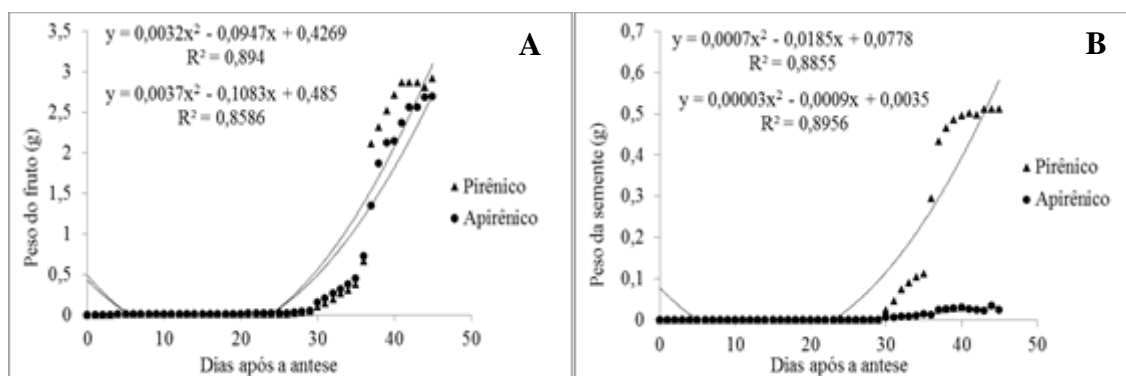
Confirmando essa informação, Franzon et al. (2010) utilizaram marcadores moleculares AFLP para a avaliação de populações de pitangueiras oriundas de autopolinização e de polinização livre, cujos dados demonstraram que a espécie se reproduz tanto por autofertilização quanto por polinização cruzada.

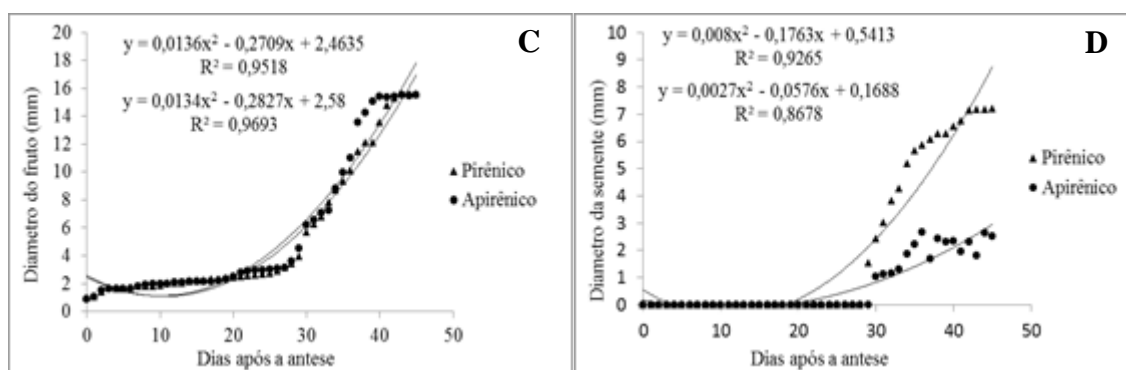
Observou-se que o acesso pirênico teve maior frutificação efetiva comparada ao apirênico. Como nos acessos pirênicos foi contabilizado maior número de grãos de pólen (Tabela 4), supõe-se que isso tenha possibilitado a maior frutificação ocorrida, pois assim aumenta-se a probabilidade da ocorrência de polinização.

Segundo Freitas (1997), quanto maior for o número de grãos de pólen viáveis e compatíveis no estigma, mais eficiente é o processo de polinização, ou seja, maior será a competição entre eles para fecundar os óvulos e maior será a percentagem de sementes formadas.

### 3.5.3 MORFOMETRIA DE FRUTOS DE *E.uniflora*

A curva de crescimento dos frutos, considerando-se o peso e diâmetro dos mesmos foi diferente entre os acessos de pitangueira (pirênico e apirênico) (Figura 8).





**Figura 8:** Peso do fruto e da semente (g) (A e B) e diâmetro do fruto e da semente (mm) (C e D), das flores de pitangueira pirênica e apirênica de acordo com os dias após a antese.

Em relação ao peso do fruto, obtiveram-se os pontos de mínima com 14,8 e 14,6 dias após a antese para a pitangueira apirênica e pirênica, cujas médias foram de 0,27 e 0,30 gramas, respectivamente (Figuras 8A e 8B).

Quanto ao peso da semente, os pontos de mínima foram com 15 e 13,2 dias após a antese para a pitangueira apirênica e pirênica, cujas médias foram de 0,003 e 0,04 gramas, respectivamente (Figuras 8A e 8B).

O peso de frutos, praticamente para ambos os acessos, foi igual até o 29º dia após a antese (DAA), não sendo tão acentuado até esse período, com comportamento de crescimento lento. Porém, a partir daí houve aumento gradual no peso, conforme o crescimento dos frutos. A partir deste período, ocorreu acelerado acúmulo na massa de matéria fresca e conseqüente aumento do peso (Figura 8A).

Quanto ao peso da semente, o comportamento entre os acessos foi diferenciado, sendo no apirênico muito menor, o que comprova tal característica (Figura 8B).

Avaliando-se o diâmetro do fruto, os pontos de mínima foram aos 10 e 10,5 dias após a antese para a pitangueira apirênica e pirênica, cujas médias foram de 1,11 e 1,09 milímetros, respectivamente. E para o diâmetro da semente, os pontos de mínima foram aos 10,66 e 11,02 dias após a antese para a pitangueira apirênica e pirênica, sendo médias de 0,14 e 0,43 milímetros, respectivamente (Figuras 8C e 8D).

O diâmetro do fruto para ambos os acessos até o 19º DAA não teve aumento muito expressivo, mas, a partir daí, ocorreu crescimento gradual, havendo praticamente mesmo comportamento em ambos os acessos (Figura 8C).

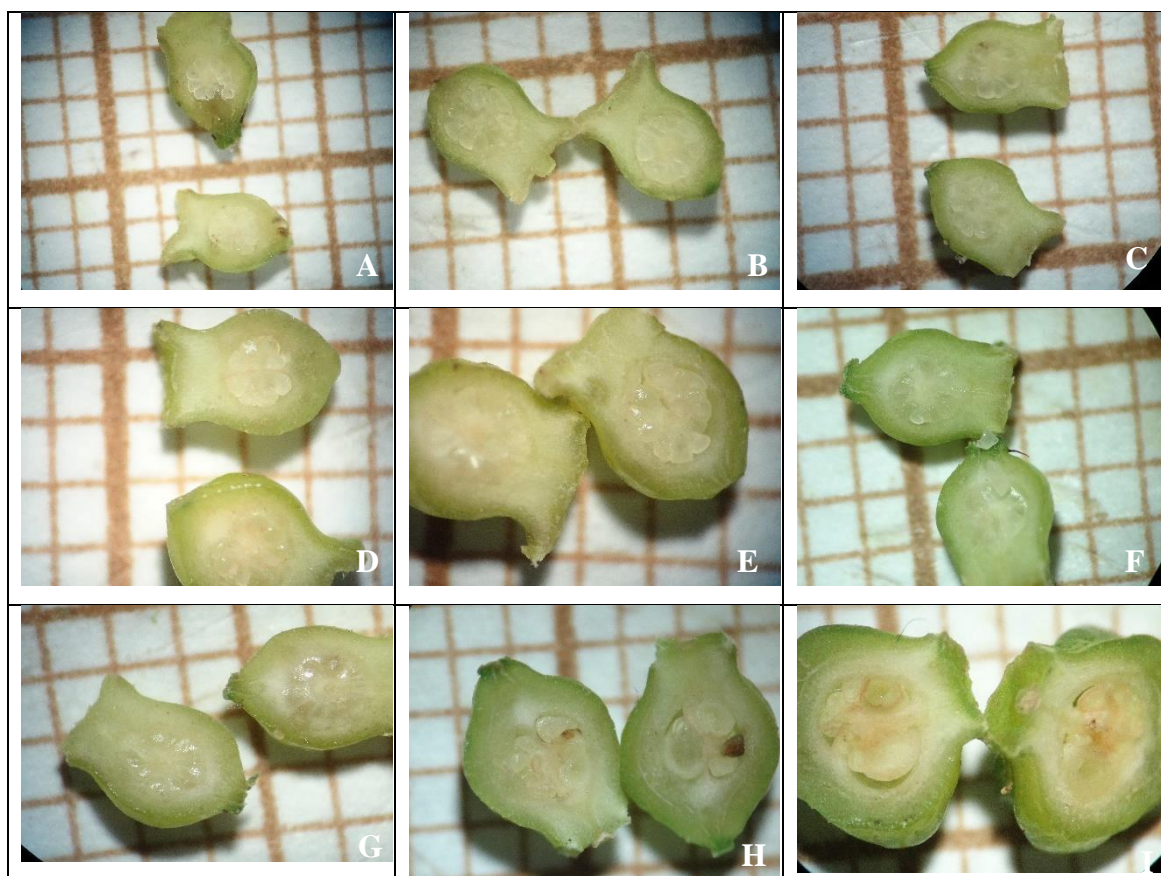
O diâmetro da semente apresentou diferenças entre ambos os acessos, sendo no apirênico muito menor (Figura 8D). Esses resultados demonstraram que, apesar da

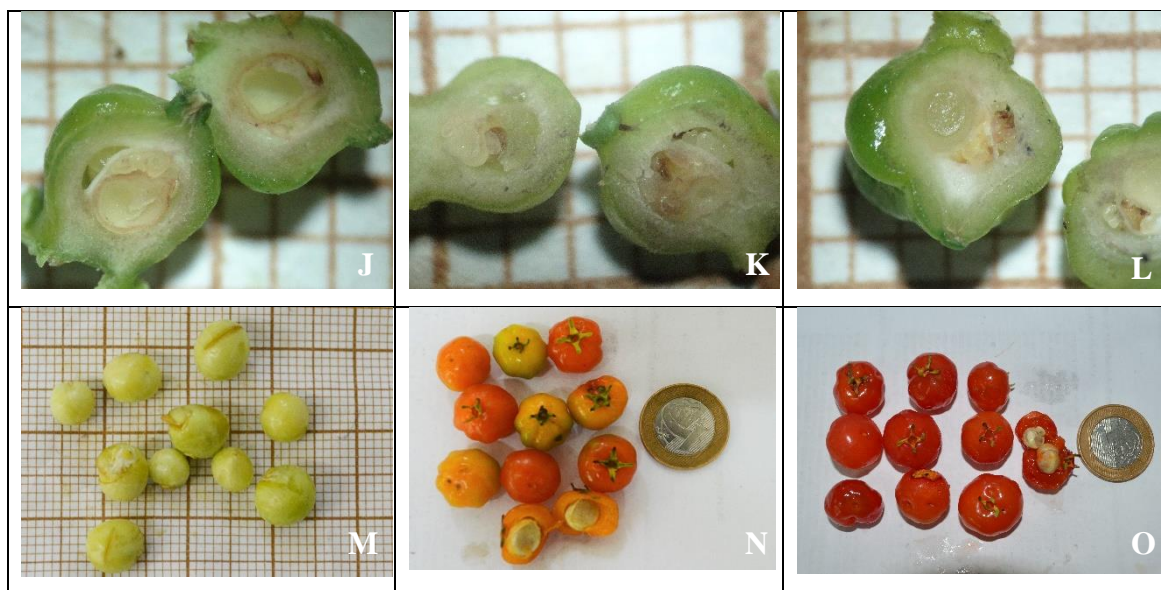
pitangueira apirênica possuir sementes rudimentares, mesmo assim, ela é praticamente igual ao fruto do pirênico, garantindo assim, maior rendimento de polpa.

Traços de sementes de pitangueira com e sem semente começaram a aparecer no fruto após o 18° DAA (Figura 9H). Tal comportamento também foi observado para jabuticabeira por Danner (2009), o qual verificou desenvolvimento rápido, pois no 28° DAA, sendo possível verificar sua separação da polpa e a semente já estava, em média, com 80% de seu peso final, obtido nos 35° DAA. Porém, para o acesso com semente de pitangueira, à mesma continuou sua formação naturalmente até o final da maturação do fruto, ocorrida em 40° DAA.

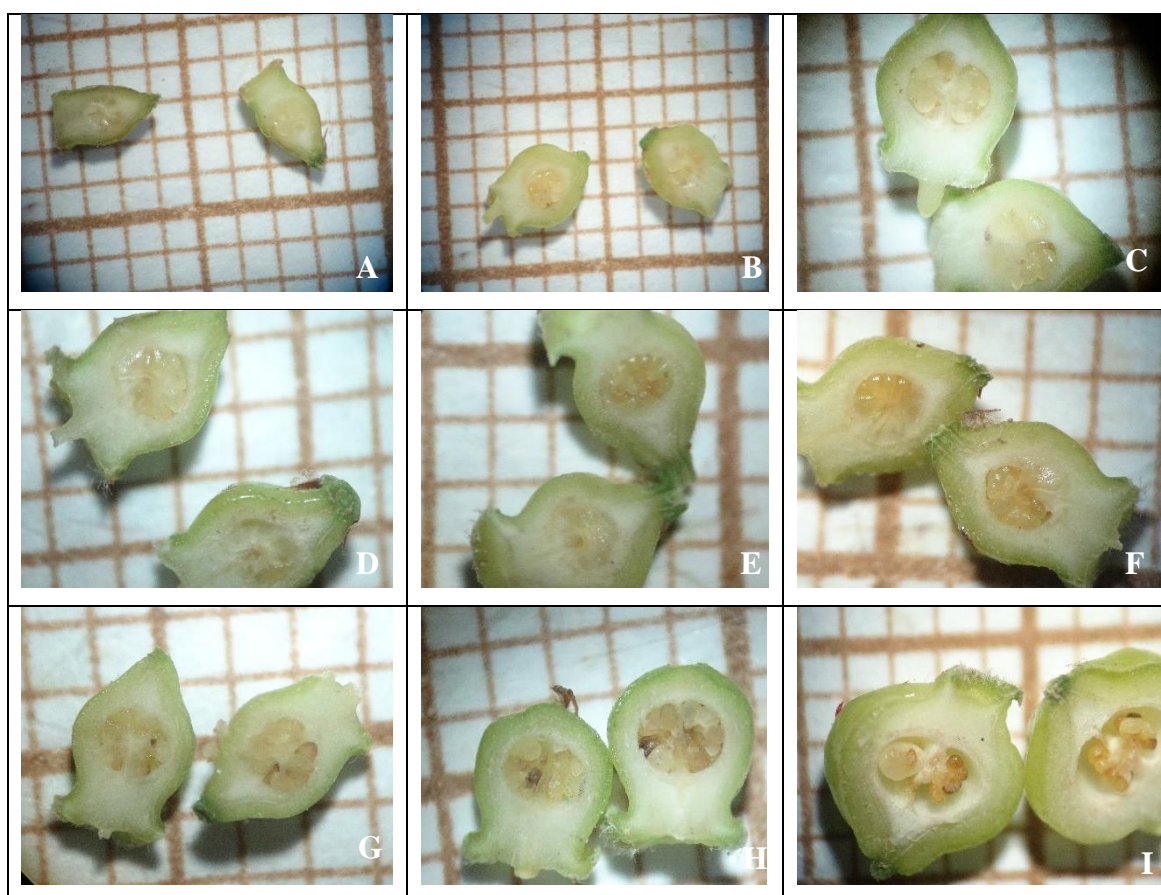
No acesso apirênico, a partir do 25° DAA, as sementes que estariam se formando naturalmente, começaram a degenerar, sendo observados somente em alguns frutos, sementes muito pequenas e, na grande maioria, somente traços de semente (10 N e 10 O).

A mudança de coloração dos frutos, que indica o grau de maturação, ocorreu nos últimos cinco dias, para ambos os acessos, já na fase de estabilização do crescimento dos mesmos. A cor do fruto primeiramente passa de verde para amarelado e, então, para vermelho claro, e por fim vermelho brilhante, nos últimos dias (Figuras 9 e 10).





**Figura 9:** Estádios de desenvolvimento do fruto e semente de pitangueira pirênica (Estádios: 6 (A), 8(B), 9(C), 10 (D), 11 (E), 13 (F), 15 (G), 18 (H), 21 (I), 23 (J), 25 (K), 30 (L), 35 (M), 37 (N) e 40 (O) dias após a antese).







**Figura 10:** Estádios de desenvolvimento do fruto e semente de pitangueira apirênica (Estádios: 6 (A), 8(B), 9(C), 10 (D), 11 (E), 13 (F), 15 (G), 18 (H), 21 (I), 23 (J), 25 (K), 30 (L), 35 (M), 37 (N) e 40 (O) dias após a antese).

### 3.6 CONCLUSÕES

A antese das flores de ambos os acessos de pitangueira é diurna, sendo a polinização das mesmas mais efetivas quando realizada por insetos, principalmente abelhas, aumentando-se a frutificação efetiva.

O período total considerando-se o aparecimento dos balões florais até a maturação dos frutos foi de aproximadamente 85 dias para o acesso pirênico e de 75 dias para o apirênico.

A pitangueira pirênica apresentou maior número de anteras por flor, pólen por antera e pólen por flor em comparação ao acesso apirênico.

Os grãos de pólen apresentaram formato triangular, formando-se normalmente em ambos os acessos. Foi possível verificar a fase de tétrades em ambos os acessos, encontrando-se os pólenes maduros, pouco antes da antese floral.

A viabilidade dos grãos de pólen *in vitro*, para ambos os acessos foi maior quando coletados de flores após a antese e quando se utilizou períodos maiores de incubação.

Em condições naturais, a germinação do grão de pólen e o crescimento do tubo polínico ocorrem normalmente, chegando ao final do estilo 48 horas após a antese, não havendo autoincompatibilidade para ambos os acessos.

Os estádios fenológicos vegetativos e reprodutivos de *E. uniflora* foram descritos pela primeira vez de acordo com a escala BBCH, que se mostrou ferramenta útil.

## 4. CAPITULO II: EMBRIOGÊNESE E ONTOGÊNESE EM *E. uniflora* PIRÊNICA E APIRÊNICA

### 4.1 RESUMO

A pitangueira produz frutos com sementes que normalmente pode ser entrave para uso pela indústria. Na UTFPR tem-se um genótipo que produz frutos sem sementes e que pode com isso despertar o interesse do mercado para seu consumo e aumento nas áreas produtivas. Mas a causa de tal comportamento ainda é mistério, necessitando-se de estudos que possam elucidar tal característica. O objetivo deste trabalho foi observar a embriogênese e ontogênese de pitangas apirênicas e pirênicas (*E. uniflora* L.). O trabalho foi realizado nos Laboratórios de Microscopia e de Fisiologia Vegetal e na área da coleção de frutas nativas da UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos – Paraná e, também na Estação Experimental de Aula Dei (Zaragoza, Espanha). A partir das matrizes apirênicas e pirênicas, flores em pré-antese, antese e frutos em diferentes estádios de desenvolvimento foram coletados e fixados em solução FAA 70% (90 álcool: 5 ácido acético: 5 formoldeído), armazenados em geladeira até o início do processo de desidratação. Para a desidratação do material, a água foi removida gradualmente utilizando uma série etílica com álcool butílico terciário e por fim infiltradas em parafina, para posterior corte em micrótomo. Também fixou-se parte do material em glutaraldeído (2,5%) em 0,03 M, para posterior desidratação e inclusão em historesina sintética. Após, os cortes foram distendidos em lâminas, corados com diferentes corantes para observação e descrição dos estádios embrionários, sendo observados em microscopia de fluorescência. Os estudos embriológicos permitiram verificar que a *E. uniflora* possuem óvulos unitegmentados, hemicampilótropo, crassinucelado, plurióvulados, biloculares e possuem embriões nucelares. O desenvolvimento dos óvulos ocorre de maneira diferenciada, sendo possível causa da baixa relação semente/óvulo. Não foi possível verificar corretamente todas as fases embrionárias, suspeitando que estas fases sejam muito rápidas. Supõem-se que alguns embriões sejam de origem nucelar, porém, percebe-se pela formação do embrião e de tecido de reserva que também ocorre a embriogênese através da fecundação. Acredita-se que, nesta planta produtora de frutos sem sementes ou quando presentes muito rudimentares, o homem acabou utilizando tal semente rudimentar para obtenção da muda, o que gerou este genótipo. No acesso pirênico foi possível verificar secreção, que parece ser indicativo do caminho a ser percorrido pelo tubo polínico até chegar ao óvulo e fertilizá-lo, o que não se observou no acesso apirênico, podendo ser outro fator que impede a chegada do tubo polínico até o óvulo e assim sem que haja direcionamento certo. Observaram-se inúmeros grãos de amido de reserva que são utilizados durante a embriogênese, como também o acúmulo de compostos fenólicos, possivelmente pela oxidação do tecido. Como característica das Myrtaceae, em ambos os acessos de pitangueira se observou cavidades secretoras, que são glândulas oleíferas. A degeneração dos óvulos ocorre entre 14 e 17 dias após a antese.

**Palavras-chave:** *Eugenia uniflora*. Cortes histológicos. Formação do embrião.

### 4.2 ABSTRACT

The Surinan cherry (*Eugenia uniflora* L.) produces fruits with seeds that can usually be hindering for use by the industry. The UTFPR has a genotype that produces fruits without seeds and that can thus arouse the interest of the market for its consumption and increase in the productive areas. However, the cause this behavior is still a mystery, requiring studies that can elucidate this characteristic. The aim of this work was to observe the embryogenesis and ontogenesis of apirenic and pirenic Surinan cherry. The work was carried out in the Microscopy and Plant Physiology Laboratories and in the area of the native fruit collection at UTFPR - Câmpus Dois Vizinhos – Paraná State, Brazil. Also some studies was carried out at the Aula Dei Experimental Station (Zaragoza, Spain). The apirenic and pirenic plants, pre-anthesis, anthesis and fruit at different development stages were collected and fixed in 70% FAA solution (90 alcohol: 5 acetic acid: 5 formaldehyde). After it was stored in a refrigerator until the beginning of the dehydration process. For the dehydration of the material, the water was gradually removed using ethylene series with tertiary butyl alcohol and finally paraffin infiltrated for after microtome cutting. Part of the material was fixed in glutaraldehyde (2.5%) in 0.03 M, for further dehydration and inclusion in synthetic historesin. Posteriorly, the slices were distended in slides, stained with different coloration for observation and description of the embryonic stages, it being observed in fluorescence microscopy. The embryological studies allowed to verify that the *E. uniflora* have unitegumentados, hemicampilótropo, crassinucelado, pluriovulados, biloculares ovules and it have embryos nucleares. The ovules development occurs in a differentiated way, it being possible cause of the low seed / ovule relation. It was not possible to verify all the embryonic phases correctly, what it can to have relation these phases will be very fast. It is assumed that some embryos from nucellar origin, however, it is noticed by the formation of the embryo and of reserve tissue that also occurs the embryogenesis through the fertilization. It is believed that the origin this plant with fruits without seeds or when very rudimentary present, the man used the rudimentary seed to obtain the seedling, which generated this genotype. In the pirenic access was possible to verify secretion, which seems to be indicative for pollen tube where is must to way until fertilize occur, what was not observed in the apirenic access, it can to be another factor that prevents the arrival of the pollen tube to the ovule and so without certain direction. Numerous starch grains were observed which are used during embryogenesis, as well as the accumulation of phenolic compounds, what it possibly through the oxidation of the tissue. As a characteristic of the Myrtaceae, secretory cavities were observed, that are oil glands, present in both Surinan cherry genotypes. Ovules degeneration occurs between 14 and 17 days after anthesis.

**Key words:** *Eugenia uniflora*. Histological sections. Embryo formation.

### 4.3 INTRODUÇÃO

Nas angiospermas, o gineceu está dividido basicamente em três partes, estigma, estilo e ovário. Embora exista grande variação na morfologia floral, o desenvolvimento do tubo polínico no pistilo da flor ocorre com a germinação no estigma, crescendo através do estilo e entrando no ovário (HERRERO, 2003).

A polinização ocorre com a chegada do pólen ao estigma das flores, a qual pode ocorrer por contato direto da antera com o estigma ou por agentes polinizadores, como o vento, água, aves e insetos (JOHRI et al., 2001). A polinização por insetos é considerada a mais comum em fruteiras, realizada principalmente por abelhas (RODRIGO; HERRERO, 2000).

A pitangueira é classificada como autocompatível, porém, necessita da atuação de agentes polinizadores, principalmente das abelhas melíferas, para melhor frutificação. A germinação do pólen se inicia nas primeiras 24 horas após a polinização e dentro de 48 horas após a polinização, alguns tubos polínicos já estão dentro do ovário (FRANZON, 2008).

Com a fecundação ocorre a embriogênese zigótica, que se inicia na divisão assimétrica do zigoto, dando origem a célula apical e basal, o embrião globular, o qual posteriormente passará para o estágio cotiledonar, com a iniciação do primórdio radicular, seguido pelo caule, no caso da pitangueira, que é dicotiledônea (ALMEIDA, 2007). Estas estruturas terminam se convertendo em plantas completas (TISSERAT et al., 1979).

A pitangueira apresenta grande número de óvulos, porém, normalmente produz uma ou duas sementes por fruto, tendo como hipótese para a baixa relação semente/óvulo o diferente estágio de desenvolvimento dos óvulos, pois número bastante expressivo sofre abortamento, durante o processo reprodutivo (FRANZON, 2004).

Este fato é característico de várias espécies de *Eugenia* (WYK; LOWREY, 1988, BEARDSSELL et al., 1993a, b; PROENÇA; GIBBS, 1994; LUGHADHA; PROENÇA, 1996). As condições hereditárias ao longo da evolução podem ser responsáveis pela baixa razão semente/óvulo em muitas espécies (CASPER; WIENS, 1981, CHARLESWORTH, 1989). Esse fenômeno pode também ser resultado da competição seletiva entre os embriões em desenvolvimento, por recursos maternos (ARATTHI et al., 1996).

Para *Eugenia*, não existe, no entanto, trabalhos referentes ao desenvolvimento comparativo das sementes de mesmo fruto, de modo a permitir o registro da etapa em que se dá a divergência no desenvolvimento, definindo-se quais sementes chegarão à maturidade e quais terão seu desenvolvimento abortado (SILVA et al., 2013).

Silva et al. (2013), citaram a ocorrência de caracteres embriológicos semelhantes aos de espécies de Myrtaceae anteriormente incluídas em *Eugenia* e hoje pertencentes a

*Syzygium*, como óvulos unitegmentados e embriões nucelares. Dessa forma, é importante a realização de estudos com a pitangueira.

O objetivo deste trabalho foi observar a embriogênese e ontogênese de pitangas apirênicas e pirênicas (*E. uniflora* L).

#### 4.4 MATERIAL E MÉTODOS

Os trabalhos foram realizados na Estación Experimental de Aula Dei (EEAD) - Consejo Superior de Investigacion Científica (CSIC) - Zaragoza, Espanha. Porém, primeiramente foram coletadas flores de pitangueira apirênica e pirênica nas dependências da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Câmpus Dois Vizinhos, Dois Vizinhos – Paraná, onde se concentra coleção com diferentes acessos desta fruteira.

Foram realizadas coletas de 10 flores em pré-antese e em antese, bem como, de frutos em diferentes estádios de desenvolvimento, a partir de ambos acessos (apirênico e pirênico). Os materiais coletados foram fixados em solução FAA 70% (90 álcool: 5 ácido acético: 5 formoldeído) (JOHANSEN, 1940) e armazenados em geladeira até o início do processo de desidratação. Para a desidratação do material, a água foi removida gradualmente, para evitar a plasmólise, utilizando-se série etílica com álcool butílico terciário (álcool 70%, 80%, 90%, 100% e 100%) em etapas de 15 minutos e por fim infiltradas em parafina. As montagens foram armazenadas e levadas para EEAD - Espanha, para posterior corte em micrótomo. Também fixou-se parte do material em glutaraldeído (2,5%) em 0,03 M, que também foi enviado para a EEAD - Espanha, para posterior desidratação e inclusão em historesina sintética.

Os blocos foram seccionados em micrótomo de rotação, com cortes de 10 nm de espessura para o material incluso em parafina e em ultramicrótomo com corte de 2 nm, naqueles em historesina sintética. Após, os cortes foram distendidos em lâminas, corados com diferentes corantes. Inicialmente utilizou-se Azul de anilina 0,1%, para observações feitas em microscópio com luz fluorescente e posteriormente Azul de toluidina 0,02% + PAS e Gerlach, para observação com luz normal. Após corados, nos cortes foi feita a descrição dos estádios embrionários. As análises microscópicas e registros fotográficos foram realizados com microscópio Leica DM2500 (Cambridge, UK) e fotografado com câmera DFC310 FX (Leica, Cambridge, UK).

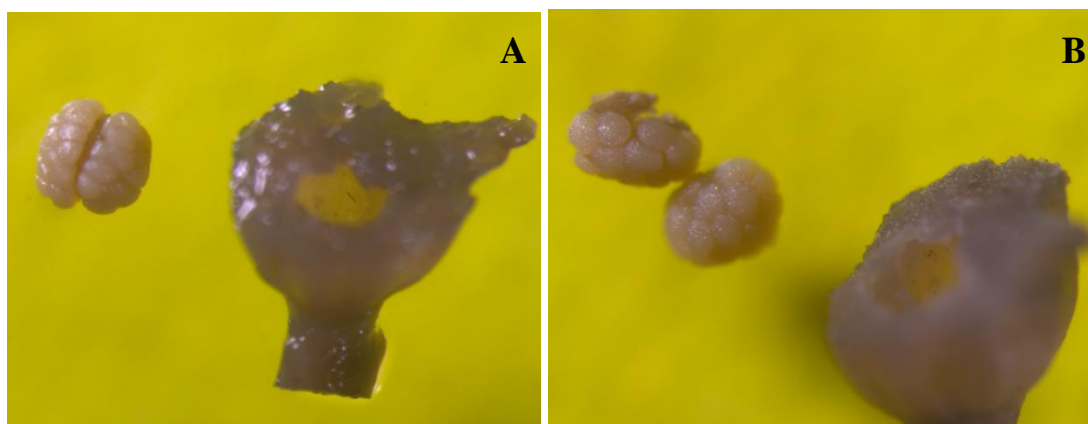
A partir destes cortes e, após observações e registros fotográficos, foi feita a descrição dos estádios de desenvolvimento e caracterização dos óvulos e ovário; secreções e calose nos óvulos; presença de tubos polínicos no ovário; aspectos dos óvulos antes e após a fecundação e aspectos dos óvulos após a fecundação e sua degeneração.

## 4.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.5.1 QUANTIFICAÇÃO E CARACTERIZAÇÃO DO ÓVULO E OVÁRIO DE *E. uniflora*

Para a espécie em estudo (*E. uniflora*), existem poucos trabalhos referentes à embriogênese (SILVA et al., 2013). Porém, existem com espécies da mesma família Myrtaceae, como a goiabeira-serrana (*Acca sellowiana*) (CORREIA, 2010; PESCADOR et al., 2009; CANGAHULA-INOCENTE, 2007) e jabuticabeira branca (*Plinia sp.*) (SILVA, 2005).

No ovário da pitangueira (*E. uniflora*) foram observados inúmeros óvulos, em ambos os acessos (Figura 11), sendo encontrados em média 19 óvulos por loco na pirênica e 17 na apirênica, sendo que ambas apresentaram dois locos. A contagem dos óvulos foi feita nos ovários aos 0 (estágio de balão), 1, 2 e 3 dias após a antese, tendo os ovários médias de tamanhos de 1,95 x 2,81 mm e 1,95 x 2,71 mm para a pitangueira pirênica e apirênica, respectivamente (Tabela 7).



**Figura 11:** Quantificação de óvulos no ovário de *E. uniflora*, pirênica (A) e apirênica (B). Observações feitas na lupa (aumento 4x).

**Tabela 7:** Número de óvulos em ambos os locos e tamanho do ovário dos acessos de pitangueira pirênica e apirênica. Contagens realizadas em óvulos nos estádios 0 (antes da antese), 1, 2 e 3 dias após a antese.

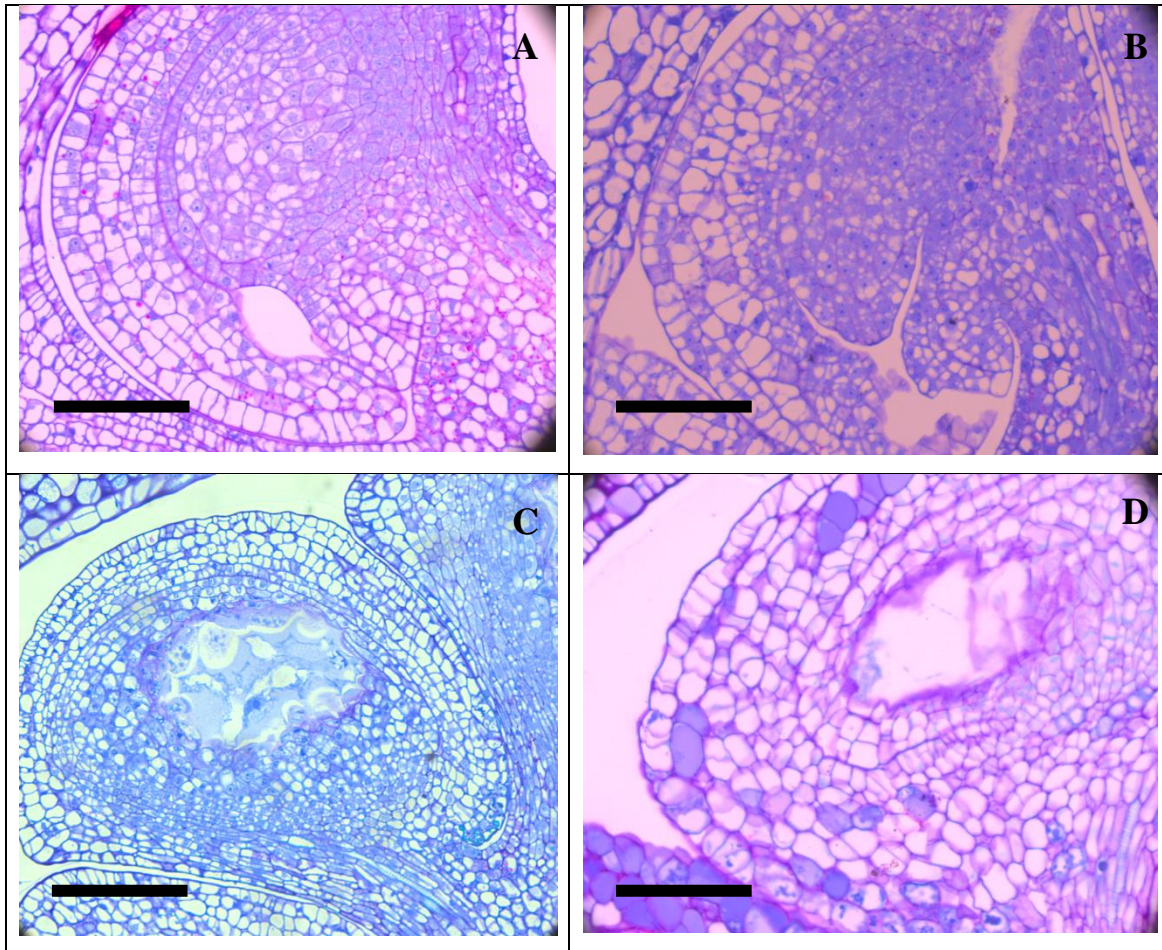
Acessos de pitangueira	Estágio (Dias após a antese)	Número de óvulos		Tamanho do ovário (mm)	
		Loco 1	Loco 2	Largura	Comprimento
<b>Pirênico</b>	0	18,75±2,37	17,52±2,37	1,94±0,17	2,87±0,23
	1	20,25±1,38	18,85±1,38	1,94±0,17	2,75±0,37
	2	19,62±0,91	18,42±0,91	1,94±0,17	2,68±0,26
	3	23,37±3,37	20,74±3,37	2,00±0,00	2,94±0,17
Média		20,5	18,88	1,95	2,81
<b>Apirênico</b>	0	14,87±1,12	15,34±1,12	1,87±0,23	2,68±0,37
	1	17,62±1,41	15,88±1,41	1,94±0,17	2,68±0,26
	2	18,62±1,99	19,35±1,99	2,00±0,00	2,62±0,23
	3	17,28±2,06	18,44±2,06	2,00±0,00	2,86±0,24
Média		17,10	17,25	1,95	2,71

Segundo Silva e Pinheiro (2007), flores de quatro espécies de *Eugenia* apresentaram ovário ínfero, bilocular e pluriovulado, com o número de óvulos variando entre elas. Os valores foram de 20 óvulos para *E. uniflora* e *E. rotundifolia*, 28 para *E. puniceifolia* e 33 para *E. neonitida*.

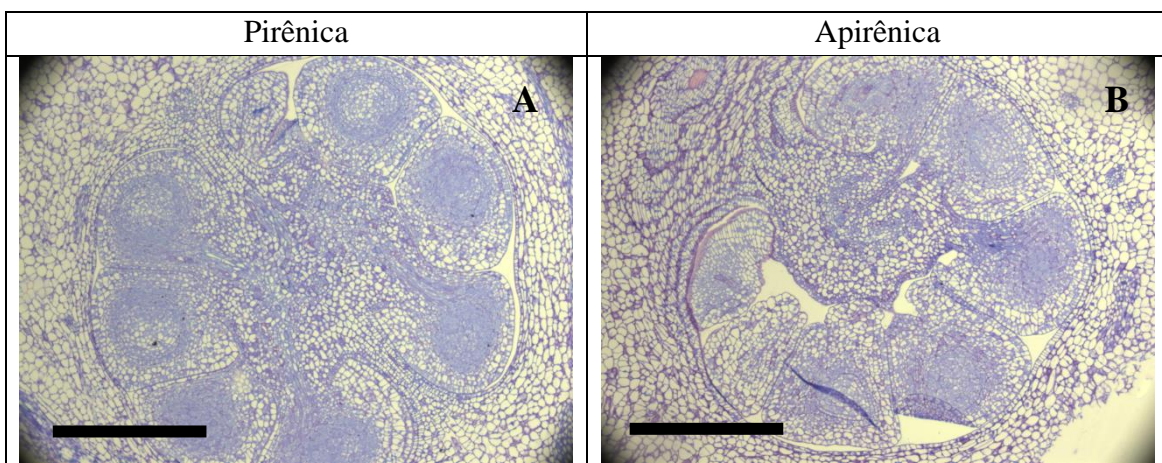
Os óvulos de ambos os acessos de pitangueira, avaliados no presente trabalho, foram classificados como unitegmentados (Figuras 12A e 12B), ou seja, com apenas um tegumento; hemicampilótopo, caracterizando-se pelo funículo curvado (Figuras 12C e 12D); crassinucelado (Figuras 13G e 13H), ou seja, com a nucela apresentando grande número de camadas de células com núcleos proeminentes (CANGAHULA-INOCENTE, 2007). Esta descrição das características dos óvulos da pitangueira realizado no presente trabalho esta de acordo com a aquela realizada por Silva et al. (2013). Sendo assim, são informações complementares para a espécie, já que praticamente não se tem tais descrições.

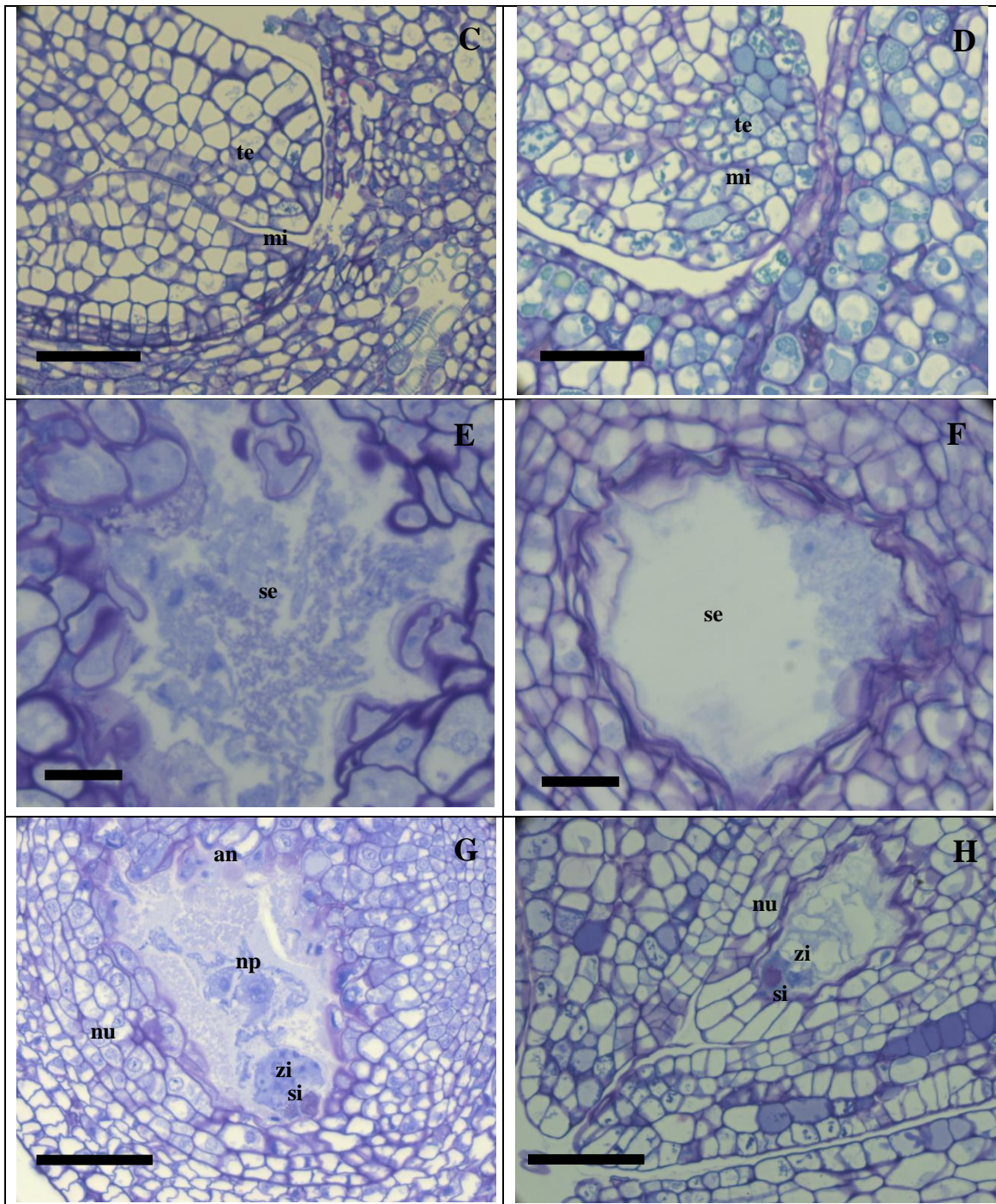
Pirênica	Apirênica
----------	-----------





**Figura 12:** Secções longitudinais de óvulos de flores de pitangueira pirênica e apirênica. A e B: Óvulos unitegmentados, ou seja, apenas um tegumento; C e D: Óvulos hemicampilótroto; Secções em resina de 2 $\mu$ m e tingidas com PAS e Azul de Toluidina. Barras de escala: A, B, C e D = 100 $\mu$ m.





**Figura 13:** Seções longitudinais de óvulos de flores de pitangueira pirênica e apirênica cinco dias após a antese. A e B: Ovário com inúmeros óvulos; C e D: Óvulo com detalhe da micrópila; E e F: Óvulos com detalhe do saco embrionário; G e H: Óvulo após fertilização. Seções em resina de 2µm e tingidas com PAS e Azul de Toluidina. Barras de escala: A e B = 200µm; C e D = 50µm; E e F = 20µm; G e H = 100µm. (te) – tegumento; (mi) – micrópila; (se) – saco embrionário; (an) – antípodas; (np) – núcleo polar; (zi) – zigoto; (si) – sinérgides; nu - nucelo.

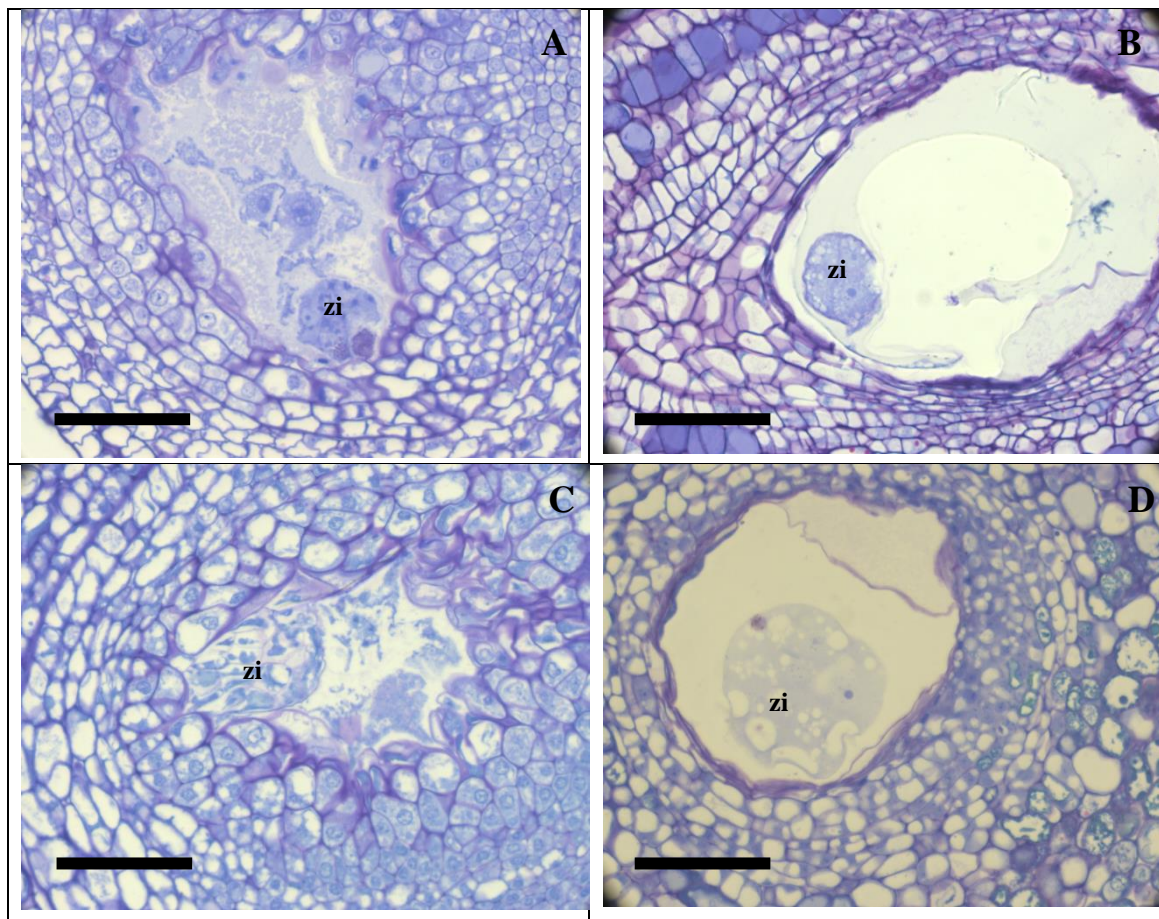
No mesmo ovário pode-se perceber diferenças de desenvolvimento dos óvulos, pois, em contagens feitas seguindo cada óvulo no mesmo ovário, observou-se que a maioria destes encontra-se imaturo e sem a formação do saco embrionário e, poucos óvulos estavam maduros com o saco embrionário totalmente desenvolvido. Esta pode ser uma das possíveis causas da baixa relação semente/óvulo existente, já que os óvulos imaturos não são fecundados e, por isso, não formam sementes (Figura 13A e 13B).

O saco embrionário mais comum em angiospermas é o do tipo *Polygonum*, que apresenta sete células e oito núcleos: a oosfera, duas sinérgides, a célula central binucleada e as células antípodas (WILLEMSE; VAN WENT 1984). O que se enquadra também para a *E. uniflora*, sendo característica comum às espécies Myrtaceae (TOBE; RAVEN, 1983).

Aos cinco dias após a antese, os óvulos da pitangueira apirênica parecem estar com o saco embrionário em estágio mais adiantado de formação em relação aquelas de frutos com semente. Parece que as células da parede do saco embrionário são distintas, estando mais definidas na apirênica, enquanto que, na pirênica a parede do saco embrionário parece não estar bem definida, apresentando aspecto da presença de secreção na parede do saco embrionário (Figura 13). Isto pode ser indício de que estas estão em estágios mais adiantados, cujas secreções podem ser de células já degeneradas, já que não se vê seus conteúdos celulares.

Da mesma forma, os sacos embrionários com zigotos ou embriões, formados aos cinco (Figura 14A e 14B) e oito dias após a antese (Figura 14C e 14D), parecem estar em estágios diferentes de desenvolvimento, aparentando no acesso sem semente estar em estágio de formação mais adiantado, o que se supõe que estes embriões sejam mesmo apomíticos, já que, segundo Silva et al. (2013), embriões apomíticos apresentam crescimento muito mais veloz que os demais. Nestes mesmos dias, os embriões parecem estar na fase globular, estendendo assim do 5º até o 10º dia após a antese, surgindo posteriormente a fase cordiforme no 14º dia após a antese (Figura 19).

Pirênica	Apirênica
----------	-----------



**Figura 14:** Secções longitudinais de óvulos de flores de pitangueira pirênica e apirênica. A: Óvulo com zigoto em formação cinco dias após a antese; B: Óvulo com zigoto formado cinco dias após a antese; C e D: Óvulo com zigoto formado oito dias após a antese. Secções em resina de 2 $\mu$ m e tingidas com PAS e Azul de Toluidina. Barras de escala: A, B, C e D = 100 $\mu$ m. (zi) – zigoto.

Desde a primeira divisão celular até à maturação, os embriões das dicotiledôneas passam por cinco fases bem definidas e descritas (CORREIA, 2010). A primeira fase compreende alterações morfológicas desde a primeira divisão do zigoto até à diferenciação da protoderme, designada de pró-embrião (CAPRON et al., 2009; CANHOTO, 2010). A partir daí, segue-se a fase globular, que é o conjunto de células com forma esférica e simetria radial, sendo já perceptível a presença da protoderme, bem como, a diferenciação dos tecidos vasculares, além do suspensor já estar completo (MORDHORST et al., 1997).

A terceira fase designa-se por cordiforme, que é caracterizada por haver a passagem de simetria radial para simetria bilateral, diferenciação apical-basal. A próxima fase é torpedo, acentuando-se a diferenciação dos cotilédones e o alongamento do embrião.

Por último, a fase cotiledonar, na qual os cotilédones se encontram bem diferenciados, com a presença de eixo raiz-hipocótilo, meristemas apicais e tecidos vasculares bem nítidos (TAIZ; ZEIGER, 2006).

Não foi possível observar as primeiras fases do desenvolvimento embrionário (pró-embrião) no presente trabalho. Suspeita-se que estas sejam muito rápidas, assim como as fases posteriores (torpedo e cotiledonar). Diferentemente da feijoa (*A. sellowiana*), onde de acordo com Inocente (2007), as fases de pró-embrião, globular, cordiforme, torpedo e cotiledonar, ocorrem aos 21, 30, 45, 60 e 75 dias após a antese, respectivamente.

A família Myrtaceae contempla algumas espécies com sementes poliembriônicas (LANDRUM; KAWASAKI 1997), como no caso do gênero *Eugenia* (JOHNSON 1936, GURGEL; SOUBIHE SOBRINHO 1951, LUGHADHA; PROENÇA 1996).

No modo apomítico de propagação, o embrião desenvolve-se de maneira autônoma, a partir de células embriogênicas presentes em tecidos do ovário, embrionia adventícia, (KOLTUNOW, 1993) ou a partir da oosfera em um saco embrionário não reduzido, a apomixia gametofítica (BASHAW, 1980; NOGLER, 1984). Esses embriões desenvolvem-se somente a partir de células do tecido feminino, sem a contribuição do gameta paterno, formando-se progênie geneticamente idêntica à planta-mãe, sendo então a apomixia forma natural de clonagem por meio de sementes (NOGLER, 1984).

Segundo Asker e Jerling (1992), a apomixia gametofítica é a mais amplamente distribuída, tendo a formação de saco embrionário não reduzido (diplóide), por dois caminhos diferentes, diplosporia ou posporia. Nestes sacos embrionários não reduzidos, haverá desenvolvimento do embrião a partir da oosfera (partenogênese) ou, mais raramente, a partir das sinérgidas ou antípodas (apogametia). O endosperma pode se desenvolver também de forma autônoma, ou seja, somente a partir dos núcleos polares, ou pela união de núcleo masculino com os núcleos polares (pseudogamia).

Em apomíticos pseudogâmicos há, portanto, necessidade de polinização, mas apenas para formação do endosperma. Na outra forma de apomixia, a apomixia esporofítica, também chamada de embrionia adventícia, não há formação de sacos embrionários, mas os embriões diplóides desenvolvem-se diretamente a partir de células dos envoltórios do óvulo.

A apomixia esporofítica mostra-se facultativa na maioria dos casos, podendo ocorrer concomitante à propagação sexuada (RICHARDS, 1997).

Os embriões de *Eugenia* são indivisos (pseudomonocotiledonar), conforme descrito por McVaugh (1956), ou conferruminados (tipo eugenióide, ou seja, cotilédones concrecidos sem vestígio de eixo hipocótilo-radícula), conforme descrito por Barroso et al. (1999), sugerindo a presença de tecido meristemático não diferenciado.

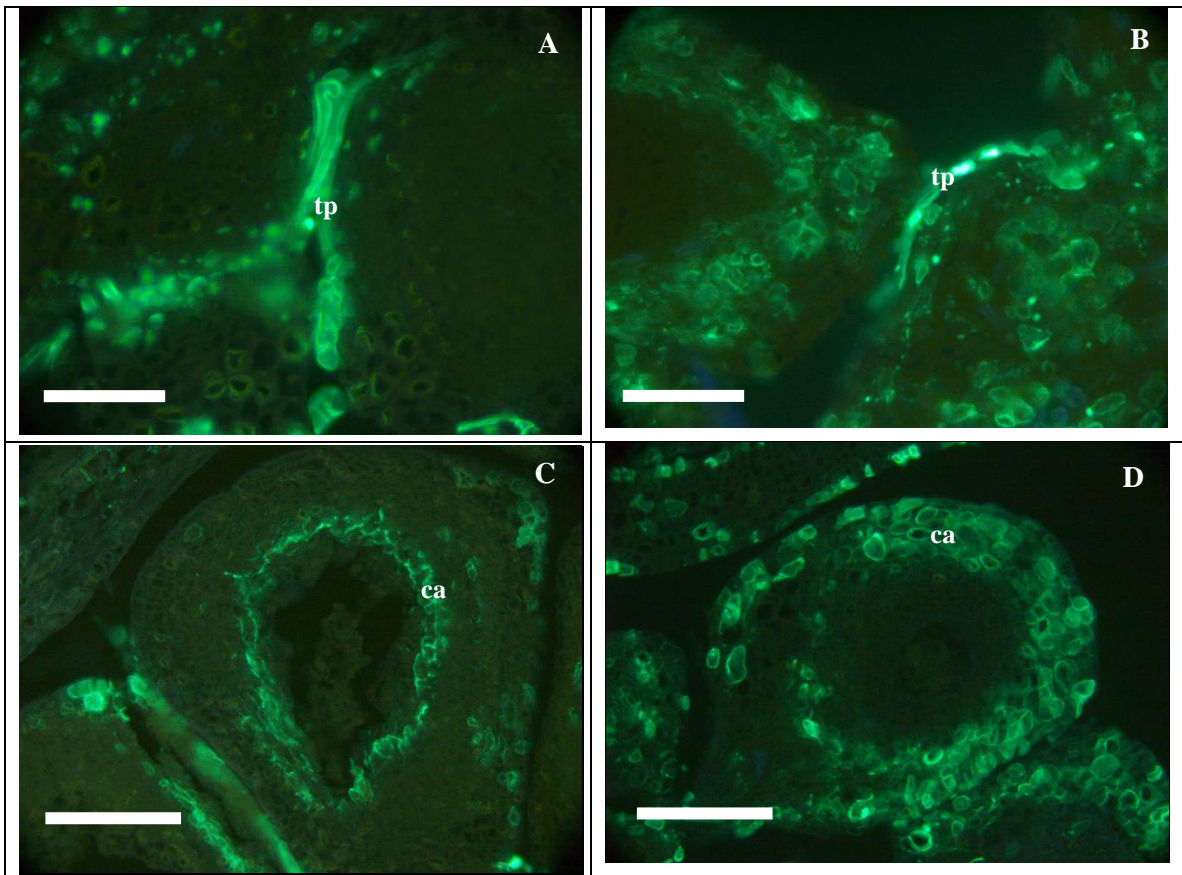
Porém, apesar de não ter sido possível verificar, através dos cortes histológicos, a fecundação do óvulo no acesso de pitangueira apirênica e mesmo supondo-se que os embriões observados fossem de origem nucelar, ou seja, embriões apomíticos, pode-se perceber, pela formação do embrião e do tecido de reserva em alguns óvulos, que também ocorre a embriogênese através da fecundação no acesso apirênico.

Por isso, acredita-se que, possivelmente, esta planta produtora de frutos sem sementes ou com sementes rudimentares, surgiu pelo fato do homem utilizar a semente rudimentar para obtenção de mudas e com isso permitiu por meio da apomixia o surgimento desta planta com tal característica em todos os frutos.

Estudos referentes à propagação destas sementes rudimentares são importantes e também o desenvolvimento posterior da planta, observando-se a herdabilidade desta característica, em futuras plantas, pois trata-se de comportamento desejável em pitangueira, principalmente para indústria de sucos, que absorve maior parte da produção. A ausência de sementes nos frutos pode ser vantajosa para a produção comercial, facilitando para o maior rendimento da polpa e manuseio pela indústria.

No ovário da pitangueira pirênica se observou secreção sobre as células, que são pontos brilhantes (pontos fluorescentes), indicando que os tubos polínicos crescem seguindo esta secreção, pelos quais são visualizadas nos óvulos, principalmente na região da micrópila e ao redor do obturador. A secreção pode ser indicativo ao tubo polínico, de onde o mesmo deve seguir para chegar ao óvulo, entrando através da micrópila para fertilizá-lo (Figura 15A e 15C).

Pirênica	Apirênica
----------	-----------



**Figura 15:** Secreção e calose em óvulos de pitangueira pirênica e apirênica. A e B: Tubos polínicos entre os óvulos e o obturador; C e D: Estruturas dos óvulos. Secções em parafina de 10  $\mu\text{m}$  e tingidas com Azul de Anilina. Barras de escala: A e B = 50 $\mu\text{m}$ ; C e D = 100 $\mu\text{m}$  (40x). (tp) – tubo polínico; (ca) - calose.

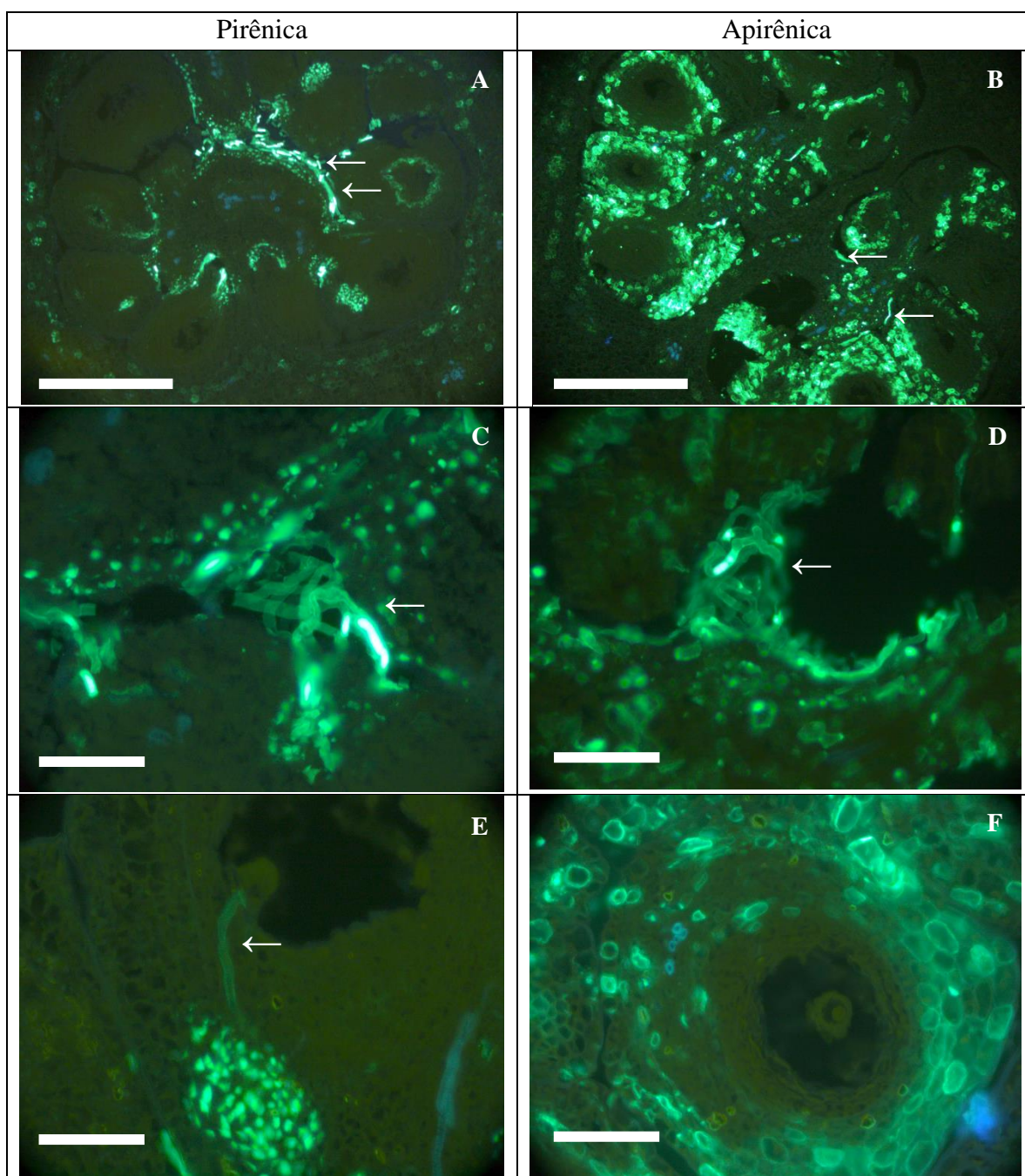
Na pitangueira apirênica essa secreção não foi observada, porém, diferentemente da pirênica, se observou a deposição de calose nas células ao redor dos óvulos e do obturador (Figura 15B e 15D). Isto pode ser outro fator que impede que os tubos polínicos nesse acesso cheguem até ao óvulo e entrem através da micrópila para fertilizá-los, já que esta secreção seria indicativo para onde os tubos deveriam seguir até chegarem ao óvulo e, assim, estes crescem sem direcionamento.

#### 4.5.1.1 Presença de tubos polínicos no ovário

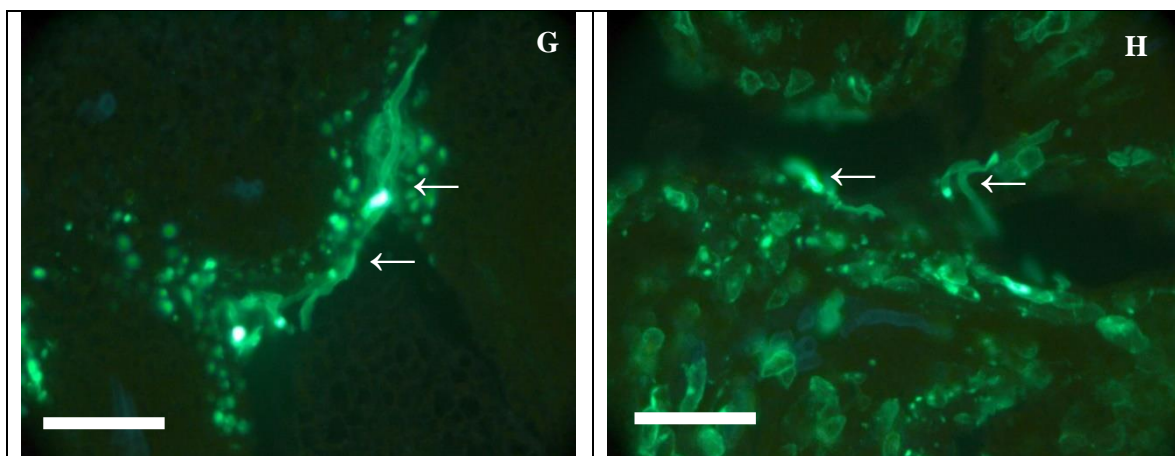
Uma vez que os tubos polínicos alcançam a cavidade do ovário, estes crescem ao redor do obturador, que é protuberância placentar, onde comunica o final do estilo com os óvulos. Neste é possível visualizar secreção sobre as células (pontos fluorescentes)

na pitangueira pirênica e a deposição de calose nas células ao redor dos óvulos na pitangueira apirênica, como já mencionado (Figura 16C e 16D).

No ovário foram observados inúmeros tubos polínicos ao redor dos óvulos e do obturador, tanto na pitangueira pirênica quanto na apirênica (Figura 16A e 16B), os quais aumentam ou diminuem conforme os dias após a antese. Foi observado número maior de tubos polínicos nos dias quatro e seis após a antese, o que pode ser comprovado também com os resultados apresentados na Figura 6C.







**Figura 16:** Secções transversais do ovário de flores de pitangueira pirênica e apirênica seis dias após a antese. A e B: Ovário com muitos óvulos e tubos polínicos entre os óvulos; C e D: Tubos polínicos no loco; E: Tubo polínico entrando pela micrópila; F: Óvulo com embrião, porém sem entrada de tubo polínico pela micrópila. G e H: Tubos polínicos entre os óvulos e detalhe da secreção e calose nos óvulos e obturador. Secções em parafina de 10 $\mu$ m e tingidas com Azul de Anilina. Barras de escala: A e B = 200 $\mu$ m; C, D, E, F, G e H = 50 $\mu$ m. Setas apontando para tubos polínicos no ovário.

Porém, de todos os ovários observados, nos dias 1, 2, 4, 5, 6, 7, 8, 10, 14, 17, 21 e 24 dias após a antese, somente na pitangueira pirênica foi possível verificar a entrada do tubo polínico pela micrópila do óvulo, sendo este fato verificado nos dias 4, 5, 6, 7 e 8 após a antese. Foi observado quase sempre em um óvulo por ovário e raramente em dois óvulos, porém não mais que estes.

Na espécie apirênica, apesar de haver inúmeros tubos polínicos ao redor dos óvulos, não foi possível visualizá-los entrando através da micrópila para a fecundação dos mesmos. Porém, em inúmeros óvulos foram visualizados embriões (Figura 16D), dando indício de que estes sejam apomíticos, formados apenas do tecido materno. Todavia, é necessária a confirmação desta hipótese.

Por outro lado, se observou também a formação do endosperma, que é o tecido de reserva, sendo indício de que também ocorre fecundação dos óvulos. Segundo Franzone (2004), o momento da entrada dos tubos polínicos pela micrópila e a fertilização do óvulo é de difícil observação para esta espécie.

Outro fator que pode ter dificultado a observação mais detalhada da entrada do tubo polínico pela micrópila é o grande número de óvulos que esta espécie possui, como já

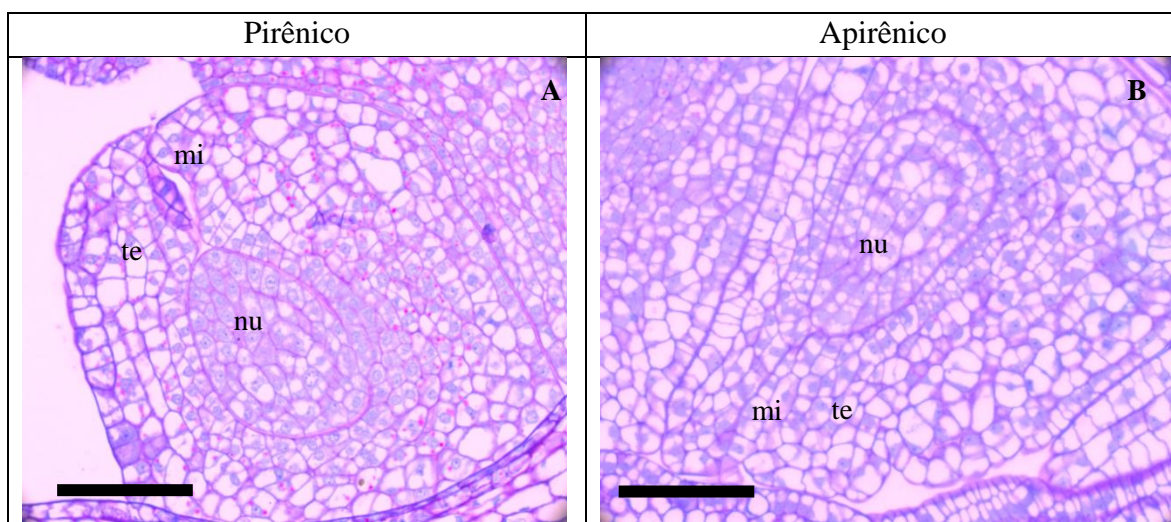
relatado. Em média, para a pitangueira pirênica existem cerca de 20 óvulos por loco e para a apirênica cerca de 15, com ambas apresentando dois locos.

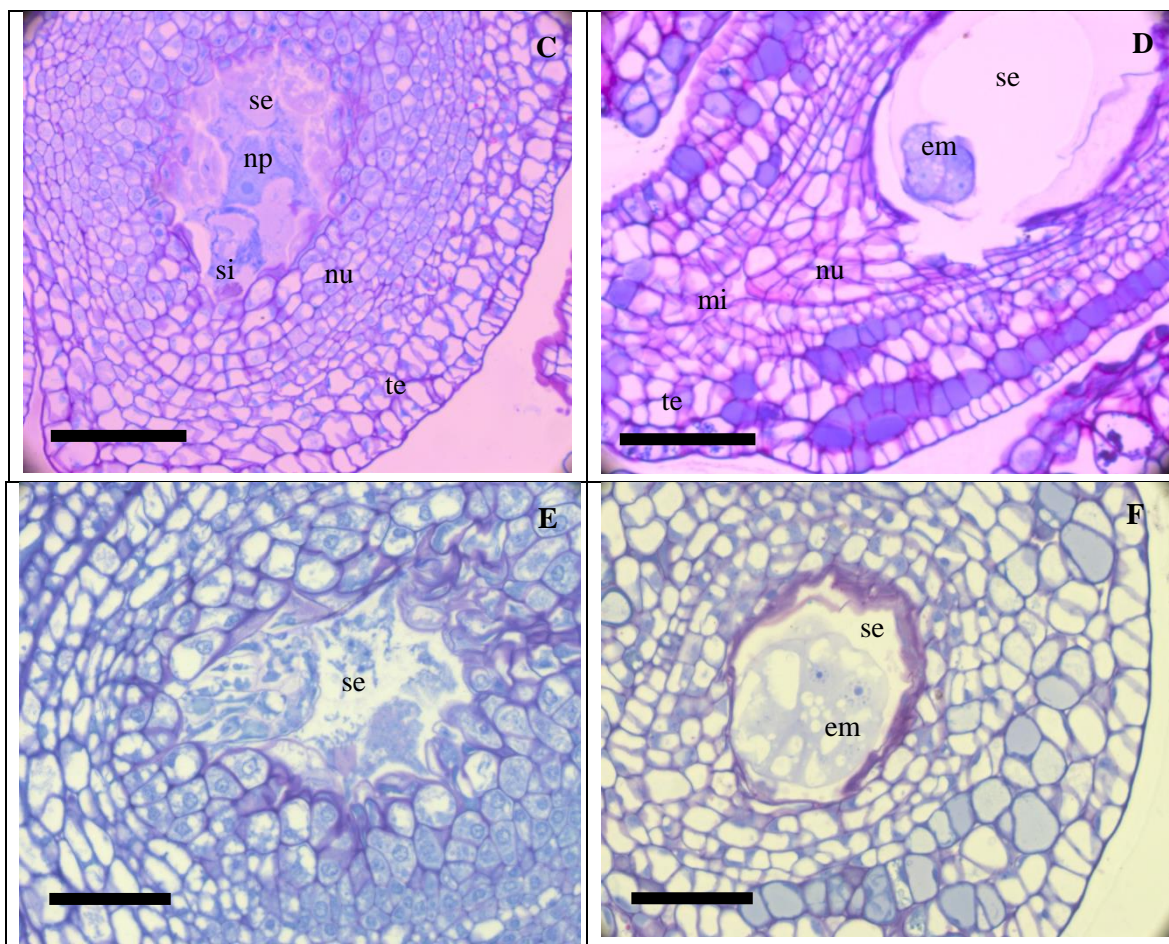
Segundo Donadio et al. (2002) e Bezerra et al. (2000), a pitangueira é espécie que apresenta ovário com dois lóculos, com três ou múltiplos óvulos. Franzon (2004), por meio de observações feitas em flores de pitangueira, relatou em média, número superior a 30 óvulos por ovário.

Porém, apesar do grande número de óvulos, normalmente a pitangueira produz uma ou duas sementes por fruto. Isso quer dizer que apenas um ou dois óvulos são fecundados e que os demais sofrem abortamento durante o processo reprodutivo (FRANZON, 2004), o que comprova o que foi observado para a pitangueira pirênica, havendo apenas um ou dois óvulos por ovário com o tubo polínico entrando pela micrópila.

#### 4.5.2 EMBRIOGÊNESE APÓS A FECUNDAÇÃO

Quanto ao aspecto dos óvulos, em flores coletadas após a antese, foi verificado algumas diferenças entre o acesso pirênico e apirênico. Porém, antes da abertura da flor (estágio 0B), não houve diferenças entre os óvulos de ambas as plantas, nos quais foi observado claramente a nucela bem definida, porém, sem formação do saco embrionário; a micrópila, por onde os tubos polínicos penetram para fertilização do óvulo e; também, claramente a formação do tegumento, que no caso de ambos os acessos de pitangueira são unitegmentados, ou seja, apresentam apenas um tegumento (Figura 17A e 17B), como já verificado também por Silva et al. (2013).





**Figura 17:** Secções longitudinais de óvulos de flores de pitangueira pirênica e apirênica. A e B: Óvulo antes da antese (estágio 0B); C e D: Óvulos cinco dias após a antese; E e F: Óvulos oito dias após a antese. Secções em resina de 2  $\mu$ m e tingidas com PAS e Azul de Toluidina. (np) Núcleo Polar; (si) Sinérgides; (te) Tegumento; (se) Saco embrionário; (mi) Micrópila; (nu) Nucela; (em) Embrião. Barras de escala: A, B, C e D = 100 $\mu$ m; E e F = 50 $\mu$ m .

Aos cinco dias após a antese foi possível visualizar, em ambos os acessos de pitangueira que o saco embrionário já estava formado. Porém, na pirênica a parede do saco embrionário não estava bem definida, aparentando secretar algo das células da parede, impedindo, assim, visualizar claramente seus conteúdos. Nestes, foram visualizados apenas as sinérgides e os núcleos polares (Figura 17C).

Na apirênica, neste estágio já se pode visualizar o embrião, com seu saco embrionário bem formado e com sua parede bem definida (Figura 17D).

Com isso, parece que os óvulos de ambos os acessos de pitangueiras estão em diferentes estádios de desenvolvimento, sendo aqueles da apirênica mais maduros em relação à com semente.

De acordo com Silva et al. (2013), embriões adventícios ou nucelar apresentam crescimento muito mais veloz que os demais. Isto pode explicar o que se verificou no presente trabalho, observando-se no acesso apirênico, que o embrião já estava formado e em estágio muito mais adiantado em relação ao outro com semente. Supõe-se assim, que os embriões formados na pitangueira sem semente foram de origem nucelar.

Para a pitangueira, o processo de embriogênese é rápido, como observado já no quinto dia após a antese, a presença do embrião. O que também é relatado por Silva et al. (2013), de que a embriogênese tem início no período compreendido entre 48 e 72 horas pós-polinização.

No oitavo dia após a antese, no acesso pirênico se vê o saco embrionário com seus núcleos de endosperma e embrião com células bem definidas (Figura 17E). E no acesso apirênico também se visualizou o embrião, sendo estes bem maior que aqueles do quinto dia, como também com seu saco embrionário bem formado e com a parede bem definida (Figura 17F), conforme observado neste mesmo quinto dia após a antese, diferenciando-o da pirênica.

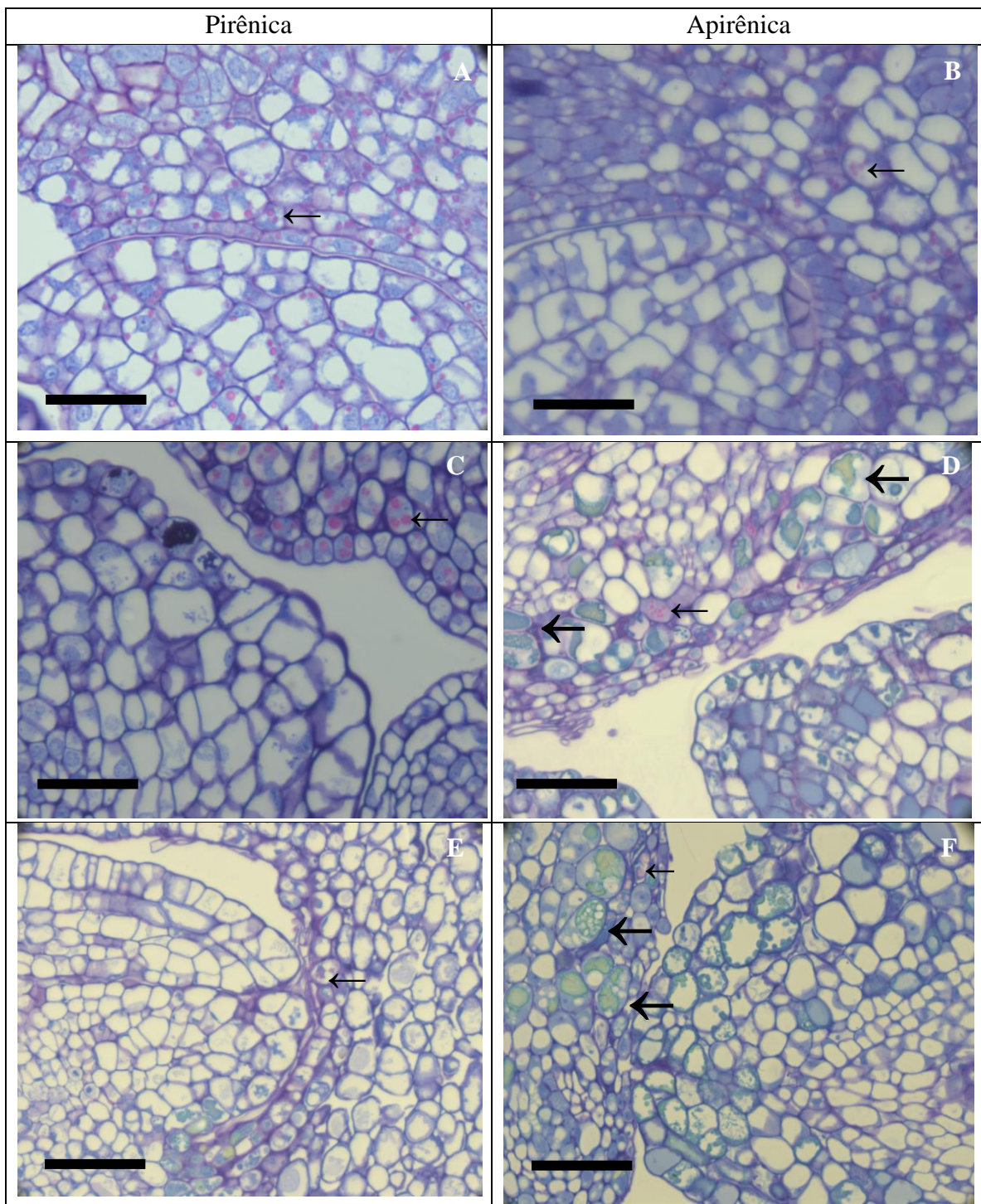
Sugere-se que este embrião seja nucelar, já que são estruturas pluricelulares, volumosas, de contornos circulares, com protoderme e circundadas pelo endosperma, conforme já descrito para a espécie por Silva et al. (2013) em óvulos sete dias pós-polinização, cujas mesmas estruturas foram interpretadas como embriões de origem nucelar.

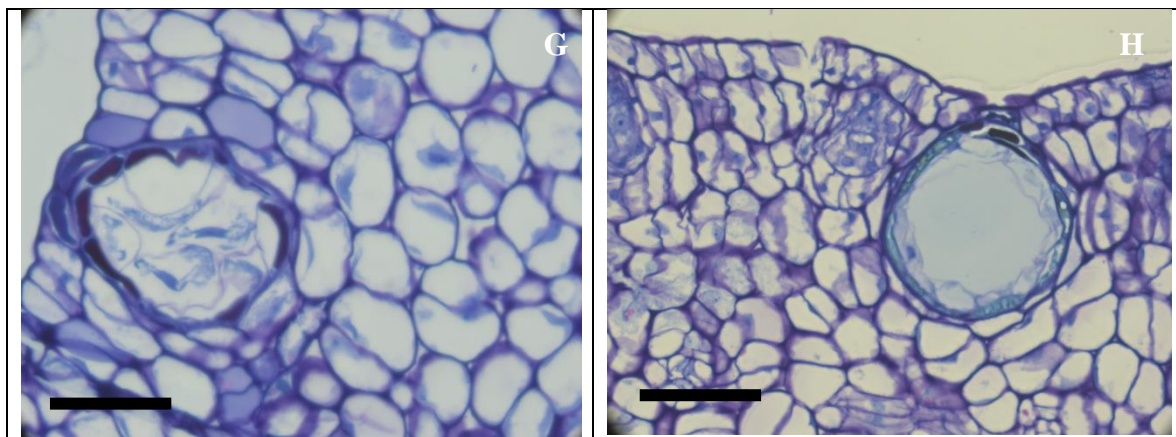
Outra diferença verificada entre os óvulos de ambos os acessos de pitangueira (pirênica e apirênica) no quinto e oitavo dia após a antese, foram em relação as células do tegumento, em que na apirênica aquelas ao redor do tegumento aparecem mais tingidas que as demais (Figura 17D e 17F).

Nos óvulos da pitangueira pirênica, isto não ocorreu, conforme Figura 17C e 17E. Também se observou diferenças nas células que dividem a nucela do saco embrionário, sendo que, no acesso apirênico essa divisão constitui-se de forma mais clara como se as células fossem “empurradas” para que ocorresse essa divisão (Figura 17E e 17F).

Nos dias zero, cinco e oito após a antese se observaram também diferenças na deposição dos grãos de amido. No dia zero, pode-se ver muitos grãos de amido depositados nas células dos óvulos, obturador e na parede do ovário (Figuras 18A e 18B). No quinto dia ainda se observaram grãos de amido depositados nas células, porém, em menor quantidade que no dia zero e em relação aos óvulos em comparação ao obturador e na parede do ovário (Figuras 18C e 18D).

Já no oitavo dia, quase não se vê mais grãos de amido, observando-se pequenos pontos no obturador (Figuras 18E e 18F). Este é fato comum, já que o amido de reserva é utilizado durante a formação das regiões embriogênicas (SILVA, 2005). O amido é polissacarídeo de reserva que se acumula nos tecidos vegetais, sendo um dos principais substratos metabólicos (MARRENCO; LOPES, 2005).





**Figura 18:** Secções longitudinais de óvulos de flores de pitangueira pirênica e apirênica, com detalhe dos grãos de amido. A e B: Óvulos de balões florais antes da antese; C e D: Óvulos 5 dias após a antese; E e F: Óvulos 8 dias após a antese; G e H: Cavidades secretoras, 5 dias após a antese. Secções em resina de 2  $\mu\text{m}$  e tingidas com PAS e Azul de Toluidina. Setas menores apontando para grãos de amido e setas maiores apontando outras substâncias depositadas. Barras de escala = 50  $\mu\text{m}$ .

Nos dias cinco e oito na pitangueira apirênica, se observaram os vacúolos cheios de substâncias de coloração esverdeada (Figuras 18D e 18F), que segundo Silva (2005), indica acúmulo de compostos fenólicos, possivelmente pela oxidação do tecido.

Também foi verificado em ambos os acessos de pitangueira cavidades secretoras (Figura 18G e 18H), próximas a protoderme, que segundo Silva (2005), é característica da família Myrtaceae.

As cavidades secretoras, também são referidas como glândulas oleíferas, idioblastos secretores e cristais de oxalato de cálcio isolados ou drusas, sendo características anatômicas ocorrentes em Myrtaceae (SOLEREDER, 1908; METCALFE; CHALK 1979).

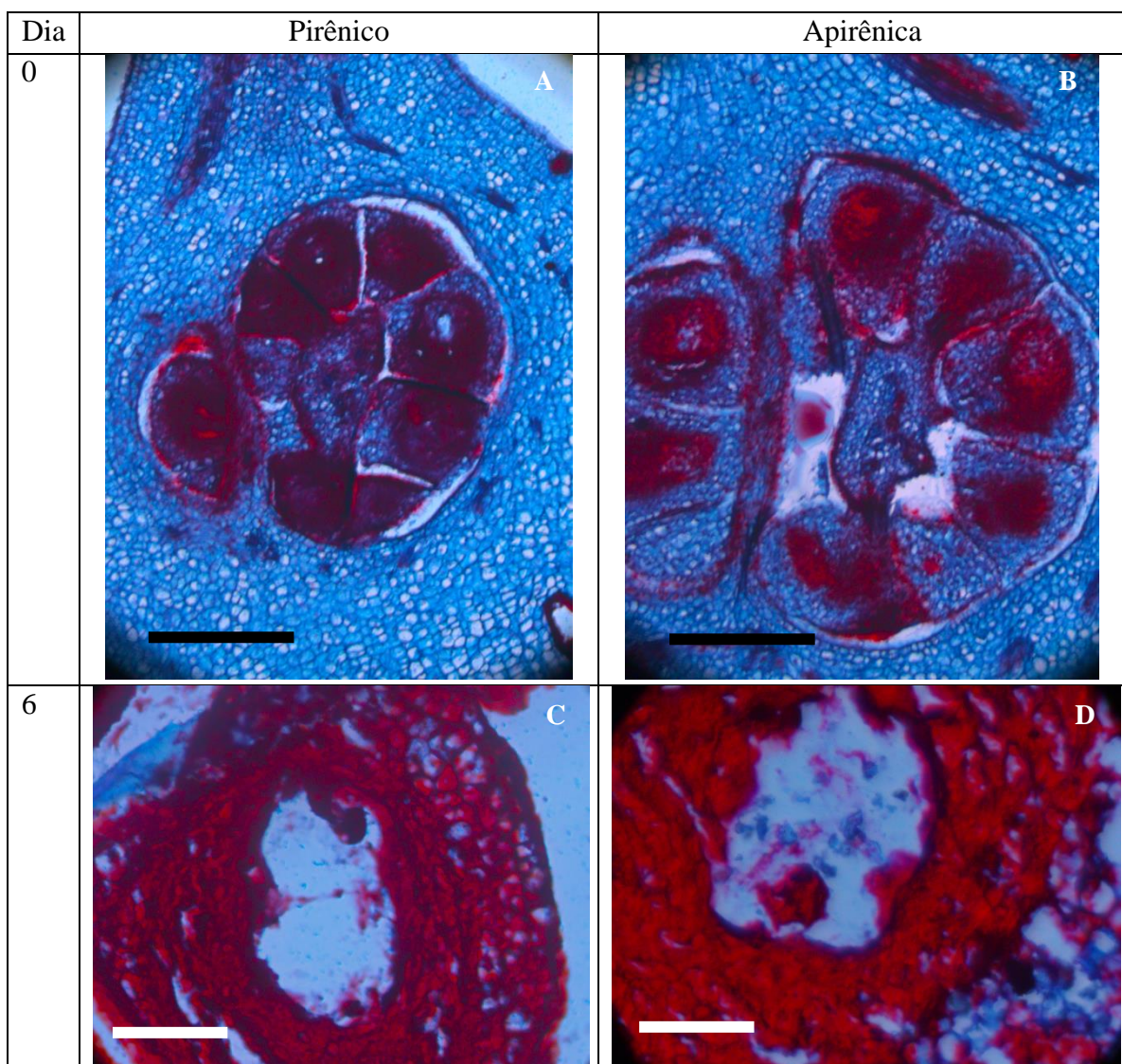
Trabalhos realizados com extração de compostos químicos da *E. uniflora* identificaram a presença de óleos essenciais sesquiterpenos, germacreno e selina trienona (MORAIS et al., 1996, DELLACASSA et al., 1997; MAIA et al., 1999; OLIVEIRA, 1999; ADEOYE, 2006). Esta gama extremamente variada de compostos ativos mostra que a espécie tem potencial bastante elevado para exploração medicinal e cosmética (ALMEIDA et al. 2012).

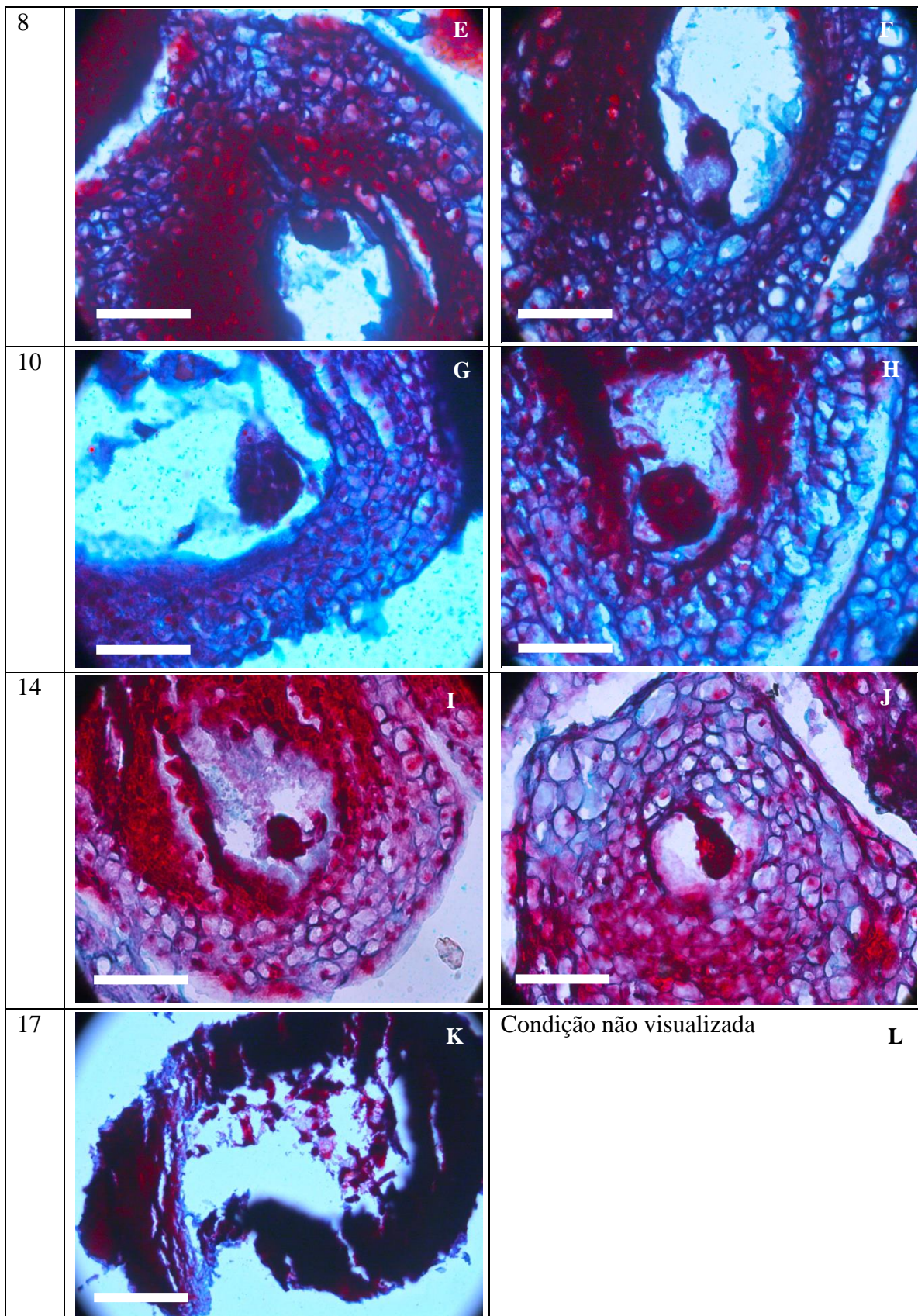
Menezes-de-Lima Jr. et al. (1997), estudando a família Myrtaceae, detectaram atividade anti-inflamatória relevante, em várias de suas espécies, atribuindo este efeito à presença dos sesquiterpenos de seus óleos essenciais. Siani e Branquinho (1997),

descreveram que as propriedades químicas de defesa das plantas contra predadores herbívoros e microrganismos, é representada pelos óleos essenciais.

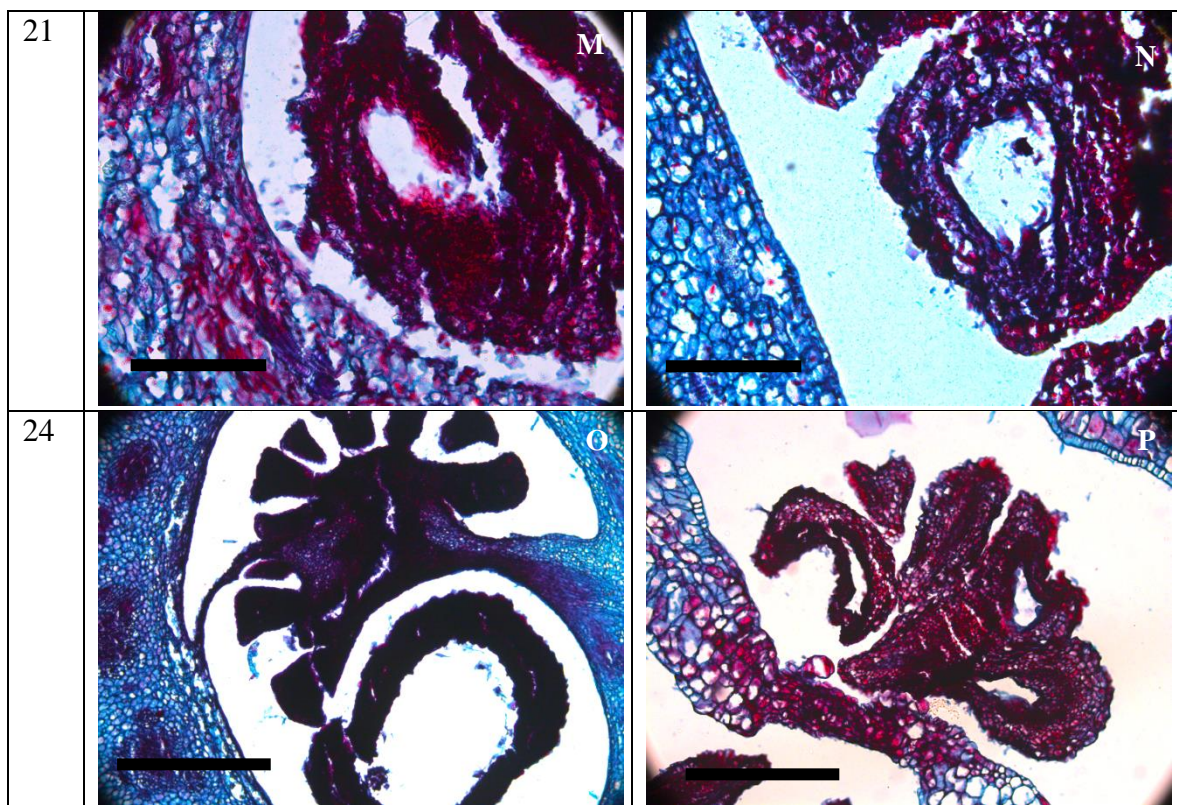
#### 4.5.2.1 Degeneração dos óvulos

No dia 0, correspondente a ovários de flores ainda em balão, se observou os óvulos com os sacos embrionários ainda imaturos para ambos os acessos de pitangueira (pirênico e apirênico). Visualizou-se, nestes ovários, inúmeros óvulos e dois locos (Figura 19A e 19B).









**Figura 19:** Óvulos de pitangueira pirênica e apirênica, A e B: 0 dias, correspondente a flores ainda em balão; C e D: 6 dias após a antese; E e F: 8 dias após a antese; G e H: 10 dias após a antese; I e J: 14 dias após a antese; K: 17 dias após a antese, já degenerados; L: Condição não visualizada; M e N: 21 dias após a antese, degenerados; O e P: 24 dias após a antese, muitos degenerados e formação da semente. Secções em parafina de 10 $\mu$ m e tingidas com Gerlach. Barras de escala: C, D, E, F, G, H, I e J = 50 $\mu$ m; K, L, M e N = 100 $\mu$ m; A, B, O e P = 200 $\mu$ m.

No dia 6 após a antese, já se verificou o pequeno embrião globular (Figura 19C e 19D), assim como, nos dias 8 e 10 após a antese, porém agora maior (Figura 19E, 19F, 19G e 19H). As fases iniciais da embriogênese não foram possíveis observar. Possivelmente, estas sejam muito rápidas nesta espécie, sendo necessário para isto, coletas de material a cada hora e não diariamente como foi realizado.

A degeneração dos óvulos começa entre os dias 14 e 17 após a antese (Figuras 19I, 19J e 19K). Aos 17 dias aqueles que não foram fecundados aparecem muito menores, com aspecto de estar desmanchando, com apenas um ou dois se destacando no tamanho, conforme se pode ver com o embrião formado (Figura 19K). Para o acesso apirênico não foi possível visualizar os óvulos no dia 17, pois devido à má inclusão do material, comprometeu-se os cortes (Figura 19L).

No caso da pitangueira apirênica, estes embriões observados podem ser apomíticos, o que já foi verificado em estudos sobre germinação de sementes.

Segundo Richards (1997), a apomixia se caracteriza por ser tipo de propagação vegetativa em que ocorre a produção de sementes sem que haja a fecundação, o que proporciona oportunidade de clonagem das plantas por meio de sementes, tendo importante papel no melhoramento de plantas (HANNA E BASHAW, 1987).

Nos dias anteriores (8, 10 e 14), se visualizou todos os óvulos túrgidos, com o mesmo aspecto e forma, com ressalva aos que se notam tamanhos distintos, por estarem em diferentes estágios de desenvolvimento, como já mencionado. Porém, pode se dizer que ainda não estão degenerados (Figura 20E, 20F, 20G, 20H, 20I e 20J).

#### 4.6 CONCLUSÕES

Os estudos embriológicos permitem verificar que a *E. uniflora* possui óvulos unitegmentados, hemicampilótropo, crassinucelado, pluriovulados, bilocular e com presença de embriões nucelares. O desenvolvimento dos óvulos ocorreu de maneira diferenciada, sendo a possível causa da baixa relação semente/óvulo.

Pela formação do embrião e de tecido de reserva no acesso apirênico, também ocorre a embriogênese através da fecundação.

É importante a continuação de estudos referentes a propagação destas sementes rudimentares e posterior avaliação da planta, observando-se a herdabilidade desta característica quando realizado cruzamentos dirigidos.

Existe inúmeros tubos polínicos ao redor dos óvulos, principalmente entre o 4º e 6º dia após a antese. No acesso pirênico, foi possível verificar secreção, que parece ser indicativo ao tubo polínico para ser possível chegar ao óvulo e fertilizá-lo, o que não se observou no acesso apirênico, podendo ser outro fator que impede a chegada do tubo polínico até o óvulo e assim crescem sem direcionamento certo, sem saber para onde ir.

Houve presença de inúmeros grãos de amido, que são de reserva utilizados durante a embriogênese. E também o acúmulo de compostos fenólicos, possivelmente pela oxidação do tecido.

Como característica das Myrtaceae, em ambos os acessos de pitangueira se observou cavidades secretoras, que são glândulas oleíferas.

A degeneração dos óvulos ocorreu entre o 14 e 17 dias após a antese.

## 5. CAPITULO III: NÍVEIS DE PLOIDIA EM ACESSOS DE PITANGUEIRA (*E. uniflora*) PIRÊNICA E APIRÊNICA

### 5.1 RESUMO

A pitangueira (*E. uniflora*) é considerada espécie diplóide com  $n=11$  e  $2n=22$  cromossomos, em genótipos com presença de sementes nos frutos. Com a existência de pitangueira produtora de frutos apirênicos, tal comportamento pode estar relacionado ao nível de ploidia. O objetivo deste estudo foi determinar o nível de ploidia dos acessos sem e com semente de pitangueira, bem como, observar o comportamento meiótico e possíveis anormalidades cromossômicas. Para verificar o nível de ploidia da pitangueira, folhas maduras recém-expandidas foram coletadas da pitangueira apirênica e de dois acessos pirênicos, sendo preparados suspensões de núcleos intactos. As amostras foram analisadas em citometro de fluxo equipado com aquisição de dados de múltiplos parâmetros e de laser UV. Todas as análises foram realizadas utilizando detecção de pico-altura ( $> 6000$  eventos fluorescentes, por exemplo, núcleos, foram analisados por amostra) e amplificação logarítmica. Os dados foram apresentados como histogramas do número de núcleos ao longo do eixo-y e a intensidade da fluorescência relativa no eixo-x. O nível de ploidia de DNA para pitangueira apirênica e nos dois acessos pirênicos, foi nível 2, sendo estas caracterizadas como diplóides.

**Palavras-chave:** Myrtaceae. Poliploidia. Fruto sem semente.

### 5.2 ABSTRACT

The Surinan cherry (*E. uniflora*) is a diploid species with  $n = 11$  and  $2n = 22$  chromosomes. There is a Surinan cherry tree that produced apirenic fruits, such behavior may to be related to the ploidy level. The aim of this study was to determine the ploidy level of the accesses without and with fruit seed, as well as it to observe the meiotic behavior and possible chromosomal abnormalities. To verify the ploidy level from Surinan cherry, mature leaves were collected of the apirenic genotype and two pyrenic genotypes and suspensions of intact nuclei were prepared. The samples were analyzed in a flow cytometer equipped with multi-parameter and UV laser data acquisition. All analyzes were performed using peak-height detection ( $> 6000$

fluorescent events, for example cores, were analyzed per sample) and logarithmic amplification. The data were presented as histograms of the number of nuclei along the y-axis and the relative fluorescence intensity on the x-axis. The level of ploidy of DNA for apirenic Surinan cherry tree and in the two pirenic genotypes, was level 2, being these characterized like diploids.

**Key words:** Myrtaceae. Polyploidy. Fruit without seed.

### 5.3 INTRODUÇÃO

A flora brasileira é rica em espécies frutíferas que apresentam frutos comestíveis saborosos. No Sul do Brasil, se destacam aquelas da família Myrtaceae, com amplo potencial de exploração econômica, a qual ainda é incipiente, devido principalmente à falta de conhecimento sobre as espécies (DANNER, 2009).

Dentre as espécies frutíferas de Myrtaceae, com grande potencial econômico destaca-se as do gênero *Eugenia*. Muitas espécies deste gênero são apreciadas por seus frutos, pois são usados como alimento (FISCHER et al., 2005), a exemplo de *E.uniflora*, considerada uma das espécies mais conhecidas do gênero (CONSOLINI et al., 1999).

No entanto, como consequência da ação antrópica, foram perdidos muitos genótipos de espécies com características desejáveis para uso.

Para reverter ou minimizar tais danos é imprescindível à prospecção por genótipos *in loco* nas áreas de ocorrência, a fim de analisar e caracterizar as propriedades de interesse presentes nos frutos, para posterior seleção e propagação assexuada, nas quais serão úteis em pomares comerciais ou como genitores em programas de melhoramento.

Neste último caso, é importante também caracterizar os níveis de ploidia das plantas de pitangueira, permitindo inferir se é possível obter híbridos intra-específicos.

Silveira et al. (2006) também realizaram contagem de cromossomos em duas espécies de jaboticabeira, a *Plinia trunciflora* e *P. cauliflora*, que apresentaram duas situações, uma  $2n = 22$  e outra  $2n = 48$  cromossomos, portanto, constatou-se diferenças no número de cromossomos entre material de mesma família da pitangueira.

Em outra Myrtaceae, como no gênero *Campomanesia*, o número de cromossomos foi de  $2n = 22$ . Em *Psidium* sp. houve variação entre as espécies, tendo

para *P. guajava*  $2n = 22$  e outras três com  $2n = 44$  cromossomos, além de observar em *P. glomerata* (cabeludinha)  $2n = 22$  cromossomos (COSTA; FORNI-MARTINS, 2006).

A pitangueira (*E. uniflora*) foi descrita por Costa (2004) como sendo espécie diplóide com  $n = 11$  e  $2n = 22$  cromossomos. Outra espécie que é extremamente similar na morfologia com a *E. uniflora* é a *E. pitanga* (ANGELY, 1965). No entanto, segundo Costa (2004), *E. pitanga* apresenta  $n = 22$  e  $2n = 44$  cromossomos, porém existem vários citotipos da espécie.

A semelhança morfológica torna muito difícil a correta identificação de acessos, sendo o número de cromossomos, obtido por técnicas citogenéticas, o parâmetro preponderante para a identificação das espécies. A carência de estudos na área de citogenética da espécie leva a crer que muitas amostras são erroneamente identificadas.

A produção de sementes oriundas de cruzamentos é possível, independentemente da ploidia, sendo maior entre diploides, seguido, respectivamente, de tetraploides e triploides (SILVA et al., 2013). Por isso, fez-se o presente trabalho, já que, existem pitangueiras produtoras de frutos com e sem sementes, então poder-se-ia caracterizá-las quanto à poliploidia, principalmente da apirênica, descartando-se a hipótese de que a mesma fosse triploide, já que algumas espécies triploides são caracterizadas como plantas produtoras de frutos sem semente.

Em melancia, obteve-se através de alguns trabalhos, frutos triploides sem sementes ou na sua grande maioria abortadas, mas perfeitamente comestíveis. Em alguns casos, os próprios tetraploides podem despertar interesse comercial por apresentarem reduzido número de sementes (MEDINA et al., 1958).

O objetivo deste estudo foi determinar o nível de ploidia dos acessos pirênico e do apirênico.

#### 5.4 MATERIAL E MÉTODOS

Folhas maduras recém-expandidas foram coletadas da pitangueira apirênica e de dois acessos pirênicos, provenientes da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR - Câmpus Dois Vizinhos. As plantas estudadas foram obtidas, pela via seminífera, de matrizes proveniente de produtor rural de Honório Serpa - PR.

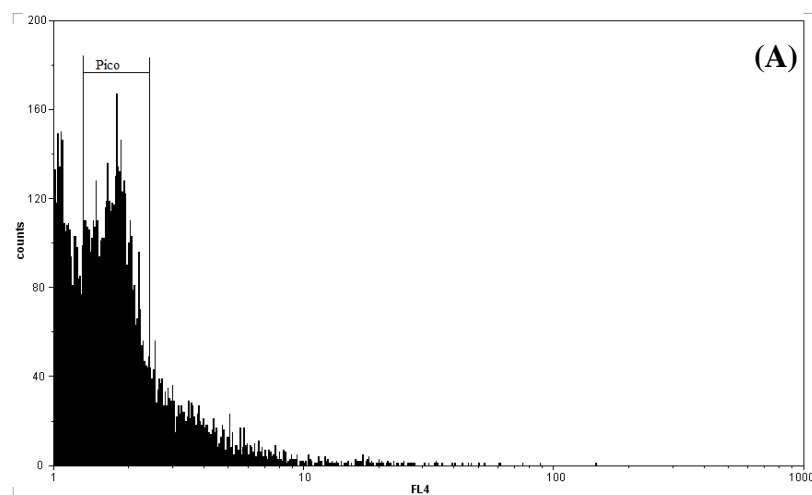
Essas folhas foram levadas para a EEAD – Espanha, onde, suspensões de núcleos intactos foram preparados pelo corte do material com lâmina de bisturi de 0,5 cm<sup>2</sup> em placa de Petri®, contendo 0,5 mL de ploidia CyStain UV, que contém 4',6-

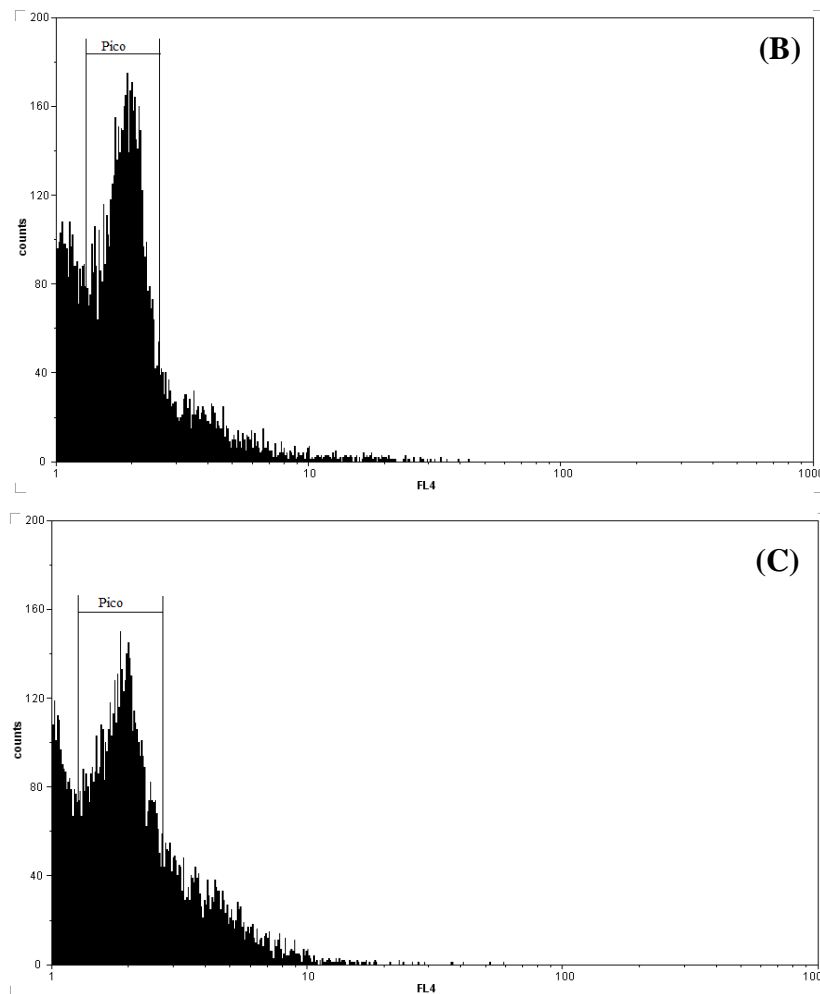
diamidino-2-fenilindole (DAPI), seguidas de maceração. As suspensões foram filtradas através de filtro de 20  $\mu\text{m}$  (para remover os resíduos de tecido e células inteiras) e, em seguida, mantida no gelo, pelo menos, por 3 minutos. Finalmente, 1 mL de água Milli-Q filtrado foi adicionado aos núcleos em suspensão. As amostras foram analisadas em citômetro de fluxo (citometro PAS, PARTEC) equipado com aquisição de dados de múltiplos parâmetros e de laser UV.

Todas as análises foram realizadas na Estación Experimental de Aula Dei - CSIC, Zaragoza - Espanha, utilizando-se detecção de pico-altura ( $> 6000$  eventos fluorescentes, por exemplo, núcleos, foram analisados por amostra) e amplificação logarítmica. Os dados foram apresentados como histogramas do número de núcleos (ou frequência) ao longo do eixo-y e a intensidade da fluorescência relativa no eixo-x.

## 5.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os resultados mostraram que tanto a pitangueira apirênica como os dois acessos pirênicos, nível 2, são diplóides (Figura 20). Tal resultado corrobora com Costa (2004), que também descreveu para *E. uniflora* como sendo espécie diplóide.





**Figura 20:** Citometria de fluxo do conteúdo de DNA em folhas de pitangueira apirênico (A); pirênico, acesso 1 (B) e acesso 2 (C), em escala logarítmica.

Acredita-se que esse resultado pode ser considerado como ponto de partida para estudos envolvendo o melhoramento genético deste acesso apirênico, que poderá ser usado como genitor em cruzamentos dirigidos, aumentando-se a chance de obter híbridos que apresentem características agrônômicas superiores, como a apirenia.

Para obter características agrônômicas desejadas, como a apirenia, por exemplo, dentro de qualquer programa de melhoramento, é necessária a realização de hibridações, envolvendo genótipos parentais superiores e com ampla base genética, aumentando-se assim a probabilidade de obter híbridos com bom desempenho para as características desejadas pelo melhorista (WAGNER JÚNIOR et al., 2011).

Contudo, deve-se estudar o tipo de herança dessa característica, pois assim, poder-se-á estimar o tempo e as gerações para alcançar os ganhos genéticos, bem como, o sucesso na realização da seleção em determinado cruzamento dirigido.

Sendo assim, este genótipo apirênico poderia ser incorporado aos programas de melhoramento de pitangueira, como possível genitor aumentando-se a variabilidade e as chances de obtenção de híbridos com frutos sem semente, característica desejável pelo consumidor e indústria.

De acordo com Wagner Júnior et al. (2011), a variabilidade genética é fundamental para que ocorra a evolução das espécies. É também nas populações com variabilidade genética que se procede à seleção de plantas com características de interesse agrônomo, como frutos maiores e mais saborosos, resistência a doenças e pragas.

Em espécies diploides, a importância do pré-melhoramento está no fato de que a grande maioria das características agrônomicas de interesse como, partenocarpia, encontra-se dispersa em grande número de diploides selvagens, fazendo-se necessários a hibridação e o desenvolvimento de diploides melhorados (SILVA et al., 2011).

Em bananeira, muitas cultivares evoluíram de espécies selvagens e apresentam três níveis cromossômicos, existindo diploides com 22 cromossomos (2x), triploides com 33 (3x) e tetraploides com 44 cromossomos (4x), sendo que a origem de triploides a partir de diploides e de tetraploides é facilmente constatada por meio de cruzamentos experimentais (SHEPHERD, 1984).

A reprodução de poliploidia tem sido aplicada com sucesso em muitas plantas para a obtenção de linhas com novas características agrônomicas. Este procedimento forneceu plantas sem sementes, com frutos e flores maiores, flores de maior duração, que superam as barreiras de hibridização, mostram resistência a pragas e tolerância ao estresse físico (SANFORD, 1983; PREDIERI, 2001). Estes efeitos podem variar de acordo com a espécie, grau de heterozigosidade e nível de ploidia (ZHANG et al., 2008).

De acordo com Wu (2014), o número de sementes pode ser afetado por alterações na ploidia. A manipulação de plaquetas tem sido utilizada para criar autotetraplóides ou alototétraploides como ponte para a introversão de genes através de híbridos inter e intra-específicos e, para ajudar a produzir frutos sem sementes em algumas culturas, como Citrus e melancia (WU; MOONEY, 2002; WUET et al., 2005, 2011, 2012).

## **5.6 CONCLUSÕES**



A pitangueira apirênica e outros dois acessos pirênicos, foram caracterizadas como diplóides.

O genótipo apirênico poderia ser incorporado aos programas de melhoramento de pitangueiras, como possível genitor.

## 6 CAPITULO IV: QUALIDADE DOS FRUTOS DE ACESSOS DE PITANGUEIRA (*E. uniflora*)

### 6.1 RESUMO

A pitangueira é fruteira nativa com potencial de mercado, cujos frutos podem atender a indústria ou o consumo in natura. Contudo, o rendimento de polpa pode ficar prejudicado pelo tamanho da semente do fruto. Na UTFPR tem-se um genótipo que produz frutos sem sementes que pode potencializar o uso desta espécie em pomares, sendo importante analisar a qualidade de seu fruto produzido. O objetivo deste estudo foi determinar a qualidade dos frutos de diferentes acessos de pitangueira (*E. uniflora*). Nos anos de 2012, 2013 e 2015, foram coletados 40 frutos maduros de 23 acessos de pitangueira, incluindo o genótipo apirênico. Os frutos foram levados ao laboratório e analisadas quanto ao peso total do fruto e da semente, diâmetro equatorial do fruto e semente, teor de sólidos solúveis totais (SST), açúcares totais e redutores. O acesso 23 apresentou características físicas que se destacam dos demais acessos, porém, o maior tamanho da semente é fator indesejável, pois com a industrialização diminui-se o aproveitamento e rendimento da polpa. Por outro lado, o acesso 19, correspondente à pitanga apirênica apresentou o menor diâmetro e peso da semente, sendo esta característica desejável. Este genótipo também apresentou as características físico-químicas considerados adequados para o processamento ou mercado in natura.

**Palavras-chave:** Myrtaceae. Massa do fruto. Fruto sem semente.

### 6.2 ABSTRACT

The Surinan cherry is native fruit tree with potential of market, whose fruits can attend the industry or the consumption in natura. However, the pulp content may be impaired by the seed fruit size. At UTFPR, there is a genotype that produces fruit without seeds that it can potentiate the use of this species in orchards, it being important to analyze the quality of its fruit produced. The objective of this study was to determine the quality of the fruits of different Surinan cherry (*E. uniflora*) genotypes. In the years of 2012, 2013 and 2015, 40 mature fruits were obtained from 23 accessions of Surinan cherry, including the apirenic genotype. The fruits were taken to the Laboratory

and the total fruit and seed weight, equatorial diameter of the fruit and seed, total soluble solids content (TSS), total sugars and reducers were evaluated. Genotype 23 presented physical characteristics that stand out, but the larger seed size is an undesirable factor, because with the industrialization, the pulp content will be reduced. On the other hand, the genotype 19, corresponding to the Surinam cherry with apirenic fruit had the smallest diameter and weight of the seed, it being this characteristic desirable. This genotype also presented the physical-chemical characteristics considered suitable for processing or in natura market.

**Key words:** Myrtaceae. Fruit mass. Fruit without seed.

### 6.3 INTRODUÇÃO

O Brasil vem se destacando nos últimos anos como grande produtor no setor de frutas, tendo exportado anualmente volume de produção considerável. Entretanto, as fruteiras nativas do Brasil, que apresentam potencial, ainda são pouco exploradas pelo mercado interno e externo, mesmo com possibilidade para atender o consumo in natura e as indústrias alimentícias, de cosméticos e farmacêutica.

Atualmente, com a busca cada vez maior por produtos naturais e com a crescente utilização de compostos antioxidantes em terapias preventivas para doenças, nas quais os radicais livres estão implicados, os produtos naturais, como vitaminas e flavonóides, tem merecido atenção especial (HALLIWELL; GUTTERIDGE, 2000).

Por isso, as fruteiras nativas vêm ganhando atenção pelos produtores e consumidores, já que estudos demonstraram que algumas possuem ação antioxidante, como *P. guajava* (goiaba) (MELO et al., 2008a), *E. dysenterica* (cagaita) (ROESLER et al., 2007), *E. uniflora* (pitanga) (MELO et al., 2008b; BAGETTI, 2009), *E. pyriformis* Camb. (uvaia), *E. involucrata* DC. (cereja-do-mato) e *Plinia sp.*, Berg (jabuticaba) (SCHLLEMER et al., 2009), sendo todas pertencentes a família Myrtaceae.

Os frutos produzidos pela pitangueira são ricos em vitaminas A e C (LORENZI, 2002; BEZERRA et al., 2000) e em substâncias antioxidantes, como em óleos essenciais, os quais podem ser extraídos de folhas e de outras partes da planta (MARIN et al., 2004).

No Sul do país, por ser um dos centros de origem de diversas espécies de fruteiras e pela presença da agricultura caracterizada como familiar, estas assumem

papel importante, pois seu grande potencial de exploração econômica possibilita atingir nichos de mercado ávidos por novidades, aliado as inúmeras possibilidades de beneficiá-las, obtendo-se produto diferenciado, atrativo e com maior tempo de prateleira, além da agregação de valor comercial (FRANZON, 2008).

Porém, para desenvolver esse potencial econômico são necessárias pesquisas, principalmente quanto ao melhoramento genético e propagação vegetativa, para que possam ser lançadas e mantidas cultivares produtivas, possibilitando pomares padronizados, com poucas variações na qualidade dos frutos (GOMES et al., 2007).

Contudo, para isso torna-se importante a caracterização das qualidades físicas e sensoriais dos frutos dos diferentes genótipos de pitangueira, principalmente aquelas em que tornam-se mais atrativos por não possuírem sementes.

Sendo assim, o objetivo deste estudo foi determinar a qualidade física e sensorial dos frutos de acessos de pitangueira (*E. uniflora*) pirênicos e um apirênico.

#### **6.4 MATERIAL E MÉTODOS**

Nos anos de 2012, 2013 e 2015, foram coletados 40 frutos maduros de 23 acessos de pitangueiras provenientes da área da coleção de Fruteiras Nativas da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Câmpus Dois Vizinhos. Os acessos são provenientes de sementes colhidas de oito plantas matrizes oriundas de Honório Serpa em 30/10/2004.

Após a colheita, os frutos foram levados para o Laboratório de Fisiologia Vegetal, no qual foram analisados quanto ao massa total do fruto e da semente, diâmetro equatorial do fruto e semente, massa e porcentagem de polpa e, teor de sólidos solúveis totais (SST).

A massa do fruto e semente (g) foi realizado com auxílio de balança analítica, obtendo-se primeiro o valor do fruto e depois das sementes, quando fez-se a retirada da polpa. Pela diferença obteve-se o valor da massa da polpa. As avaliações dos diâmetros equatorial do fruto e semente foram determinadas com o auxílio de paquímetro digital. O teor de SST foi mensurado com refratômetro digital (RTD-45), da média obtida de 10 frutos.

A massa da polpa foi realizada de acordo com a diferença entre a massa do fruto e a massa da semente, e a partir daí realizada a porcentagem da polpa.

Foi utilizado delineamento inteiramente casualizado, compondo cada acesso um tratamento, com quatro repetições, e 10 frutos por unidade experimental.

Os dados foram submetidos ao teste de normalidade de Lilliefors, sendo que os mesmos não foram transformados. Posteriormente, as médias foram submetidas à análise de variância e ao teste de Scoot-Knott ( $\alpha = 0,05$ ). Todas as análises foram efetuadas pelo aplicativo computacional ASSISTAT<sup>®</sup> (SILVA; AZEVEDO, 2009).

## 6.5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Entre os acessos avaliados no presente estudo houve variabilidade em todas variáveis. Porém, tais variações são importantes para o melhoramento genético, pois constituem-se em matéria-prima para o melhorista.

De acordo com Villachica et al. (1996), frutos de espécies nativas, como a pitangueira, são desuniformes, o que torna necessário estabelecer critérios de seleção, como cor, tamanho e massa.

Variações na massa e no tamanho dos frutos revelam o potencial de uma espécie frutífera para seleção e melhoramento genético (FENNER, 1993), sendo que tais comportamentos podem ser modificados de acordo com o manejo a ser adotado.

Os resultados obtidos no ano de 2012 permitiram formação de 6, 7, 5, 3 e 5 grupos quanto as análises da massa e diâmetro dos frutos, massa e diâmetro da semente e, teor de sólidos solúveis totais, respectivamente (Tabela 8). Neste ano, o acesso 4 foi o de maior peso e diâmetro de fruto. Porém, este também foi o de maior média para o diâmetro da semente e, juntamente com o acesso 1, com relação ao peso da mesma (Tabela 8). Isso demonstra que, normalmente, frutos de pitangueira maiores tendem também a apresentar semente maiores, o que não é vantajoso para industrialização, pois afeta o rendimento da polpa. Entretanto, pelo aspecto visual no momento da compra da fruta in natura, pode ser interessante.

**Tabela 8:** Massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira (*E. uniflora*) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2012.

Acesso	Massa fruto	Diâmetr o fruto	Massa semente	Diâmetro semente	SST (°Brix)	Massa polpa	% Polpa
--------	----------------	--------------------	------------------	---------------------	----------------	----------------	---------

	(mg)	(mm)	(mg)	(mm)	(mg)	(mg)	(mg)
1	22,18 b*	15,44 b	8,80 a	10,18 a	12,67 c	13,38 c	60,35 d
2	12,27 f	12,85 e	3,20 d	6,66 b	7,85 e	9,07 e	73,81 b
3	16,22 e	13,68 d	6,32 b	9,44 a	17,40 a	9,90 d	60,98 d
4	25,52 a	16,48 a	8,40 a	10,72 a	9,07 e	17,12 a	67,17 c
5	12,76 f	11,94 f	5,57 c	11,98 a	15,22 b	7,19 e	56,23 e
6	14,27e	12,72 e	5,74 c	8,60 b	11,25 d	8,53 e	59,67 d
7	16,63 e	13,46 d	5,28 c	8,35 b	15,10 b	11,35 d	68,25 c
8	13,37 f	12,30 e	5,05 c	8,46 b	15,02 b	8,33 e	62,29 d
9	11,42 f	11,18 g	3,81 d	7,39 b	15,77 b	7,60 e	66,69 c
10	18,00 d	13,68 d	5,22 c	8,11 b	13,02 c	12,76 c	70,83 b
11	20,40 c	15,20 b	5,56 c	8,38 b	9,45 e	14,83 b	72,73 b
12	15,50 e	13,79 d	3,83 d	7,93 b	12,97 c	11,67 d	75,27 b
13	12,15 f	12,06 f	4,06 d	8,01 b	7,77 e	8,08 e	66,61 c
14	20,63 c	15,41 b	5,89 c	8,36 b	7,65 e	14,74 b	71,26 b
15	16,78 e	14,05 d	6,21 b	9,03 b	11,95 d	10,57 d	62,97 d
16	22,98 b	16,57 a	6,98 b	10,12 a	10,85 d	16,00 a	69,61 c
17	20,50 c	15,74 b	6,46 b	9,25 a	10,15 d	14,03 c	68,50 c
18 <sup>1</sup>	12,19 f	12,94 e	4,35 d	8,52 b	10,80 d	7,84 e	64,27 d
19 <sup>2</sup>	11,07 f	12,64 e	0,29 e	1,01 c	10,77 d	10,79 d	97,49 a
20	20,62 c	15,58 b	5,44 c	9,34 a	8,65 e	15,18 b	73,70 b
21	15,83 e	14,28 c	4,03 d	8,45 b	8,97 e	11,80 d	74,48 b
22	16,76 e	14,60 c	5,14 c	9,32 a	16,30 a	11,62 d	69,22 c
C.V (%)	8,41	3,16	11,73	16,43	9,39	9,35	3,89

\*Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna, diferem pelo teste de Scoot-Knott ( $\alpha = 0,05$ ).

<sup>1</sup> Acesso de pitanga pirênica usada em outros trabalhos em comparação com a apirênica.

<sup>2</sup> Acesso da pitanga apirênica.

O consumidor é considerado o elemento mais importante de qualquer empresa ou negócio, uma vez que, tem papel decisivo sobre os produtos e a qualidade daquilo que se deseja adquirir (RASEIRA, 2000). Atributos como tamanho dos frutos são referências que o consumidor leva em consideração no momento da escolha do produto (TREVISAN, 2003; FRUTIFATOS, 2002).

Por outro lado, o acesso 19, de fruto apirênico, em 2012 esteve no grupo de menor peso de fruto juntamente com os acessos 18, 2, 5, 8, 9 e 13. Mas, tal classificação não se manteve em relação ao diâmetro deste, pois o acesso 9 mostrou-se isolado no grupo de menor média. Todavia, o aspecto de semente rudimentar no acesso 19, quando presente, se confirmou nas análises realizadas, demonstrando-se em ambas variáveis (peso e diâmetro), ser enquadrado isoladamente no grupo de menores médias (Tabela 8). O fato deste acesso não ter semente ou tê-la praticamente rudimentar interferiu diretamente sobre o peso do fruto. O fruto normalmente é comercializado pelo seu peso, mas como este acesso apresenta característica diferenciada, ou seja, sem semente, o que diminui seu peso, é importante agregar valor na hora da venda, para que assim não haja perda economia ao produtor e estímulo para seu uso em pomar.

Quanto ao teor de sólidos solúveis totais, o grupo de maior média apresentou 2 acessos, sendo estes os acessos 3 (17,40°Brix) e 22 (16,30°Brix) e, o de menor média 7 acessos (acessos 2, 4, 11, 13, 14, 20 e 21).

Esses valores são maiores do que aqueles encontrados por Bezerra et al. (2004), que estudando o comportamento de seleções de pitangueira da Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária – IPA, originadas através da propagação sexual, constataram que os acessos em estudos apresentaram frutos com SST de 9,0 a 13,4 °Brix. Após avaliação clonal, o acesso IPA-2.2 foi lançado como a primeira cultivar comercial brasileira, sob a denominação de ‘Tropicana’, a qual apresenta como principais vantagens a alta produção - 20,8 Kg de frutos ano<sup>-1</sup> (média de dez anos), peso médio do fruto variando de 3 a 4,5 g, polpa avermelhada, SST de 9,0 °Brix e relação SST/Acidez de 4,1 (IPA, 2000).

Ao comparar a descrição desta cultivar Tropicana com a pitangueira apirênica, verificou-se que as características descritas para esta última foram superiores em massa e SST nos dois anos de análise, reforçando a potencialidade da mesma.

Outro ponto importante é que o acesso 19 não esteve dentre aqueles agrupados como de menor SST (Tabela 8), reforçando a potencialidade do mesmo, para beneficiamento ou mercado in natura, pois neste último caso, pode até despertar o interesse para exportação de sua fruta.

Além disso, os resultados encontrados permitem verificar que o acesso de maior peso de fruto (4) esteve dentre aqueles de menor SST (Tabela 8), característica que deve ser bem analisada nos próximos ciclos produtivos de forma conjunta, pois caso o fruto

seja ofertado para o mercado in natura, este atrai pelo aspecto visual, mas pode comprometer o retorno da compra pelo sabor que apresenta.

Quanto a massa de polpa, o grupo de maior média apresentou 2 acessos, sendo estes os acessos 4 e 16 e, o de menor média 7 acessos (acessos 2, 5, 6, 8, 9, 13 e 18) (Tabela 8). Já para a porcentagem de polpa o acesso 19, correspondente ao acesso apirênico foi o que apresentou a maior média (97,49 %).

No ano de 2013, para as mesmas variáveis avaliadas (peso e diâmetro dos frutos, peso e diâmetro da semente, e teor de sólidos solúveis totais), teve-se redução no número de grupos formados para as características físicas relacionadas ao fruto, em comparação ao ano anterior (Tabela 9). O peso de frutos formou cinco grupos, tendo as maiores médias aquele formado pelos acessos 3, 10, 11 e 14 e, o de menor somente composto pelo acesso 1 (Tabela 9).

**Tabela 9:** Massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira (*E. uniflora*) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2013.

<b>Acesso</b>	<b>Massa fruto (mg)</b>	<b>Diâmetro fruto (mm)</b>	<b>Massa semente (mg)</b>	<b>Diâmetro semente (mm)</b>	<b>SST (°Brix)</b>	<b>Massa polpa (mg)</b>	<b>% Polpa</b>
1	6,81 e*	13,25 d	2,05 d	7,49 e	12,92 b	4,75 h	69,62 c
2	19,15 b	17,73 a	5,73 b	10,42 b	15,92 a	13,42 d	69,97 c
3	22,25 a	15,67 b	7,31 a	10,02 b	16,87 a	14,94 c	67,28 c
4	18,80 b	18,81 a	4,99 c	10,98 a	10,22 d	13,81 c	73,55 c
5	19,39 b	15,34 c	6,97 a	10,13 b	12,40 c	12,42 d	63,93 d
6	20,45 b	15,21 c	6,22 b	9,70 c	11,95 c	14,23 c	69,60 c
7	19,46 b	14,64 c	6,32 b	9,53 c	10,75 c	13,14 d	67,44 c
8	11,69 d	12,41 e	4,78 c	8,71 d	13,07 b	6,91 g	59,01 e
9	19,88 b	14,96 c	5,67 b	8,99 d	13,62 b	14,20 c	71,41 c
10	23,10 a	15,04 c	4,46 c	8,72 d	10,25 d	18,64 a	80,64 b
11	23,52 a	16,33 b	5,30 c	9,46 c	9,17 d	18,22 a	77,45 b
12	19,46 b	15,04 c	4,65 c	8,71 d	10,45 d	14,80 c	76,09 b
13	19,40 b	14,54 c	4,34 c	8,56 d	8,07 e	15,06 c	77,58 b
14	22,49 a	18,15 a	5,02 c	9,65 c	9,47 d	17,47 a	77,70 b



15	13,16 d	13,94 d	4,69 c	9,06 d	11,42 c	8,46 f	63,86 d
16	13,37 d	16,13 b	3,77 c	9,77 c	11,85 c	9,59 f	71,84 c
17	20,67 b	16,25 b	4,76 c	9,24 d	11,67 c	15,90 b	77,02 b
18 <sup>1</sup>	16,03 c	13,82 d	4,90 c	8,91 d	11,57 c	11,12 e	69,37 c
19 <sup>2</sup>	12,19 d	13,52 d	0,28 e	0,51 f	11,47 c	11,91 d	97,74 a
20	17,17 b	16,24 b	4,62 c	10,34 b	7,40 e	12,55 d	73,06 c
21	19,32 b	16,33 b	5,39 c	10,11 b	9,95 d	13,92 c	71,93 c
22	13,58 d	12,79 e	4,84 c	8,84 d	12,02 c	8,74 f	64,27 d
C.V (%)	9,08	4,24	12,51	5,09	7,12	10,17	4,27

\* Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna, diferem pelo teste de Scoot-Knott ( $\alpha = 0,05$ ).

<sup>1</sup> Acesso de pitanga pirênica usada em outros trabalhos em comparação com a apirênica.

<sup>2</sup> Acesso da pitanga apirênica.

Para o diâmetro dos frutos, também foram formados cinco grupos, sendo, o de maiores médias constituído pelos acessos 2, 4 e 14, repetindo-se somente este último como o de maior peso. Por outro lado, o grupo de menor diâmetro foi formado pelos acessos 8 e 22, diferente também daquele constituído pelo peso (Tabela 9). Com isso, verifica-se que o diâmetro do fruto de pitangueira nem sempre tem relação com seu peso.

Quanto ao peso das sementes em 2013, foram formados cinco grupos, com os acessos 3 e 5 compondo aquele de maior média e o 19 como de menor. O diâmetro destas, possibilitou a formação de seis grupos, sendo o acesso 4 agrupado no de maior valor e os acessos 19 e 1 de menor (Tabela 9).

O acesso 19 (pitangas sem sementes ou quando com sementes presentes estas são rudimentares) nos ciclos produtivos confirmam o menor diâmetro e peso da semente. Também houve repetição para o acesso 4, para o diâmetro da semente, sendo este de maior diâmetro, fato que se relacionado ao rendimento da polpa, pode comprometê-lo para o mercado industrial.

Quanto aos sólidos solúveis totais em 2013, houve a formação de cinco grupos, sendo o de maiores médias formado pelos acessos 2 (15,92°Brix) e 3 (16,87°Brix), e o de menor pelos 13 (8,07°Brix) e 20 (7,40°Brix) (Tabela 9).

Os acessos 13 e 20 (Tabelas 8 e 9), nos dois anos de avaliação, repetiram os menores valores no teor de sólidos solúveis. Com isso, caso haja interesse na comercialização de seus frutos, deve-se buscar atender mercados que prefiram tal frutos menos doces ou para o processamento. Por outro lado, o acesso 3 (Tabelas 8 e 9), teve o maior teor de sólidos solúveis em ambos os anos de avaliação, o que é interessante para o mercado in natura.

O consumidor tem papel decisivo sobre os produtos e a qualidade daquilo que deseja adquirir (RASEIRA et al., 2000). As características qualitativas dos frutos, envolvendo as propriedades físicas e químicas são fatores relevantes nessa decisão (SOARES et al., 2010).

Para a massa da polpa, o grupo de maior média foi composto por 3 acessos, sendo o 10, 11 e 14, e o grupo de menor média também composto por 3 acessos, o 15, 16 e 22. Já para a porcentagem de polpa o acesso 19, correspondente ao acesso apirênico foi o que apresentou a maior média (97,74 %) (Tabela 9).

Em 2015, não foram realizadas análises nos frutos dos acessos 9 e 10, pois os mesmos não frutificaram. Por isso, fez-se a inclusão do acesso 23, caracterizado por produzir pitangas de coloração preta. Este acesso (23) foi o que apresentou os maiores pesos e diâmetros de frutos e sementes (Tabela 10). Em compensação, o acesso 19 manteve o mesmo comportamento das análises realizadas para o peso e diâmetro da semente em 2012 e 2013 (Tabelas 8 e 9, respectivamente) em 2015 (Tabela 10), fato que realmente comprova a característica apirênica.

**Tabela 10:** Massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 21 acessos de pitangueira (*E. uniflora*), da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2015.

<b>Acessos</b>	<b>Massa fruto (mg)</b>	<b>Diâmetro fruto (mm)</b>	<b>Massa semente (mg)</b>	<b>Diâmetro semente (mm)</b>	<b>SST (°Brix)</b>	<b>Massa polpa (mg)</b>	<b>% Polpa</b>
1	17,50 d*	17,27 b	5,59 b	9,79 b	11,82 c	11,90 c	67,80 d
2	16,28 d	15,69 c	4,52 c	9,14 c	14,47 a	11,75 c	72,27 c
3	13,44 e	14,59 d	3,59 d	8,90 c	11,90 c	9,85 d	73,31 c
4	20,85 b	17,69 b	4,90 c	9,85 b	9,57 d	15,95 b	76,52 b
5	12,57 e	14,24 d	3,93 c	9,11 c	13,30 b	8,64 d	68,42 d

6	11,42 e	13,75 d	3,00 d	8,39 d	9,47 d	8,41 d	73,68 c
7	10,63 e	13,08 e	2,52 e	7,68 e	10,90 c	8,11 d	76,23 b
8	8,66 f	12,23 f	3,35 d	8,62 d	6,40 e	5,31 e	61,14 e
11	15,57 d	15,87 c	3,34 d	8,18 d	9,02 d	12,24 c	78,57 b
12	11,79 e	14,28 d	2,33 e	7,49 e	10,77 c	9,47 d	80,14 b
13	10,90 e	13,33 e	2,36 e	7,80 e	9,25 d	8,54 d	78,31 b
14	16,92 d	16,52 c	3,22 d	7,36 e	11,35 c	13,70 b	80,95 b
15	7,66 f	12,06 f	2,43 e	7,20 e	11,40 c	5,23 e	68,43 d
16	10,92 e	14,31 d	2,31 e	7,91 e	10,75 c	8,60 d	78,79 b
17	16,92 d	16,37 c	4,25 c	9,70 b	10,10 d	12,67 c	74,69 b
18 <sup>1</sup>	9,22 f	13,35 e	2,97 d	8,14 d	7,52 e	6,25 e	67,56 d
19 <sup>2</sup>	14,57 d	15,44 c	0,54 f	2,68 f	11,87 c	14,03 b	96,45 a
20	15,82 d	15,54 c	4,35 c	9,01 c	10,80 c	11,47 c	72,25 c
21	18,35 c	16,23 c	4,10 c	8,43 d	11,17 c	14,25 b	77,60 b
22	10,01 f	14,00 d	3,03 d	8,55 d	10,05 d	6,97 e	69,63 d
23 <sup>3</sup>	28,12 a	20,52 a	6,88 a	11,04 a	12,60 b	21,23 a	75,61 b
C.V (%)	11,56	5,23	17,54	7,28	9,24	13,28	4,43

\* Médias com letras minúsculas diferentes na mesma coluna, diferem pelo teste de Scoot-Knott ( $\alpha = 0,05$ ).

<sup>1</sup> Acesso de pitanga pirênica usada em outros trabalhos em comparação com a apirênica.

<sup>2</sup> Acesso da pitanga apirênica.

<sup>3</sup> Acesso de pitanga pirênica preta.

Aliado a isso, este acesso 19 não esteve agrupado naquele grupo de menor média para o peso e diâmetro do fruto, o que possibilita ser favorável seu rendimento da polpa, como observado em todos os anos de avaliação (Tabelas 8, 9 e 10), no qual pode ser útil para seu processamento, pois, a presença de sementes dificulta seu aproveitamento e manuseio (SHIFRISS; EIDELMAN, 1986).

Quanto ao peso e diâmetro dos frutos em 2015, o menor grupo para o primeiro foi formado pelos acessos 22, 18, 15 e 8, e para o segundo com os acessos 15 e 8 (Tabela 10), comprovando assim, relação de ambas variáveis nos acessos que repetiram os menores valores.

Além disso, nos três anos de análise, os acessos 22, 18 e 8 tiveram em dois destes, menores valores, sendo o primeiro relacionado ao diâmetro do fruto, ao segundo

ao peso deste e, no último em ambas variáveis (Tabelas 8, 9 e 10). Isso pode estar relacionado ao fato de que estes acessos não passam por nenhum processo de manejo, principalmente de raleio, o que possibilita alternância de produção, com um ano produzindo maior número de frutos e com menor peso e diâmetro e, em outro menor número de frutos e como consequência possibilitando maiores pesos e diâmetros.

A alternância é um dos problemas comuns para a grande maioria de frutíferas, sendo tendência das mesmas em produzir colheita excessiva no ano vigente, seguida de produção escassa no ano seguinte (MONSELISE; GOLDSCHMIDT, 1982), ocasionando, nos anos de excessiva produção, frutos de tamanho muito pequeno, que muitas vezes não chegam a ser comercializados e podendo ocasionar, em alguns casos quebra de ramos nas plantas (COGGINS; HIELD, 1968).

Em relação ao teor de sólidos solúveis, na análise de 2015, houve a formação de 5 grupos, com o acesso 2 isoladamente componto o grupo de maior média e, o 18 e 8 como de menor média, sendo os valores destes três foram de 14,47°Brix, 7,52°Brix e 6,40°Brix, respectivamente (Tabela 10).

O que chama atenção é o fato do acesso 2, em 2012 (Tabela 8) estar entre aqueles de menor sólidos solúveis totais e nos demais anos (2013 e 2015) apresentar-se superior (Tabelas 9 e 10). Isso reforça a hipótese de que a falta de manejo na planta influencia o sabor ou o fato de que as condições climáticas também alteraram-se ao longo dos anos, interferindo na qualidade dos frutos.

Além disso, demonstra-se que para seleção de frutos em qualquer programa de melhoramento é necessário no mínimo análises em mais de dois ciclos produtivos.

Danner et al. (2010), citaram que no programa de melhoramento de fruteiras nativas da Embrapa Clima Temperado, as características dos frutos são avaliadas por quatro ou cinco ciclos produtivos consecutivos, de forma a subsidiar a seleção de genótipos superiores e servir como descritores das possíveis cultivares, sendo esse número de medições considerados adequado para predizer o valor real dos indivíduos, com confiabilidade superior a 80% em todos os caracteres, indicando que esses caracteres podem ser utilizados na seleção fenotípica de genótipos superiores em araçazeiro e pitangueira.

Pode-se dizer, em geral, que os sólidos solúveis totais (SST) dos frutos avaliados com pitangueiras pirênica e apirênica nestes anos de coleta, variou entre 10 e 12 °Brix (Tabelas 8, 9 e 10). Tal faixa de análise está dentro dos valores considerados adequados para a espécie, conforme verificado pelo IPA (2007), onde destaca que o Ministério da

Agricultura, Pecuária e Abastecimento (BRASIL, 1999), através da Instrução Normativa de nº 136, de 31 de março de 1999, estabelece os seguintes valores padrões referente às características físico-químicas à industrialização da polpa de pitanga: sólidos solúveis totais de 6 °Brix (mínimo); acidez total de 0,92% de ácido cítrico (mínimo); açúcares totais naturais de 9,5 g/100 g (máximo); pH entre 2,5 e 3,4; polpa de cor vermelha; sabor e aroma próprios.

## **6.6 CONCLUSÕES**

O acesso relacionado à pitangueira apirênica confirmou as qualidades de seu fruto para atender principalmente o mercado industrial, porém, pode-se fazer uso também para dupla finalidade. Os acessos 2 e 23 se destacaram como sendo produtores de frutos que podem ser direcionados para consumo in natura, porém, o último citado, produtor de frutas pretas, deve ser melhor avaliado nos próximos anos para resultado mais conclusivo.

## 7 CONSIDERAÇÕES FINAIS

A *E. uniflora* apresenta grande potencial para ser explorada economicamente, tanto para o consumo in natura como para indústria, isso deve-se ao fato de que esta fruteira traz inúmeros benefícios à saúde humana. Entretanto, este potencial ainda é pouco explorado e cultivos comerciais são raros. Por isso, acredita-se que para desenvolver esse potencial econômico são necessários o uso de materiais genéticos que atraiam o consumidor, como fruto sem semente, para que haja aumento no consumo e demanda no mercado. Somente dessa forma, o fruticultor estará incentivado a plantá-la.

No presente estudo, identificou-se uma pitangueira apirênica, sendo que esta característica torna-se vantajosa para a produção comercial, aumentando o rendimento da polpa e manuseio pela indústria, sendo este último, talvez, a melhor forma de uso desta fruta, pois a mesma apresenta alta perecibilidade após colheita.

Devido os dados obtidos sobre a floração, frutificação, formação da semente e caracterização geral da pitangueira apirênica serem pioneiros, tornam-se necessárias mais observações, analisando o comportamento deste acesso ao longo dos anos, em diferentes condições e o tipo de herança envolvida.

Também é importante a continuação de estudos referentes à propagação destas sementes rudimentares e posterior avaliação da planta, observando-se a herdabilidade desta característica quando realizado cruzamentos dirigidos.

Contudo, desenvolver o cultivo comercial desta fruteira nativa é essencial para aumentar sua importância econômica e, para isso, faz-se necessário dar continuidade aos trabalhos aqui apresentados.

## REFERÊNCIAS

- ADEOYE, A. O. Volatile constituents of *Eugenia uniflora* L. leaf oil. **Food Chemistry**, v. 99, n. 1, [S.I.], 2006.
- AGAREZ, F.V.; RIZZINI, C.M.; PEREIRA, C. Botânica: taxonomia, morfologia e reprodução dos angiospermae: chaves para determinação das famílias. 2. ed. Rio de Janeiro: Âmbito Cultural, 256 p.il. 1994.
- ALMEIDA, J.A.S. Da folha à obtenção de embriões somáticos de *Coffea*. **O Agrônômico**, Campinas, v. 59, n. 1, p. 63-64. 2007.
- ALMEIDA, D. J.; FARIA, M. V.; SILVA, P. R. Biologia experimental em Pitangueira: uma revisão de cinco décadas de publicações científicas. **Ambiência**, v.8, n.1, p. 177 – 193, 2012.
- ALVES, S.S.; SANTOS, F.C.C.; FERNANDES, F.S.; SPOLIDORO, M.L.C.V. Fenologia de *Eugenia uniflora* (myrtaceae) na região centro-sul do estado do rio de janeiro. **I Simpósio de pesquisa em mata atlântica**, Rio de janeiro, 56-58 p., 2010.
- ANGELY, J. **Flora analítica do Paraná**. São Paulo: universidade de São Paulo, 1965.
- ARANTES. A.A. **Florística da família Myrtaceae Juss. na Estação Ecológica do Panga, Uberlândia, MG**. Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP. 158p. 1997.
- ARATHI, H.S.; GANESHAIAH K.N.; UM ASCHAANKER R. & HEGDE, S.G. Factors affecting embryo abortion in *Syzygium cumnii* (L.) skeels (Myrtaceae). **International Journal of Plant Sciences**, n.157, p. 49–52, 1996.
- ARAÚJO, J.M.A. Química de alimentos: teoria e prática. 19. ed. Viçosa: Imprensa Universitária, 1995. 335p.

ARCILA-PULGARIN, J., BURH, L., HACK, H., HESS, M., KLOSE, R., MEIER, U., WICKE, H. Application of the extended BBCH-scale for the description of the growth stages of coffee (*Coffea* spp.). **Ann. Appl. Biol.** v. 141, p. 19–27, 2002

ASKER, S.E.; JERLING, L. **Apomixis in plants**. Boca Raton: CRC, 298 p. 1992.

AURICCHIO, M.; BACCHI, E.M. Folhas de *Eugenia uniflora* L. (pitanga): propriedades farmacobotânicas, químicas e farmacológicas. **Revista do Instituto Adolfo Lutz**, v. 62, n. 1, p. 55 - 61, 2003.

BAGETTI, M. **Caracterização físico-química e capacidade antioxidante de pitanga (*Eugenia uniflora*)**. Santa Maria, 85 f. 2009. Dissertação (Mestrado em ciência e tecnologia de alimentos) – Centro de ciências rurais, Universidade Federal de Santa Maria, RS.

BARROSO, G.M.; MORIM, M.P.; PEIXOTO, A.L.; ICHASO, C.L.F. **Frutos e Sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas**. Viçosa: Universidade Federal de Viçosa, 443 p. 1999.

BASHAW E.C. **Apomixis and its application in crop improvement**. In: FERHR, W.R.; HADLEY, H.H. (ed.). *Hybridization of Crop Plants*. Madison: American Society of Agronomy and Crop Science of America, 1980.p.45-63.

BAWA, K. S. Breeding systems of tree species for a lowland tropical community. **Evolution**, v. 28, p. 85-92, 1974.

BAWA, K.S. Patterns of flowering in tropical plants. In: C.E. Jones & R.J. Little (eds.). **Handbook of Experimental Pollination biology**. Van Nostrand Reinhold Company Inc. 1983. p. 294-309.

BEARDSELL, D.V.; KNOX, R.B. & WILLIAMS, E.G.. Breeding system and reproductive success of *Thryptomene calycina* (Myrtaceae). **Australian Journal of Botany**, v.41, p. 333-353, 1993a.



BEARDSELL, D.V.; O'BRIEN, S.P.; WILLIAMS, E.G.; KNOX, R.B & CALDER, D.M. Reproductive biology of australian Myrtaceae. **Australian Journal of Botany**, v.41, p.511-526, 1993b.

BELL, A.D. **Plant Form. An Illustrated Guide to Flowering Plant Morphology**. Oxford New York Tokyo: Oxford University Press, 341 p.il. 1991.

BERJAK, P.; PAMMENTER, N. W. What ultrastructure has told us about recalcitrant seeds. **Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal**, v.12, n. especial, p.22-25, 2000.

BEZERRA, J.E.F.; LEDERMAN, I.E.; PEDROSA, A.C.; DANTAS, A.P.; FREITAS, E.V. de. Performance of surinam cherry (*Eugenia uniflora* L.) in Pernambuco, Brazil. **Acta Horticulturae**, Vitória, n.370, p.77-81, 1995.

BEZERRA, J.E.F.; LEDERMAN, I.E.; FREITAS, E.V. de; SANTOS, V.F. dos. Método de enxertia e idade de porta-enxerto na propagação da pitangueira (*Eugenia uniflora* L.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 21, n. 3, p. 262-265, 1999.

BEZERRA, J.E.F.; SILVA JUNIOR, J. F. da; LEDERMAN, I. E. **Pitanga (*Eugenia uniflora* L.)**. Jaboticabal: FUNEP, 30p. 2000. (Série Frutas Nativas, 1).

BEZERRA, J.E.F.; LEDERMAN, I.E.; FREITAS, E.V.da; SILVA JUNIOR, J.F.da. Propagação de genótipos de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) pelo método de enxertia de garfagem no topo em fenda cheia. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.24, n.1, p.160-162, 2002.

BEZERRA, J.E.F.; LEDERMAN, I.E.; SILVA JUNIOR, J.F. da.; ALVES, M.A. Comportamento da pitangueira (*Eugenia uniflora* L.) sob irrigação na região do Vale do Rio Moxotó, Pernambuco. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.26, n.1, p.177-179, 2004.

BEZERRA, J.E.F.; SILVA JUNIOR, J.F.; LEDERMAN, I.E. Melhoramento genético e o manejo da pitangueira em Pernambuco. In: IV SIMPÓSIO NACIONAL DO MORANGO, III ENCONTRO DE PEQUENAS FRUTAS E FRUTAS NATIVAS DO

MERCOSUL. **Palestras & Resumos**. (ED) REISSER JÚNIOR, C. et al. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p. 85-93, 2008.

BLEIHOLDER, H., VAN DEN BOOM, T., LANGELUDDEKE, P., STAUSS, R. Einheitliche Codierung der phanologischen Stadien bei Kultur- und Schadpflanzen. **Gesunde Pflanzen**, v.41, p.381–384, 1989.

BORGHETTI, F.; FERREIRA, A.G. **Interpretação de resultados de germinação**. In: FERREIRA, A.G.; BORGHETTI, F., editores. Germinação: do básico ao aplicado. Porto Alegre: Artmed. p. 251-262. 2004.

BRASIL. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. **Regras para análise de sementes**. Ministério da Agricultura, Pecuária e Abastecimento. Secretaria de Defesa Agropecuária. Brasília, DF: Mapa/ACS, 395p. 2009.

BRIGGS, B.G.; JOHNSON, L.A.S. Evolution in the Myrtaceae-Evidence from inflorescence structure. **Proceedings of the Linnean Society of New South Wales**, v. 102, p. 157-256. 1979.

BULLOCK, S.H.; SOLIS-MAGALLANES, J.A. Phenology of canopy trees of a tropical deciduous forest in Mexico. **Biotropica**, v. 22, p. 22-35. 1990.

CAIRNEY, J.; XU, N.; PULLMANN, G.S.; CIAVATTA, V.T.; JOHNS, B. Natural and Somatic Embryo Development in Loblolly Pine, **Applied Biochemistry and Biotechnology**, v. 77-79, p. 5-17, 1999.

CAMARGO, U. A.; AMARAL, A. L.; OLIVEIRA, P. R. D. Uva sem sementes: uso da biotecnologia na busca de novas cultivares apirênicas. **Biotecnologia Ciência e Desenvolvimento**, Brasília, v. 2, n. 10, p. 108-112, 1999.

CANGAHULA-INOCENTE, G.C. **Caracterização morfofisiológica, bioquímica e proteômica da embriogênese zigótica e somática de goiabeira serrana (*Acca sellowiana* (O. Berg.) Burret)**. Tese. Universidade Federal de Santa Catarina. 2007. 256p.

CANHOTO, J. M. **Biotecnologia Vegetal – da clonagem de plantas à manipulação genética**. Imprensa da Universidade de Coimbra, Coimbra (in press). 2010.

CANO-MEDRANO, R.; DARNELL, R.L. Cell number and cell size in parthenocarpic vs. Pollinated blueberry (*Vaccinium ashei*) fruits. **Annals of Botany**, v. 80, p. 419-425, 1997.

CAPRON, A.; CHATFIELD, S.; PROVART, N.; BERLETH, T. 2009. Embryogenesis: pattern formation from a single cell. The Arabidopsis Book. Rockville, MD: American Society of Plant Biologists. Disponível em: <<http://www.aspb.org/publications/arabidopsis/>>. Acesso em: 03 Ago. 2016.

CARVALHO, T.C.P. **Comportamento de algumas cultivares de Ameixeira Japonesa (*Prunus salicina*) quanto à polinização no Rio Grande do Sul**. Dissertação de Mestrado, UFPel, 73p. 1989.

CARVALHO, T.C.P.; RASEIRA, M.C.B. Aspectos relacionados à polinização e autocompatibilidade em ameixeira japonesa (*Prunus salicina* Lindl). **Horti Sul**, Pelotas, v.1, n.2, p.29-32, 1990.

CASPER, B.B.; WIENS, D. Fixed rates of random ovule abortion in *Cryptantha flava* (Boraginaceae) and its possible relation to seed dispersal. **Ecology**, v.62, p.866-869, 1981.

CHAGAS, E.A. et al. Composição de meio de cultura e condições ambientais para germinação de grãos de pólen de porta-enxertos de pereira. **Ciência Rural**, v.40, n.2, p.231-236, 2010.

CHARLESWORTH, D. Evolution of low female fertility in plants: Pollen limitation, resource allocation and genetic load. **Tree**, v.4, n.10, 289-292, 1989.

CLEGG, M. T. Measuring plant mating systems. **BioScience**, n. 30, p. 814-818, 1980.

COGGINS, C.W.; HIELD, H.Z. **Plant growth regulators**. In.:REUTHER, W.; BATCHELOR, L.D.; WEBBER, H.J. (Eds). The citrus industry. Riverside: University of California, 1968. v. 2, p. 371 – 386.

CONSOLINI, A.E.; BALDINI, O.A.N.; AMAT, A.G. Pharmacological basis for the empirical use of *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae) as antihypertensive. **Journal of Ethnopharmacology**, v. 66, p. 33-39, 1999.

CORREIA, S. I.; CANHOTO, J. M. Characterization of somatic embryo attached structures in *Feijoa sellowiana* Berg. (Myrtaceae). **Protoplasma**, v. 242, p. 95–107, 2010.

COSTA, I. R. **Estudos cromossômicos em espécies de Myrtaceae Juss. no sudeste do Brasil**. 2004. 80 f. Dissertação (Mestrado em Biologia vegetal) – universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2004.

COSTA, I.R.; FORNI-MARTINS, E.R. Chromosome studies in species of *Eugenia*, *Myrciaria* and *Plinia* (Myrtaceae) from south-eastern Brazil. **Australian Journal of Botany**, Collingwood, v. 54, p. 409-415, 2006.

CRONQUIST, A. The evolution and classification of flowering plants. Bronx: The New York **Botanical Garden**, 2.ed. 555p. 1988.

CUNHA, M.C.L.; FERREIRA, R.A. Aspectos morfológicos da semente e do desenvolvimento da planta jovem de *Amburana cearensis* (Arr. Cam.) A.C. Smith - cumaru - Leguminosae - Papilionoideae. **Revista Brasileira de Sementes**, v. 25, p. 89-96. 2003.

CURRIER, H. B. Callose substance in plant cells. **American Journal of Botany**, Bronx, v. 44, n. 6, p. 478-488, 1957.

CURTI, F. **Efeito da maçã gala (*Malus domestica* Bork) na lipídemia de ratos hipercolesterolêmicos**. p. 13, 2003.

CUTTER, E. G. **Anatomia Vegetal Parte II: Órgãos- Experimentos e Interpretação.** São Paulo: Ed. Roca; 1986. 335 p.

DAMIÃO FILHO, C. F.; MÔRO, F. V. **Morfologia externa das espermatófitas.** FCAV/UNESP, Jaboticabal-SP, p. 52, 2001.

DANNER, M. A. **Diagnóstico ecogeográfico e caracterização morfo genética de jaboticabeiras.** Pato Branco. 130 f., 2009. Dissertação. (Mestrado em Agronomia – Produção vegetal), Universidade Tecnológica Federal do Paraná, PR.

DANNER, M. A.; RASEIRA, M. do C.; SASSO, S, A. Z.; CITADIN, I.; SCARIOT, S. Repetibilidade de caracteres de fruto em araçazeiro e pitangueira. **Ciência Rural**, v.40, n.10, 2010.

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**, v.33, n.2, p. 345-352. 2011.

DEL DUCA, L. J. A. **Índices meióticos em trigos brasileiros e estudos comparativos entre comportamento citológico, fatores ambientais e componentes da produção.** Porto Alegre, (Dissertação: Mestrado em Agronomia, UFRGS) Porto Alegre, 1976. 139p.

DELLACASSA, E.; LORENZO, D.; MONDELLO, L.; COTRONEO, A. Uruguayan essential oils. Part vII. Composition of leaf oil of *Eugenia uruguayensis* Camb. var. *uruguayensis* (Myrtaceae). **Journal of Essential Oil Research**, v. 9, p. 295-297, 1997.

DEMATTE, M.E.R.P. Ornamental use of Brazilian Myrtaceae. **Acta Horticulturae**, n. 452, p.143-179, 1997.

DONADIO, L.C. **Fruticultura para pomares domésticos.** Jaboticabal, SP: UNESP-FCAV, 126p. 1983.

DONADIO, N.M.M.; DEMATTÊ, M.E.S.P. Morfologia de frutos, sementes, e plântulas de canafístula (*Peltophorum dubium* (Spreng.) Taub.) e jacarandá-da-Bahia (*Dalbergia nigra* (Vell.) Fr. All. ex Benth.) - Fabaceae. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.22, n.1, p.64-73, 2000.

DONADIO, L. C.; MÔRO, F. V.; SERVIDONE, A.A. **Frutas brasileiras**. Jaboticabal: Novos Talentos, 288p. 2002.

DONG, J.Z.; DUNSTAN, D.I. **Molecular biology of somatic embryogenesis in conifers**. In: JAIN, S.M.; MINOCHA, S.C. (Eds), Molecular biology of woody plants. Dordrecht : Kluwer Academic, p. 51–87. 2000.

EMERSHAD, R.L.; RAMMING, D.W.; SERPE, M.D. *In ovulo* embryo development and plant formation from stenospermic genotypes of *Vitis vinifera* L. **American Journal of Botany**, Bronx, New York, v. 76, p. 397-402, 1989.

ENDRESS, P.K. **Diversity and evolutionary biology of tropical flowers**. Cambridge University Press. 1994.

FAEGRI, K.; PIJL, L. van der. **The principles of pollination ecology**. Oxford, Pergamon Press. 1979.

FANTINI, A.C.; REIS, A.; REIS, M.; GUERRA, M.P. Sustained yield management in tropical forest: a proposal based on the autoecology of the species. **Sellowia**, v. 42/44, p. 25-33, 1992.

FELIPPI, Mariele. **Morfologia da flor, do fruto e da plântula; ontogênese e germinação da semente de *Chrysophyllum gonocarpum* (mart. e eichl.) engl.** Curitiba, 71f. 2006. (Dissertação de Mestrado em Engenharia Florestal) – Universidade Federal do Paraná, PR.

FELLER, C., BLEIHOLDER, BUHR, L., HACK, L., HESS, M., KLOSE, R., MEIER, U., STAUSS, R., VAN DEN BOOM, T., WEBER, E. Phanologische

Entwicklungsstadien von Gemuse. II. Fruchtgemuse und Hulsenfruchte. **Nachrichtenblatt des Deutschen Pflanzenschutzdienstes**, v. 47, p. 217–232. 1995.

FENNER, M. **Seed ecology**. London: Chapman & Hall. 1993.

FERREIRA, F.R.; FERREIRA, S.A.N.; CARVALHO, J.E.U. Espécies frutíferas pouco exploradas, com potencial econômico e social para o Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.9, n. extra, p.11-22, 1987.

FERREIRA, R.A.; BOTELHO, S.A.; DAVIDE, C.A.; MALAVASI, M.M. Morfologia de frutos, sementes, plântulas e plantas jovens de *Dimorphandra mollis* Benth. – faveira (Leguminosae-Caesalpinioideae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 24, n. 3, p. 303-309. 2001.

FERREIRA, M. A J. da F.; QUEIROZ, M. A de; VENCOVSKY, R.; BRAZ, L. T.; VIEIRA, M. L. C. **Implicações da expressão sexual e do sistema reprodutivo de melancia em programas de pré-melhoramento**. Brasília: Embrapa, n. 65, p. 24, 2004. (Boletim de pesquisa e desenvolvimento).

FISCHER, D.C.H.; LIMBERGER, R.P.; HENRIQUES, A.T.; MORENO, P.R.H. Essential oils from leaves of two *Eugenia brasiliensis* specimens from southeastern Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v.17, p. 499-500, 2005.

FLECKINGER, J. Les stades végétatifs des arbres fruitiers en rapport avec les traitements. **Pomologie Française** (Suppl.), p.81–93. 1948.

FOURNIER, L. A. Un metodo cuantitativo para la medición de características fenológicas en arboles. **Turrialba**, Turrialba, v. 24, n. 4, p. 422-424, 1974.

FOURNIER, L. A. El dendrofenograma, una representación gráfica del comportamiento de los árboles. **Turrialba**, v. 26, n. 1, p. 96-97, 1976.

FRANZON, R.C. **Caracterização de mirtáceas nativas do sul do Brasil** . 114f. 2004. Dissertação (Mestrado em Fruticultura de Clima Temperado) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2004.

FRANZON, R.C.; RASEIRA, M.C.B.; CORRÊA, E.R. Potencialidades agrônômicas de algumas mirtáceas frutíferas nativas do Sul do Brasil. In: RASEIRA, M.C.B.; ANTUNES, L.E.C.; TREVISAN, R.; GONÇALVES, E.D. **Espécies Frutíferas Nativas do Sul do Brasil** (Documentos, 129). Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p.99-106. 2004.

FRANZON, R.C.; RASEIRA, M.do C.B. Germinação *in vitro* e armazenamento do pólen de *Eugenia involucrata* DC (Myrtaceae). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.28, p.18-20, 2006.

FRANZON, R.C.; RASEIRA, M.do.C.B.; WAGNER JR., A. Testes de germinação *in vitro* e armazenamento de pólen de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.). **Acta Scientiarum**, Maringá, v.29, p.251-255, 2007.

FRANZON, R.C. **Propagação vegetativa e modo de reprodução da pitangueira** (*Eugenia uniflora* L.). 100 f. 2008. Tese (Doutorado em Agronomia) - Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel, Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2008.

FRANZON, R.C.; CASTRO, C.M.; RASEIRA, M.C.B. Variabilidade genética em populações de pitangueira oriundas de autopolinização e polinização livre, acessada por AFLP. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v.32, p.240-250, 2010.

FREITAS, B.M. Changes with time in the germinability of cashew (*Anacardium occidentale*) pollen grains found on different body areas of its pollinator bees. **Review of Brazilian Biology**, v. 57, p. 289-294, 1997.

FRUTIFATOS. **Informação para a fruticultura irrigada**, Brasília, v.2, n.2, 64p. 2002.



GAALICHE, B.; TRAD, M.; MARS, M. Effect of pollination intensity, frequency and pollen source on fig (*Ficus carica* L.) productivity and fruit quality. **Scientia Horticulturae**, v. 130, p. 737-742, 2011.

GALLETTA, G.J. **Pollen and seed management**. In: MOORE, J.N.; JANICK, J. (Ed.). *Methods in fruit breeding*. Indiana: Purdue University Press, p. 23-47. 1983.

GARCÍA-CARBONELL, S., YAGUE, H., BLEIHOLDER, H., HACK, H., MEIER, U., AGUSTI, M. Phenological growth stages of the persimmon tree (*Diospyros kaki*). **Ann. Appl. Biol.** v. 141, p. 73-76. 2002.

GERRITS, P.O.; SMID, L. A new, less toxic polymerization system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. **Journal of Microscopy**. v.132, n.1, p. 81-85, 1983.

GIACOMETTI, D.C. Recursos genéticos de fruteiras nativas do Brasil. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS DE FRUTEIRAS NATIVAS, 1992, Cruz das Almas, BA. Anais...Cruz das Almas, BA: EMBRAPA-CNPMF, 1993. p.13-27.

GODOY, S. M.; PEREIRA, A. R. A.; SANTOS, S. P. **Caracterização citogenética e morfológica de algumas espécies de plantas nativas da floresta semidecidual na estação ecológica do Caiuá, Paraná**. 2010.

GOMES, G. C.; RODRIGUES, W. F.; GOMES, F. R. C.; BARBIERI, R. L.; GARRASTAZU, M. C. **Conservação de frutíferas nativas: localização, fenologia e reprodução**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 36 p. 2007. (Documentos, 183).

GOUD, B.; MAJELLA, G.; MAFRA, R.; SAUTIER, D. **Opções para o desenvolvimento da agricultura familiar na Zona da Mata de Pernambuco**. Recife: Prorenda Rural-PE/CIRAD, 81p. 1997.

GUILHERME, F. A. G.; MORELLATO, P. L. C.; ASSIS, Marco A. Horizontal and vertical tree community structure in a lowland Atlantic rain forest, Southeastern Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.27, p.725-737, 2004.

GURGEL, J. T. A.; SOUBIHE SOBRINHO, J. Poliembronia em mirtáceas frutíferas. **Bragantia**, v.11, n.4/6, p.141-163, 1951.

HACK, H., BLEIHOLDER, H., BUHR, L., MEIER, U., SCHNOCK-FRICKE, U.,WEBER, E.,WITZENBERGER, A. Einheitliche Codierung der phanologischen Entwicklungsstadien mono- und dikotyler Pflanzen-Erweiterte BBCH-Skala, Allgemein. **Nachrichtenbl. Deut.** Pflanzenschutz. v. 44, p. 265–270, 1992.

HALLIWELL, B.; GUTTERIDGE, J.M.C **Free Radicals in Biology and Medicine**. 3 ed. Clarendon, Oxford, NY, 254p, 2000.

HAMRICK, J. L. **Isozymes and analysis of genetic structure in plant populations**. In: \_\_\_\_\_. Isozymes and the analysis of genetic structure in plant populations. (D.E. Soltis & P. Soltis, eds). New York: Chapman and Hall, 1989. p. 87-105.

HANNA, W. W.; BASHAW. E. C. Apomixis: its identificacion and use in plant breeding. **Crop Sei**, v. 27, p. 1136-1139, 1987.

HERRERO, M. Male and female synchrony and the regulation of mating in flowering plants. **Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological sciences**, London, v.358, p. 1019-1024, 2003.

HOSSEL, C. **Enraizamento de mini-estacas de jabuticabeiras, pitangueira, araçazeiro amarelo e sete capoteiro**. 132 f. 2016. Dissertação (Mestrado em Agronomia) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná, Programa de Pós-graduação em Agronomia, Pato Branco, 2016.

INSTITUTO ADOLFO LUTZ. **Normas analíticas do Instituto Adolfo Lutz: métodos químicos e físicos para análise de alimentos**. São Paulo: Instituto Adolfo Lutz, v.1. 3. ed., 533p. 1985.

IPA (Empresa Pernambucana de Pesquisa Agropecuária). **Pitanga cultivar tropicana**. Recife, 4p. 2000. (Fôlder).

JOHNSON, A.M. Polyembryony in *Eugenia hookeri*. **American Journal of Botany**, v.23, p.83-88, 1936.

JOHANSEN, D.A. **Plant microtechnique**. New York, McGraw-Hill Book Co. Inc., 523 p. 1940.

JOHRI, B.M.; SRIVASTAVA, P.S.; SINGH, N. Reproductive biology of angiosperms. In: JOHRI, B.M.; SRIVASTAVA, P.S. **Reproductive biology in plants**. New Delhi: Narosa publishing house, p. 237-272, 2001.

JORNAL DA FRUTA. Safra de frutas tropicais aumenta exportações. Lages, v. 13, n. 165, p. 1, 2005.

JUNIOR, M. A. P.; CÔRREA, M. V. G.; MACEDO, R.B.; CANCELLI, R. R.; BAUERMAN, S. G. **Grãos de pólen: Usos e aplicações**. In: XVII Jornada Acadêmica da Biologia. Canoas. 2006.

KIILL, 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**, Santa Maria, v. 33, n. 5, p. 851-856, 2003.

KOLTUNOW A.M. Apomixis: embryo sacs and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. **Plant Cell**, v. 5, p. 1425-1437,1993.

KORBES, V. C. **Plantas medicinais**. 48. ed. Francisco Beltrão: Associação de Estudos, Orientação e assistência Rural, 1995. 188p.

LANCASHIRE, P., BLEIHOLDER, H., VAN DEN BOOM, T., LANGELU'DDEKE, P., STAUSS, R.,WEBER, E.,WITZENBERGER, A. A uniform decimal code for growth stages of crops and weeds. **Ann. Appl. Biol.** v. 119, p. 561–601, 1991.

LANDRUM, L R.; KAWASAKI, M L. The genera of Myrtaceae in Brazil: an illustrated synoptic treatment and identification keys. **Brittonia**, New York, v.49, p.508-536, 1997.

LEDBETTER, C.A.; RAMMING, D.W. Seedlessness in Grapes. **Horticultural reviews**. Portland, v.11, p.159- 184. 1989.

LEDERMAN, I.E.; BEZERRA, J.E.F.; CALADO, G. **A pitangueira em Pernambuco**. Recife: IPA, 20p. 1992. (IPA. Documentos, 19).

LIMA, V.L.A.G. de; MELO, E. de A.; LIMA, D.E. da S. Fenólicos e carotenóides totais em pitanga. **Scientia Agrícola**, v.59, n.3, p.447-450, 2002.

LINA, M. F. I. S.; KAGEYAMA, P. Y.; SEBBENN, A. M. Sistemas de reprodução em população natural de *Chorisia speciosa* A. St.-Hil. Bombacaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 1, p. 113-121, 2003.

LINSKENS, H. F.; ESSER, K. Uber eine spezifische Anfärbung der pollen-shlauche und die zagl kallosapropten nach selbstung und fremdung. **Naturwissenschaften**, Heidelberg, v.44, p.16, 1957.

LIRA JÚNIOR, J. S. BEZERRA, J. E. F.; LEBERMAN, I. E.; SILVA JUNIOR, J. F. D. **Pitangueira**. Recife: Linceu, 2007. 87p.

LORENZI, H. **Árvores do Brasil - Manual de Identificação e Cultivo de Plantas Arbóreas do Brasil**. vol. 2. 2 ed. Nova Odessa : Instituto Plantarum, 2002. 384 p.

LOVE, R.M. La citología como ayuda práctica al mejoramiento de los cereales. **Revista Argentina Agronômica**, Buenos Aires, v.1, n.16, p.1-13, 1949.

LUCAS, E.J.; HARRIS, S.A.; MAZINE, F.F.; BELSHAM, S.R.; LUGHADHA, E.M.N.; TELFORD, A.; GASSON, P.E.; CHASE, M.W. Suprageneric phylogenetic of Myrteae, the generically richest tribe in Myrtaceae (Myrtales). **Táxon**, v. 56, p. 1105-1128. 2007.

LUGHADHA, E.N.; PROENÇA, C. A survey of the reproductive biology of the Myrtoideae (Myrtaceae). **Annals of the Missouri Botanical Garden**, vol. 83, p. 480-503, 1996.

MAGUIRE, J.D. Speeds of germination-aid selection and evaluation for seedling emergence and vigor. **Crop Science**, Madison, v.2, p. 176-177, 1962.

MAIA, J. G. S.; ANDRADE, M. H. L.; DA SILVA, M. H. L.; ZOGHBI, M. G. B. A. New chemotype of *Eugenia uniflora* L. from North Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v.11, p.727-729, 1999.

MANICA, I. **Frutas Nativas, Silvestres e Exóticas 2**: técnicas de produção e mercado: feijoa, figo- da- índia, fruta-pão, jaca, lichia, mangaba. Porto Alegre: Cinco Continentes Editora, p. 459-541. 2002.

MALERBO-SOUZA, D.T.; NOGUEIRA-COUTO, R.H.; TOLEDO, V.A.A. Abelhas visitantes nas flores da jabuticabeira (*Myrciaria cauliflora* Berg) e produção de frutos. **Acta Scientiarum**, v.26, n.1, p.1-4. 2004.

MARCELLÁN, O.N.; CAMADRO, E.L. The viability of asparagus pollen after storage at low temperatures. **Sci. Horticult.**, Amsterdam, v. 67, p. 101-104, 1996.

MARCHIORETTO, M. A.; MAUHS, J.; BUDKE, J. C. Fenologia de espécies arbóreas zoocóricas em uma floresta psamófila no sul do Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 21, p. 193-201. 2007.

MARCHIORI, J. N. C. **Dendrologia das angiospermas Myrtales**. Santa Maria: Ed. UFSM, 1997. 304p

MARIN, R.; PIZZOLI, G.; LIMBERGER, R.; APEL, M.; ZUANAZZI, J.A.S.; HENRIQUES, A.T. Propriedades nutraceuticas de algumas espécies frutíferas nativas do sul do Brasil. In: RASEIRA, M.C.B.; ANTUNES, L.E.C.; TREVISAN, R.;

GONÇALVES, E.D. **Espécies frutíferas nativas do sul do Brasil**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, p.107-122. 2004. (Documentos, 129)

MARRENCO, R. A.; LOPES, N. F. **Fisiologia vegetal**: fotossíntese, respiração, relações hídricas e nutrição mineral. Viçosa, MG: UFV, 2005. 451 p.

MATHEOU, A.; STAVROPOULOS, N.; SAMARAS, S. Studies on table grape germoplasm growth in Northern Greece. II- Seedlessness, berry and must characteristics. **Vitis**, v. 34, n.4, p.217-20, 1995.

MATTOS, J.R. de. Fruteiras nativas do Sul do Brasil. In: SIMPÓSIO NACIONAL DE RECURSOS GENÉTICOS DE FRUTEIRAS NATIVAS, 1992, Cruz das Almas, BA. **Anais...** Cruz das Almas, BA: EMBRAPA-CNPMPF, p.35-50. 1993.

MCKERSIE B.D.; BROWN D.C.W. Somatic embryogenesis and artificial seeds in forage legumes. **Seed Science Research**, v.6, p. 9-126, 1996.

McVAUGH, R. Tropical American Myrtaceae. **Fieldiana Botany**, Chicago, v.29, n.3, p.145-228, 1956.

MEDINA, D.M.; PRADO, O.T.; MENDES, A.J.T.; ROESSING, C. A poliploidia artificial na obtenção de melancia sem sementes. **Bragantia**. In: VIII Curso Internacional de Produção, v. 17, n. único, p. 81-100, 1958.

MEIER, U., GARF, H., HACK, H., HESS, M., KENNEL, W., KLOSE, R., MAPPE, D., SEIPP, D., STAUSS, R., STREIF, D., VANDEN BOOM, T., Phanologische Entwicklungsstadien der Kernobstes (*Malus domestica* Borkh. und *Pyrus communis* L.), des Steinobstes (Prunus-Arten), der Johannisbeere (Ribes-Arten) und der Erdbeere (*Fragaria x ananassa* Duch.). Codierung und Beschreibung nach der Erweiterten BBCH-Skala, mit Abbildungen. **Nachrichtenbl. Deut. Pflanzenschutzd.**, v. 46, p.141-153. 1994.

MELGAREJO, P., MARTINEZ-VALERO, R., GUILLAMON, J., MIRO, M., AMOROS, A. Phenological stages of the pomegranate tree (*Punica granatum* L.). **Ann. Appl. Biol.** v.130, p. 135–140, 1997.

MARTINEZ-CALVO, J., BADENES, M., LLACER, G., BLEIHOLDER, H., HACK, H., MEIER, U. Phenological growthstages of loquat tree (*Eryobotria japonica* thumb. lindl.). **Ann. Appl. Biol.** v. 134, p. 353–357, 1999.

MELO, E. A.; MACIEL, M. I. S.; LIMA, V. L. A. G.; NASCIMENTO, R. J. Capacidade antioxidante de frutas. **Revista Brasileira de Ciências Farmacêuticas.** Pernambuco, v. 44, n. 2, 2008a.

MELO, E.A.; MACIEL, M.I.S.; LIMA, V.L.A.G.; ARAÚJO, C.R. Teor de fenólicos totais e capacidade antioxidante de polpas congeladas de frutas. **Alim. Nutr.**, Araraquara, v.19, n.1, p. 67-72, 2008b.

MENEZES-DE-LIMA JR, O.; ROSAS, E. C.; HENRIQUES, M.G.M.O.; BRANQUINHO, L. F.; RAMOS, M. F. S.; SIANI, A. C. **Avaliação da atividade antiinflamatória de óleos essenciais de espécies de Myrtaceae e Compositae.** III Jornada Paulista de Plantas Mediciniais. CPQBA-UNICAMP. Campinas, Brasil. 1997.

MERWE, M.M.; WYK, A.E.; BOTHA, A.M. Molecular phylogenetic analysis of *Eugenia* L. (Myrtaceae), with emphasis on southern Africa taxa. **Plant Systematic and Evolution**, New York, v.251, n.1, p. 21-34, 2005.

METCALF, C.R.; CHALK, L. **Anatomy of the dicotyledons.** Oxford, Clarendon Press, 1979.

MIRANDA, P.A.; CLEMENT, C.R. Germination and storage of pejibaye (*Bactris gasipaes*) Palmae pollen. **Rev. Biol. Trop.**, San Jose, v. 38, n. 1, p. 29-33, 1990.

MONSELISE, S.P.; GOLDSCHMIDT, E.E. Alternate bearing in fruit trees: a review. **Horticultural Reviews**, Amsterdam, v. 4, p. 128 – 173, 1982.

MORAIS, S. M.; BRAZFILHO, R.; MACHADO, M. I. L.; ALENCAR, J. W.; MATOS, J. A. A. Volatile constituents of *Eugenia uniflora* leaf oil from northeastern Brazil. **Journal of Essential Oil Research**, v.8, p. 449- 451, 1996.

MORDHORST, A. P., TOONEN, M. A.; DE VRIES, S. C. Plant Embryogenesis. Critical. **Review in Plant Sciences**, v. 16, p. 535-576, 1997.

MORELLATO, L.P.C., RODRIGUES, R.R., LEITÃO FILHO, H.F.; JOLY, C.A. Estudo comparativo da fenologia de espécies arbóreas de floresta de altitude e floresta mesófila semi-decídua na Serra do Japi, Jundiaí, São Paulo. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 12, p. 85-98. 1989.

MORELLATO, L.P.C., LEITÃO FILHO, H.F., RODRIGUES, R.R.; JOLY, C.A. Estratégias fonológicas de espécies arbóreas em floresta de altitude na Serra do Japi, Jundiaí São Paulo. **Revista Brasileira de Biologia**, v. 50, p. 149-162. 1990.

MORELLATO, L. P. C. **As estações do ano na floresta**. In: LEITÃO FILHO, H.F. E MORELLATO, L.P.C. (Orgs.). *Ecologia e preservação de uma floresta tropical urbana: Reserva de Santa Genebra*. Campinas: UNICAMP, 1995. p.187-192.

MORELLATO, L.P.C., TALORA, D.C., TAKAHASI, A., BENCKE, C.S.C., ROMERA, E.C.; ZIPPARRO, V. Phenology of atlantic rain forest trees: a comparative study. **Biotropica**, v. 32 (Special Issue), p. 811-823. 2000.

MORI, S. A.; BOOM, B. M.; CARVALINO, A. M.; dos SANTOS, T. S. 1983. Ecological importance of Myrtaceae in a eastern Brazilian wet Forest. **Biotropica**, v. 15, n. 1, p. 68-70. 1983.

MULLINS, M. G.; BOUQUET, A.; WILLIAMS, L. E. *Biology of the grapevine*. Cambridge: **University Press**, 239 p., 1992.

NEVES, C. S. V. J. Sementes recalcitrantes. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 29, n. 9, p.1459-1467, 1994.



NEWSTROM, L.E., FRANKIE, G.W.; BAKER, H.G. A new classification for plant phenology based on flowering patterns in lowland tropical rain forest trees at La Selva, Costa Rica. **Biotropica**, v. 26, p. 141-159. 1994.

NOGLER, G.A. **Gametophytic apomixis**. In: JOHRI, B.M., (ed). Embryology of Angiosperms. Berlin Heidelberg:Springer-Verlag, 1984. p. 475-518.

NOGUEIRA, R.J.C. M.; SILVA JUNIOR, J.F. da; BEZERRA, J.E.F.; LEDERMAN, I.E.; BURITY, H.A.; SANTOS, V.F. dos. Comportamiento estomático y tensión de agua en el xilema de dos genotipos de pitanga (*Eugenia uniflora* L.) cultivados bajo estrés hídrico. **Revista de Investigación Agraria. Série Producción y Protección Vegetales**, v.15, n.3, p.213-225, 2000.

O' BRIEN, T.P.; FEDER, N.; MCCULLY, M.E. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, v.59, n.2, p.368-373, 1965.

O'BRIEN, S.P.; CALDER, D.M. Reproductive biology and floral phenologies of the sympatric species *Leptospermum myrsinoides* and *L. continentale* (Myrtaceae). **Australian Journal of Botanic** 41: 527–539. 1993.

OLIVEIRA, A . M . **Avaliação química dos alcalóides da espécie Eugenia uniflora**. In: ENCONTRO REGIONAL DE QUÍMICA RIBEIRÃO PRETO, 12., 1999, Ribeirão Preto, Livro de resumos Sociedade Brasileira de Química, Ribeirão Preto, uSP/SP, 1999. [S.I.].

OLIVEIRA, A. F.; CARVALHO, D. de; ROSADO, S. C. S. Taxa de cruzamento e sistema reprodutivo de uma população natural de *Copaifera langsdorffii* Desf. na região de Lavras (MG) por meio de isoenzimas. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 25, n. 3, p. 331-338, 2002.

OLIVEIRA, M. do S. P. de; COUTURIER, G.; BESERRA, P. Biologia da polinização da palmeira tucumã (*Astrocaryum vulgare* Mart.) em Belém, Pará, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 17, n. 3, p. 343-353, 2003.

PAOLI, A.A.S.; FREITAS, L.; BARBOSA, J.M. Caracterização morfológica dos frutos, sementes e plântulas de *Croton floribundus* Spreng. e de *Croton urucurana* Baill (Euphorbiaceae). **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.9, n.1, p.73-81, 1987.

PESCADOR, R.; KERBAUY, G. B.; STRASSBURG, R. C.; KRAUS, J. E. Structural aspects of the zygotic embryogenesis of *Acca sellowiana* (O. Berg) Burret (Myrtaceae). **Acta botanica Brasília**, São Paulo, v.23, n.1, p.136-144, 2009.

PETRI, J.L.; PASQUAL, M.; PELLEGRIN, M.de. Número de grãos de pólen por antera em diversas cultivares de macieira (*Malus silvestris*). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 4., Campinas, 1976. **Anais...** Campinas: Sociedade Brasileira de Fruticultura, p.467-471. 1976.

PFAHLER, P.L. In vitro germination and pollen tube growth of maize (*Zea mays* L.) pollen: calcium e boron effects. **Can. J. Bot.**, Toronto, v. 45, p. 839-845, 1967.

PIO, L.A.S. et al. Viabilidade do pólen de laranjas doces em diferentes condições de armazenamento. **Ciência e Agrotecnologia**, v.31, n.1, p.147-153, 2007.

POMMER, C. V.; RAMMING, D. W.; EMERSHAD, R. Influence of grape genotype, ripening season, seed trace size, and culture date on in ovule embryo development and plant formation. **Bragantia**, Campinas, v. 54, n.2, p.237-249, 1995.

PRATT, C. Reproductive anatomy in cultivated grapes - a review. **American Journal of Enology and Viticulture**, Davis, v. 22, n. 2, p. 92-109, 1971.

PREDIERI, S. Mutation induction and tissue culture in improving fruits. **Plant Cell Tissue Organ Culture**, v. 64, p. 185–210, 2001.

PROENÇA, C.; GIBBS, P. E., Reproductive biology of eight sympatric Myrtaceae from Central Brazil. **New Phytologist**, v.126, p.343-354. 1994.

RAMMING, D.W. The use of embryo culture in fruit breeding. **HortScience**, Alexandria, v.25, n.4, p.393-398. 1990.

RASEIRA, M. do C.B.; SIMONETTO, P. R.; GRELLMAN, E; NAKASU, B. H. Lançamento de cultivares de pessegueiro, ano 2000. Embrapa Clima Temperado. 2000.

REIS, M. Dinâmica da movimentação dos alelos: subsídios para a conservação e manejo de populações naturais em plantas. **Revista Brasileira de Genética**, v. 19, n. 4, p. 37-47, 1996. (Suplemento)

REIS, M.S.; FANTINI, A.S.; NODARI, R.O.; REIS, A.; GUERRA, M.P.; MANTOVANI, A. Management and conservation of natural populations in Atlantic Rain Forest: the case study of palm heart (*Euterpe edulis* Martius). **Biotropica**, Lawrence, v.32, p.894-902, 2000.

RICHARDS, A.J. **Plant breeding system**. 2nd ed. George Allen & Unwin, London. 1997.

RODRIGO, M.J.; GARCÍA-MARTÍNEZ, J.L. Hormonal control of parthenocarpic ovary growth by the apical shoot in pea. **Plant Physiology**, v. 116, p. 511-518, 1998.

RODRIGO, J.; HERRERO, M. **Cuajados erráticos em albaricoquero. Polinización y calidad de flor**. Zaragoza: Institución Fernando el Católico, 178p. 2000.

ROESLER, R.; MALTA, L.G.; CARRASCO, L.C.; HOLANDA, R.B.; SOUSA, A.S.; PASTORE, G.M. Atividade antioxidante de frutas do cerrado. **Ciênc. Tecnol. Aliment.**, Campinas, v. 27, n. 1, p. 53-60, 2007.

ROMAGNOLO, M. B.; SOUSA, M. C. O. Gênero *Eugenia* L. (Myrtaceae) na planície alagável do Alto Rio Paraná, Estados de Mato Grosso do Sul e Paraná, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, Feira de Santana, v. 20, n.3, 2006.

SANCHOTENE, M. do C.C. **Frutíferas nativas úteis à fauna na arborização urbana**. Porto Alegre: FEPLAM, 1985. 311p

SANFORD, J.C. **Ploidy manipulations**. In: Moore, J.N., Janick, J. (Eds.), *Methods in*

Fruit Breeding. Purdue Univ. Press, West Lafayette, pp. 100–123. 1983.

SANTIAGO, E.F.; PAOLI, A.A.S. Morfologia do fruto e da semente de *Peltophorum dubium* (Spreng.) Taubert (Leg-Caesalpinoideae). *Naturalia*, v. 24, p. 139-152. 1999.

SCHLLEMER, M.A.; CARPES, S.T. CITADIN, I. Potencial antioxidante e antimicrobiano de extratos de frutas nativas do bioma floresta com araucária. **XIV SICITE – UTFPR**, Seção Alimentos, v.1. 2009.

SCORZA, R.; SHERMAN, W. B. Peaches. In: JANIK J.; MOORE, J.N. (Ed.). **Fruit breeding**. New York: John e Sons, p.325-440. 1995.

SIANI, A. C.; BRANQUINHO, L. F. **Extração e análise química de óleos essenciais de espécies de Myrtaceae**. V Reunião de Iniciação Científica da Fundação Oswaldo Cruz. Rio de Janeiro, Brasil. 1997.

SILVA, L.M.M.; MATOS, V.P.; PEREIRA, D.D.; LIMA, A.A. Morfologia de frutos, sementes e plântulas de *Luetzelburgia auriculata* Duck (pau-serrote) e *Pterogyne nitens* Tul. (madeira- nova-do-brejo) - Leguminosae. **Revista Brasileira de Sementes**, Brasília, v.17, n.2, p.154-159, 1995.

SILVA, Lucia H.S. **A família Myrtaceae – Subtribos: Myrciinae e Eugeniinae na Bacia Hidrográfica do Rio Tibagi, Estado do Paraná, Brasil**. 462 f. 2000. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2000.

SILVA, R. M. de; GERHARD BANDEL, M. I. F. F.; MARTINS, P. S.; Biologia Reprodutiva de Etnovarietades de Mandioca. **Scientia Agrícola**, v. 58, n. 1, p. 101-107, 2001.

SILVA, G. M. C.; SILVA, H.; ALMEIDA, M. V. A.; CAVALCANTI, M. L. F.; MARTINS, P. L. Morfologia do fruto, semente e plântula do Mororó (ou pata de vaca) – *Bauhinia forficata* Linn. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 3, n. 2, 2003.

SILVA, C.V.M.S. **Estudo morfoanatômico de embriões zigóticos e somáticos de jaboticaba branca (*Myrciaria* sp.)**. 2005. Tese de doutorado. Universidade Federal de Viçosa.

SILVA, M. L.; QUEIROZ, M. A.; FERREIRA, M. A. J. F.; BUSO, G. S. C. Caracterização morfológica e molecular de acessos de melancia. **Horticultura Brasileira**, v. 24, p. 405-409. 2006.

SILVA, A. L. G.; PINHEIRO, M. C. B. Biologia floral e da polinização de quatro espécies de *Eugenia* L. (Myrtaceae). **Acta Botânica Brasileira**, v.21, n.1, p. 235-247, 2007.

SILVA, F. A.S.; AZEVEDO, C.A.V. **Principal Components Analysis in the Software Assistat-Statistical Attendance**. In: WORLD CONGRESS ON COMPUTERS IN AGRICULTURE, 7, Reno-NV-USA: American Society of Agricultural and Biological Engineers, 2009

SILVA, S.O.; SANTOS-SEREJO, J.A.; AMORIM, E.P. **Pré-melhoramento da banana**. In: LOPES, M.A.; FÁVERO, A.P.; FERREIRA, M.A.J.F.; FALEIRO, F.G.; FOLLE, S.M.; GUIMARÃES, E.P. (Org.). **Pré-melhoramento de plantas: estado da arte e experiências de sucesso**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2011. p.317-350.

SILVA, A. L.; LOPES, B. C.; FERNANDES, L. R. S. Embriogênese adventícia em *Eugenia uniflora* L. (Myrtaceae). **Revista Tropica: Ciências Agrárias e Biológicas**, v.7, n.1, p. 97, 2013.

SILVA, S. de O. e; AMORIM, E.P.; SANTOS-SEREJO, J.A. dos; FERREIRA, C.F.; RODRIGUEZ, M.A.D. Melhoramento genético da bananeira: estratégias e tecnologias disponíveis. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.35, p.919-931, 2013.

SILVEIRA, M.A. da. Experiência empresarial e perspectivas em fruticultura. In: SÃO JOSÉ, A.R.; SOUZA, I.V.B.; MORAIS, O.M.; REBOUÇAS, T.N.H. (Eds.).

**Anonáceas:** produção e mercado (pinha, graviola, atemóia, cherimólia). Vitória da Conquista, BA: DFZ-UESB, p.286-297. 1997.

SILVEIRA, F.T.; ORTOLANI, F.A.; MATAQUEIRO, M.F.; MORO, J. R. Caracterização citogenética em duas espécies do gênero *Myrciaria*. **Revista de Biologia e Ciências da Terra**, v. 6, n. 2, p. 327-333, 2006.

SHEPHERD, K. Banana: taxonomia e morfologia. In: SIMPÓSIO BRASILEIRO SOBRE BANANICULTURA, 1., 1984, Jaboticabal. **Anais...** Jaboticabal: FCAVJ/UNESP, 1984. p. 50-74.

SHIFRISS, C.; EIDELMAN, E. An approach to parthenocarpy in peppers. **HortScience**, v. 21, n. 6, p. 1458-1459, 1986.

SINIMBU NETO, F.A. MARTINS, A. B. G.; BARBOSA, J. C. Viabilidade "*in vitro*" de grãos de pólen de bacurizeiro - Clusiaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 33, n. 2, p. 593-600. 2011.

SMITH-RAMIREZ, C.; ARMESTO, J.J. Flowering and fruiting patterns in the temperate rainforest of Chiloé, Chile: ecologies and climatic constraints. **Journal of Ecology**, v. 82, p.353-365, 1994.

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**, v.8, p.111-118. 2008.

SOARES, I.A.A. ; FREITAS, F. C. L. ; NEGREIROS, M. Z. ; FREIRE, G.M. ; AROUCHA, E. M. M. ; GRANGEIRO, L. C. ; LOPES, W.A.R. ; DOMBROSKI, J. L. D. . Interferência das plantas daninhas sobre a produtividade e qualidade de cenoura. **Planta Daninha**, v. 28, p. 247-254, 2010

SOLEREDER H. **Sistematic Anatomy of the Dicotyledons**.V1. Oxford: Clarendon Press, 1908. v.1

SOUZA, M. A. D. de. **Biologia reprodutiva de onze espécies de Myrtaceae em floresta de terra firme na Amazônia central.** 76 f. 1996. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas), Universidade Federal do Amazonas, Manaus.

SOUZA, L.A. de. **Morfologia e anatomia vegetal: célula, tecidos, órgãos e plântula.** Ponta Grossa: UEPG, 259 p. il. 2003.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica e Sistemática.** Nova Odessa, Instituto Plantarum, 2005.

STAGGEMEIER, V.G.; MORELLATO, L.P.C.; GALETTI, M. Fenologia reprodutiva de Myrtaceae em uma ilha continental de Floresta Atlântica. **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v. 5, supl. 1, p. 423-425, 2007.

STANLEY, R.G.; LINSKENS, H.F. **Pollen - biology, biochemistry and management.** New York: Springer-Verlag, 1974.

STANSKI, C. **Catálogo polínico de espécies de Myrtaceae e Solanaceae da região dos Campos Gerais – Paraná, Brasil.** 2014, 183 f. Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do Paraná, Setor de Ciências Agrárias, Programa de Pós Graduação em Engenharia Florestal.

STOUT, A. B. Seedlessness in grape. New York: **Agricultural Experiment Station**, 68p., 1936. (Technical Bulletin, n. 238).

SUN, C., KAPLIN, B.A., KRISTENSEN, K.A., MUNYALIOGA, V., MVUKIYUMWAMI, J., KAJONDO, K.K.; MOERMOND, T.C. Tree phenology in a tropical montane forest in Rwanda. **Biotropica**, v. 28, p.668-681. 1996.

TAIZ, L.; ZEIGER, E. **Plant Physiology** (4. Ed) Sinauer Associates, Inc. Sunderland. 2006.

TALORA, D.C.; MORELLATO, L.P.C. Fenologia de espécies arbóreas em floresta de planície litorânea do sudeste do Brasil. **Revista brasileira de botânica**, v. 23, p. 13-26, 2000.

TANGMITCHAROEN, S.; OWENS, J. N. Floral biology, pollination, pistil receptivity, and pollen tube growth of teak (*Tectona grandis* L.f.). **Ann. Bot.** v. 79, p. 227-241, 1997.

TAUTORUS TE, FOWKE LC, DUNSTAN DI. Somatic embryogenesis in conifers. **Canadian Journal of Botany**, v. 69, p. 1873-99. 1991.

THIELE, I.; STRYDOM, D.K. Incompatibility studies in some japanese plum cultivar (*Prunus salicina* Lindl.) grown in South Africa. **South African Agricultural Science**, Pretoria, v.7, p.165-168, 1964.

THOMAS T.L. Gene expression during plant embryogenesis and germination: an overview. **Plant Cell**, v.5, p.1401–1410, 1993.

TISSERAT, B.; ESAN, E.B.; MURASSHIJGE, T. Somatic embryogenesis in angiosperms. **Horticultural Reviews**, v.1, p.1-78, 1979.

TOBE, H.; RAVEN, P.H. An embryological analysis of Myrtales: Its definition and characteristics. **Annals of Missouri Botanical Garden**, v.70, p.71-94, 1983.

TOFANELLI, M.B.D.; AMAYA-ROBLES, J.E.; RODRIGUES, J.D.; ONO, E.O. Ácido giberélico na produção de frutos partenocárpicos de pimenta. **Horticultura Brasileira**, Brasília, v. 21, n. 1, p. 116-118, 2003.

TOONEN, M.A.J.; VRIES, S.C.de. Initiation of somatic embryos from single cells. In: WANG, T.L.; CUMING A. (Eds), Embryogenesis: the generation of a plant. Oxford: **Bios Scientific**, p. 173–189. 1996.



TREVISAN, R. **Avaliação da qualidade de pêssego, cv. Maciel, em função do manejo fitotécnico.** Tese (Doutorado). Faculdade de Agronomia Eliseu Maciel. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas – RS. 114 p.2003.

VAROQUAUX, F.; BLANVILLAIN, R.; DELSENY, M.; GALLOIS, P. Less is better: new approaches for seedless fruit production. **Trends in Biotechnology**, v. 18, p. 233–242. 2000.

VELIOGLU, Y.S.; MAZZA, G.; GAO, L.; OOMAH, B.D. Antioxidant activity and total phenolics in selected fruits, vegetables, and grain products. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.46, p.4113-4117, 1998.

VILLACHICA, H.; CARVALHO, J.E.U.; MULLER, C.H.; DIAZ, S.C.; ALMANZA, M. **Frutales y hortalizas promissórios de la Amazonia.** Lima: Tratado de Cooperacion Amazonica, 1996, p. 227-231. (SPT-TCA, 44).

VIDAL, W.N.; VIDAL M.R.R. **Botânica – Organografia. Quadros Sinóticos Ilustrados de Fanerógamos.** 4. ed. Viçosa: UFV, 124 p. il. 2000.

WAGNER JÚNIOR, Américo; FRANZON, Rodrigo C.; SILVA, José O. da C.; SANTOS, Carlos E. M.; GONÇALVES, Rafael da S.; BRUCKNER, Claudio H. Efeito da temperatura na germinação de sementes de três Espécies de jabuticabeira. **Revista Ceres**, v. 54, n. 314, p. 345-350, 2007.

WAGNER JÚNIOR, A. NAVA, G. A. Fruteiras nativas da família Myrtaceae do Bioma Floresta com Araucária com potencialidades de cultivo. In: MARTIN, T.N.; ZIECH, M.F. **Sistemas de Produção Agropecuária.** UTFPR: Dois Vizinhos. p. 239-252. 2008.

WAGNER JÚNIOR, A.; BRUCKNER, C. H.; CANTÍN, C. M.; SÁNCHEZ, M. A. M.; CRUZ, C. D. Comunicação científica divergência genética entre progênies de pessegueiro em Zaragoza, Espanha. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, n.1, p.303-310, 2011.

WANG, H.; CAO, G.; PRIOR, R.L. Total antioxidant capacity of fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v.44, p.701-705, 1996.

WEBERLING, F. Morphology of flowers and inflorescences. Cambridge: **University Press**, 405 p.il. 1989.

WILLENSE, M.T.M.; VAN WENT, J.L. **The female gametophyte**. In: B.M JOHRI (ed). Embryology of Angiosperms. Berlin Heidelberg: Springer-Verlag, 1984. p.159-191.

WILLIAMS, E. G., AND G. MAHESWARAN. Somatic embryogenesis: factors influencing coordinated behaviour of cells as an embryogenic group. **Ann. Bot.** v. 57, p. 443-462. 1986.

WINKLER, A. J.; Viticultura. México: **Compañía Editorial Continental**, 792p., 1965.

WU, J.-H.; MOONEY, P. Autotetraploid tangor plant regeneration from in vitro Citrus somatic embryogenic callus treated with colchicine. **Plant Cell, Tissue Organ Cult.** v.70, p. 99–104, 2002.

WU, J.-H.; FERGUSON, A.R.; MOONEY, P.A. Allotetraploid hybrids produced by protoplast fusion for seedless triploid Citrus breeding. **Euphytica**, v.141, p. 229–235, 2005.

WU, J.-H.; FERGUSON, A.R.; MURRAY, B.G. Manipulation of ploidy for kiwifruit breeding: in vitro chromosome doubling in diploid *Actinidia chinensis* Planch. **Plant Cell, Tissue Organ Cult.** v. 106, p. 503–511, 2011.

WU, J.-H.; FERGUSON, A.R.; MURRAY, B.G.; JIA, Y.; DATSON, P.M.; ZHANG, J.; Induced polyploidy dramatically increases the size and alters the shape of fruit in *Actinidia chinensis*. **Ann. Bot.** v. 109, p. 169–179, 2012.

WU, J.-H. Seed attributes in fruit of colchicine-induced tetraploids of *Actinidia chinensis*. **Scientia Horticulturae**, v.172, p. 265–270, 2014.

WYK, A. E.; LOWREY, T. K. Studies on the reproductive biology of *Eugenia* L. (Myrtaceae) in Southern Africa. **Monography Systematic Botanic Missouri Botanical Garden**, v.25, p.279-293, 1988.

ZADOKS, J., CHANG, T.T., KONZACK, C.FA. Decimal code for the growth stages of cereals. **Weed Res.** v. 14, p. 415–421, 1974.

ZIMMERMAN, J. L. Somatic embryogenesis: A model for early development in higher plants. **The Plant Cell**, v. 5, p. 1411 – 1423, 1993.

ZHANG, Z.; DAI, H.; XIAO, M.; LIU, X. In vitro induction of tetraploids in *Phlox subulata* L. **Euphytica**, v. 159, p. 59–65, 2008.

ZONTA, E. P.; MACHADO, A. A. **Sanest – Sistema de Análise Estatística para Microcomputadores**. Pelotas: UFPel, 75p. 1984.

## ÍNDICE DE APÊNDICES

<b>APENDICE 1:</b> Quadro da análise de variância referente ao número de pólen por antera do experimento número médio de anteras por flor, de grãos de pólen por antera e de pólen por flor, em flores de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) do acesso pirêico e apirênico. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.....	155
<b>APENDICE 2:</b> Quadro da análise de variância referente ao número de pólen por flor do experimento número médio de anteras por flor, de grãos de pólen por antera e de pólen por flor, em flores de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) do acesso pirêico e apirênico. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.....	155
<b>APENDICE 3:</b> Quadro da análise de variância referente ao número de anteras por flor do experimento número médio de anteras por flor, de grãos de pólen por antera e de pólen por flor, em flores de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) do acesso pirêico e apirênico. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.....	155
<b>APENDICE 4:</b> Quadro da análise de variância referente ao acesso pirênico do experimento germinação in vitro de pólen (%) obtida após 3, 5, 7, 9 e 24 horas de incubação a 25°C, de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) pirênica e apirênica, coletados de balões florais e flores após a antese. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.....	156
<b>APENDICE 5:</b> Quadro da análise de variância referente ao experimento germinação in vitro de pólen (%) obtida após 3, 5, 7, 9 e 24 horas de incubação a 25°C, de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) pirênica e apirênica, coletados de balões florais e flores após a antese. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.....	156
<b>APENDICE 6:</b> Quadro da análise de variância referente ao experimento frutificação efetiva (%) em pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) pirênica e apirênica, submetidos a diferentes tratamentos de polinização (T1 – ramos ensacados com TNT; T2 – ensacados com tela anti-afídeo; T3 – polinização livre). UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.....	157
<b>APENDICE 7:</b> Quadro da análise de variância referente a massa do fruto do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2012. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.....	157
<b>APENDICE 8:</b> Quadro da análise de variância referente ao diâmetro do fruto do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira ( <i>E.</i>	

<i>uniflora</i> ) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2012. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.....	158
<b>APENDICE 9:</b> Quadro da análise de variância referente a massa da semente do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2012. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.....	158
<b>APENDICE 10:</b> Quadro da análise de variância referente ao diâmetro do fruto do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2012. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.....	159
<b>APENDICE 11:</b> Quadro da análise de variância referente a massa da semente do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2012. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.....	159
<b>APENDICE 12:</b> Quadro da análise de variância referente ao diâmetro da semente do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2012. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.....	159
<b>APENDICE 13:</b> Quadro da análise de variância referente aos sólidos solúveis totais do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2012. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.....	160
<b>APENDICE 14:</b> Quadro da análise de variância referente a massa da polpa do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2012. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.....	160
<b>APENDICE 15:</b> Quadro da análise de variância referente a porcentagem de polpa do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos	

solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2012. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.....	161
<b>APENDICE 16:</b> Quadro da análise de variância referente a massa do fruto do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2013. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.....	161
<b>APENDICE 17:</b> Quadro da análise de variância referente ao diâmetro do fruto do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2013. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.....	161
<b>APENDICE 18:</b> Quadro da análise de variância referente a massa da semente do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2013. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.....	162
<b>APENDICE 19:</b> Quadro da análise de variância referente ao diâmetro da semente do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2013. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.....	162
<b>APENDICE 20:</b> Quadro da análise de variância referente aos sólidos solúveis totais do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2013. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.....	163
<b>APENDICE 21:</b> Quadro da análise de variância referente a massa da polpa do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2013. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.....	163

<b>APENDICE 22:</b> Quadro da análise de variância referente a porcentagem de polpa do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2013. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.....	164
<b>APENDICE 23:</b> Quadro da análise de variância referente a massa do fruto do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 21 acessos de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2015. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.....	164
<b>APENDICE 24:</b> Quadro da análise de variância referente ao diâmetro do fruto do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 21 acessos de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2015. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.....	164
<b>APENDICE 25:</b> Quadro da análise de variância referente a massa da semente do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 21 acessos de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2015. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.....	165
<b>APENDICE 26:</b> Quadro da análise de variância referente ao diâmetro da semente do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 21 acessos de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2015. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.....	165
<b>APENDICE 27:</b> Quadro da análise de variância referente aos sólidos solúveis totais do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 21 acessos de pitangueira ( <i>E. uniflora</i> ) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2015. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.....	166
<b>APENDICE 28:</b> Quadro da análise de variância referente a massa da polpa do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 21 acessos de pitangueira ( <i>E.</i>	

*uniflora*) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2015. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.....166

**APENDICE 29:** Quadro da análise de variância referente a porcentagem de polpa do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 21 acessos de pitangueira (*E. uniflora*) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2015. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.....166



## APÊNDICES

**APENDICE 1:** Quadro da análise de variância referente ao número de pólen por antera do experimento número médio de anteras por flor, de grãos de pólen por antera e de pólen por flor, em flores de pitangueira (*E. uniflora*) do acesso pirêico e apirênico. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamento	1	904512.50	904512.50	42.54**
Resíduo	6	127575.00	21262.50	
Total	7	1032087.50		
CV (%)	9.48			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ )

**APENDICE 2:** Quadro da análise de variância referente ao número de pólen por flor do experimento número médio de anteras por flor, de grãos de pólen por antera e de pólen por flor, em flores de pitangueira (*E. uniflora*) do acesso pirêico e apirênico. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamento	1	4967552812.50	4967552812.50	54.42**
Resíduo	6	547704587.00	91284097.83	
Total	7	5515257399.50		
CV (%)	9.80			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ )

**APENDICE 3:** Quadro da análise de variância referente ao número de anteras por flor do experimento número médio de anteras por flor, de grãos de pólen por antera e de pólen por flor, em flores de pitangueira (*E. uniflora*) do acesso pirêico e apirênico. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamento	1	55.65	55.65	86.34**

Resíduo	6	3.87	0.64
Total	7	59.52	
CV (%)	9.80		

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ )

**APENDICE 4:** Quadro da análise de variância referente ao acesso pirênico do experimento germinação in vitro de pólen (%) obtida após 3, 5, 7, 9 e 24 horas de incubação a 25°C, de pitangueira (*E. uniflora*) pirênica e apirênica, coletados de balões florais e flores após a antese. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Fator 1 (F1)	1	7.10	7.10	0.28 <sup>ns</sup>
Fator 2 (F2)	4	3169.64	792.41	31.20**
Int. F1xF2	4	301.84	75.46	2.97*
Tratamento	9	3478.59	386.51	15.22**
Resíduo	30	761.81	25.39	
Total	39	4240.40		
CV (%)	29.26			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

<sup>ns</sup> não significativo ( $p \geq .05$ )

**APENDICE 5:** Quadro da análise de variância referente ao experimento germinação in vitro de pólen (%) obtida após 3, 5, 7, 9 e 24 horas de incubação a 25°C, de pitangueira (*E. uniflora*) pirênica e apirênica, coletados de balões florais e flores após a antese. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Fator 1 (F1)	1	175.73	175.73	18.33**
Fator 2 (F2)	4	895.04	223.76	23.34**
Fator 3 (F3)	1	6220.27	6220.27	648.99**
Int. F1xF2	4	278.85	69.71	7.27**
Int. F1xF3	1	63.39	63.39	6.61*
Int. F2xF3	4	266.56	66.64	6.95**

Int.F1xF2xF3	4	191.92	47.98	5.00**
Tratamento	19	8091.78	425.88	44.43**
Resíduo	60	575.07	9.58	
Total	79	8666.85		
CV (%)	14.39			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

<sup>ns</sup> não significativo ( $p \geq .05$ )

**APENDICE 6:** Quadro da análise de variância referente ao experimento frutificação efetiva (%) em pitangueira (*E. uniflora*) pirênica e apirênica, submetidos a diferentes tratamentos de polinização (T1 – ramos ensacados com TNT; T2 – ensacados com tela anti-afídeo; T3 – polinização livre). UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Fator 1 (F1)	1	1376.94	1376.94	52.49**
Fator 2 (F2)	2	3886.44	1943.22	74.08**
Int. F1xF2	2	942.66	471.33	17.97**
Tratamento	5	6206.05	1241.21	47.32**
Resíduo	18	472.11	26.23	
Total	23	6678.16		
CV (%)	41.20			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

<sup>ns</sup> não significativo ( $p \geq .05$ )

**APENDICE 7:** Quadro da análise de variância referente a massa do fruto do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira (*E. uniflora*) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2012. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamento	21	1451.35	69.11	34.92**
Resíduo	66	130.61	1.98	
Total	87	1581.96		

CV (%)	8.41
--------	------

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ )

**APENDICE 8:** Quadro da análise de variância referente ao diâmetro do fruto do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira (*E. uniflora*) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2012. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamento	21	197.64	9.41	48.41**
Resíduo	66	12.83	0.19	
Total	87	210.47		
CV (%)	3.16			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ )

**APENDICE 9:** Quadro da análise de variância referente a massa da semente do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira (*E. uniflora*) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2012. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamento	21	266.27	12.67	33.32**
Resíduo	66	25.11	0.38	
Total	87	291.38		
CV (%)	11.73			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ )

**APENDICE 10:** Quadro da análise de variância referente ao diâmetro do fruto do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira (*E. uniflora*) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2012. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamento	21	197.67	9.41	48.41**
Resíduo	66	12.83	0.19	
Total	87	210.47		
CV (%)	3.16			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ )

**APENDICE 11:** Quadro da análise de variância referente a massa da semente do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira (*E. uniflora*) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2012. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamento	21	266.27	12.68	33.32**
Resíduo	66	25.11	0.38	
Total	87	291.38		
CV (%)	11.73			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ )

**APENDICE 12:** Quadro da análise de variância referente ao diâmetro da semente do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira (*E. uniflora*) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2012. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
----	----	----	----	---

Tratamento	21	348.16	16.58	8.44**
Resíduo	66	129.69	1.96	
Total	87	477.85		
CV (%)	16.43			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ )

**APENDICE 13:** Quadro da análise de variância referente aos sólidos solúveis totais do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira (*E. uniflora*) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2012. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamento	21	759.67	36.17	29.69**
Resíduo	66	80.41	1.22	
Total	87	840.09		
CV (%)	9.39			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ )

**APENDICE 14:** Quadro da análise de variância referente a massa da polpa do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira (*E. uniflora*) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2012. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamento	21	745.12	35.48	30.81**
Resíduo	66	76.01	1.15	
Total	87	821.13		
CV (%)	9.35			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ )

**APENDICE 15:** Quadro da análise de variância referente a porcentagem de polpa do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira (*E. uniflora*) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2012. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamento	21	5822.36	277.27	38.75**
Resíduo	66	472.20	7.15	
Total	87	6294.57		
CV (%)	3.89			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ )

**APENDICE 16:** Quadro da análise de variância referente a massa do fruto do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira (*E. uniflora*) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2013. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamento	21	1560.87	74.33	28.47**
Resíduo	66	172.29	2.61	
Total	87	1733.16		
CV (%)	9.08			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ )

**APENDICE 17:** Quadro da análise de variância referente ao diâmetro do fruto do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira (*E.*

*uniflora*) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2013. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamento	21	233.69	11.13	26.45**
Resíduo	66	27.76	0.42	
Total	87	261.46		
CV (%)	4.24			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ )

**APENDICE 18:** Quadro da análise de variância referente a massa da semente do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira (*E. uniflora*) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2013. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamento	21	188.11	8.96	24.15**
Resíduo	66	24.48	0.37	
Total	87	212.59		
CV (%)	12.51			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ )

**APENDICE 19:** Quadro da análise de variância referente ao diâmetro da semente do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira (*E. uniflora*) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2013. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamento	21	352.72	16.79	79.99**
Resíduo	66	13.86	0.21	
Total	87	366.58		



CV (%)	5.09
--------	------

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ )

**APENDICE 20:** Quadro da análise de variância referente aos sólidos solúveis totais do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira (*E. uniflora*) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2013. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamento	21	416.98	19.85	29.73**
Resíduo	66	44.08	0.67	
Total	87	461.06		
CV (%)	7.12			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ )

**APENDICE 21:** Quadro da análise de variância referente a massa da polpa do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira (*E. uniflora*) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2013. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamento	21	1055.68	50.27	29.12**
Resíduo	66	113.93	1.73	
Total	87	1169.61		
CV (%)	10.17			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ )

**APENDICE 22:** Quadro da análise de variância referente a porcentagem de polpa do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 22 acessos de pitangueira (*E. uniflora*) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2013. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamento	21	5199.31	247.58	25.96**
Resíduo	66	629.46	9.54	
Total	87	5828.77		
CV (%)	4.27			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ )

**APENDICE 23:** Quadro da análise de variância referente a massa do fruto do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 21 acessos de pitangueira (*E. uniflora*) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2015. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamento	20	1827.33	91.36	33.91**
Resíduo	63	169.73	2.69	
Total	83	1997.06		
CV (%)	11.57			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ )

**APENDICE 24:** Quadro da análise de variância referente ao diâmetro do fruto do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 21 acessos de pitangueira (*E. uniflora*) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2015. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
----	----	----	----	---

Tratamento	20	320.04	16.00	25.71**
Resíduo	63	39.21	0.62	
Total	83	359.25		
CV (%)	5.23			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ )

**APENDICE 25:** Quadro da análise de variância referente a massa da semente do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 21 acessos de pitangueira (*E. uniflora*) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2015. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamento	20	145.97	7.29	19.33**
Resíduo	63	23.78	0.37	
Total	83	169.75		
CV (%)	17.54			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ )

**APENDICE 26:** Quadro da análise de variância referente ao diâmetro da semente do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 21 acessos de pitangueira (*E. uniflora*) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2015. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamento	20	206.68	10.33	28.09**
Resíduo	63	23.18	0.37	
Total	83	229.86		
CV (%)	7.28			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ )

**APENDICE 27:** Quadro da análise de variância referente aos sólidos solúveis totais do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 21 acessos de pitangueira (*E. uniflora*) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2015. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamento	20	267.71	13.38	13.71**
Resíduo	63	61.48	0.97	
Total	83	329.20		
CV (%)	9.24			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ )

**APENDICE 28:** Quadro da análise de variância referente a massa da polpa do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 21 acessos de pitangueira (*E. uniflora*) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2015. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamento	20	1203.19	60.16	29.83**
Resíduo	63	127.06	2.01	
Total	83	1330.25		
CV (%)	13.28			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ )

**APENDICE 29:** Quadro da análise de variância referente a porcentagem de polpa do experimento massa do fruto e da semente, diâmetro do fruto e da semente, sólidos solúveis totais (SST) e massa e porcentagem de polpa, de 21 acessos de pitangueira (*E.*

*uniflora*) da coleção de Fruteiras Nativas da UTFPR, coletados em 2015. UTFPR, Dois Vizinhos – PR, 2017.

FV	GL	SQ	QM	F
Tratamento	20	4011.28	200.56	18.36**
Resíduo	63	688.22	10.92	
Total	83	4699.51		
CV (%)	4.43			

\*\* significativo ao nível de 1% de probabilidade ( $p < .01$ )

\* significativo ao nível de 5% de probabilidade ( $.01 \leq p < .05$ )

ns não significativo ( $p \geq .05$ )