

HELOISA ROCHA DO NASCIMENTO

**VIABILIDADE POLÍNICA E POLINIZAÇÃO CONTROLADA EM MACAÚBA  
(*Acrocomia aculeata*)**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa, como  
parte das exigências do Programa de  
Pós-Graduação em Fitotecnia, para  
obtenção do título de *Magister  
Scientiae*.

VIÇOSA  
MINAS GERAIS – BRASIL  
2015

Ficha catalográfica preparada pela Biblioteca Central da Universidade Federal  
de Viçosa - Campus Viçosa

T

N244v Nascimento, Heloisa Rocha do, 1989-  
2015 Viabilidade polínica e polinização controlada em macaúba  
(*Acrocomia aculeata*) / Heloisa Rocha do Nascimento. - Viçosa, MG,  
2015.

ix, 49f. : il. (algumas color.) ; 29 cm.

Orientador: Leonardo Duarte Pimentel.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.

Inclui bibliografia.

1. Macaúba. 2. Polén. 3. Polinização . I. Universidade Federal de  
Viçosa. Departamento de Fitotecnia. Programa de Pós-graduação em  
Fitotecnia. II. Título.

CDD 22. ed. 633.85

HELOISA ROCHA DO NASCIMENTO

**VIABILIDADE POLÍNICA E POLINIZAÇÃO CONTROLADA EM MACAÚBA  
(*Acrocomia aculeata*)**

Dissertação apresentada à  
Universidade Federal de Viçosa, como  
parte das exigências do Programa de  
Pós-Graduação em Fitotecnia, para  
obtenção do título de *Magister  
Scientiae*.

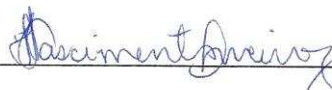
APROVADA: 24 de julho de 2015.



Kacilda Naomi KuKi



Sérgio Yoshimitsu Motoike



Telma Fallieri Nascimento Queiroz



Leonardo Duarte Pimentel

(Orientador)

*Aos meus pais Celia e José, irmão João e  
namorado Ricardo, pelo incentivo,  
orações, paciência e amor.  
Ao meu orientador Leonardo Duarte  
Pimentel e aos professores Sérgio  
Yoshimitsu Motoike e Pedro Crescêncio  
Souza Carneiro.*

**Dedico**

## **AGRADECIMENTOS**

À Universidade Federal de Viçosa (UFV), ao Programa de Pós-Graduação em Fitotecnia, aos funcionários do Banco Germoplasma de Macaúba e do Laboratório de Cultura de Células e Tecidos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo apoio financeiro.

Aos meus orientadores Sérgio Yoshimitsu Motoike e Pedro Crescêncio Souza Carneiro pelos ensinamentos e pela confiança. Serei eternamente grata.

A Kacilda Naomi Kuki pelo incentivo e dedicação.

Aos meus pais, pelo apoio, educação, paciência, amor, orações e exemplo de vida.

Ao meu irmão pelo amor, amizade e incentivo.

Ao namorado Ricardo, pelo amor, companheirismo, incentivo, apoio e ajuda nessa etapa.

A professora Isane Vera Karsburg pelo incentivo à pesquisa e ao apoio durante a graduação.

Aos amigos do grupo REMAPE.

Aos amigos e a todos que de alguma forma contribuíram para realização deste trabalho.

## BIOGRAFIA

HELOISA ROCHA DO NASCIMENTO, filha de José da Guia Pereira do Nascimento e de Celia Cursino da Rocha, nasceu em 26 de dezembro de 1989, em Alta Floresta, Mato Grosso.

Concluiu o 2º grau em 2007, na Escola Estadual Vitória Furlani da Riva, Alta Floresta, Mato Grosso.

Em agosto de 2008, ingressou no Curso de Agronomia da Universidade do Estado de Mato Grosso – UNEMAT, *campus* de Alta Floresta, Mato Grosso, concluindo em fevereiro de 2013.

Em agosto de 2013, ingressou no Curso de Pós-Graduação em Fitotecnia, em nível de Mestrado, na Universidade Federal de Viçosa (UFV), Minas Gerais, concluindo os requisitos necessários à obtenção do título de Magister *Scientiae* em 24 de julho de 2015.

## SUMÁRIO

RESUMO .....	vi
ABSTRACT .....	viii
INTRODUÇÃO GERAL.....	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	5
<b>CAPÍTULO 1</b> .....	9
Armazenamento de pólen e viabilidade polínica da palmeira Macaúba ( <i>Acrocomia Aculeata</i> ).....	9
1. INTRODUÇÃO .....	11
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	12
2.1 Teste Germinativo .....	14
2.2 Delineamento Experimental.....	14
3. RESULTADOS .....	15
3.1 Porcentagem de germinação de grão de pólen sem desidratação submetidos ao armazenamento .....	16
3.2 Porcentagem de germinação de grão de pólen no experimento com desidratação submetidos ao armazenamento .....	19
3.3 Médias ajustadas (%) para acesso e ambiente em análise conjunta entre os experimentos com desidratação e sem desidratação.....	23
4. DISCUSSÃO .....	24
5. CONCLUSÕES .....	27
6. AGRADECIMENTOS .....	27
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	28
<b>CAPÍTULO 2</b> .....	32
Metodologia de polinização controlada para palmeira Macaúba ( <i>Acrocomia Aculeata</i> ).....	32
1. INTRODUÇÃO .....	35
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	36
2.1 Local de estudo e material vegetal .....	36
2.2 Coleta de pólen e mistura polinizadora.....	37
2.3 Polinização controlada.....	38
2.4 Avaliação .....	39
3. RESULTADOS .....	40
4. DISCUSSÃO .....	42
5. CONCLUSÕES .....	44
6. AGRADECIMENTOS .....	44
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	44
CONCLUSÕES GERAIS .....	49

## RESUMO

NASCIMENTO, Heloisa Rocha do, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, julho de 2015. **Viabilidade polínica e polinização controlada em macaúba (*Acrocomia aculeata*)**. Orientador: Leonardo Duarte Pimentel.

A macaúba (*Acrocomia aculeata*) vem se destacando devido ao elevado potencial para produção de óleo e a adaptação a condições adversas. Entretanto, é uma espécie silvestre e ainda se encontra em processo de domesticação. Logo, é necessário estudo para conservação e uso de pólen visando à realização de cruzamentos controlados nos programas de melhoramento. Objetivou-se com este trabalho avaliar os efeitos da variação da umidade e temperatura em grãos de pólen armazenados e adaptar metodologia de polinização controlada, através do uso de diferentes doses de pólen e do agente dispersor (talco) para macaúba. Para isto, foram realizados dois experimentos: 1) Avaliação da viabilidade polínica ao longo do armazenamento: Grãos de pólen foram coletados em cinco acessos de macaúba no Banco de Germoplasma de Macaúba da Universidade Federal de Viçosa (BAG Macaúba-UFV). Este material foi armazenado nas seguintes temperaturas: temperatura ambiente (26 °C), geladeira (4 °C), freezer (-20 °C), ultra freezer (-80 °C), com e sem desidratação. A avaliação da viabilidade polínica foi realizada a cada 30 dias no decorrer de 12 meses com o teste germinativo em meio de cultura sólido com pH 6,5. 2) Adaptação de metodologia de polinização controlada: Espatas florais, de um acesso de macaúba do BAG Macaúba-UFV (BGP 11.5) foram isoladas e monitoradas até a sua abertura. Este isolamento foi realizado com auxílio de um saco confeccionado por tecido failete contendo uma parte transparente para viabilizar o monitoramento da abertura floral. Na abertura das inflorescências, a polinização foi realizada imediatamente, com o pólen do doador BGP 53, armazenado em geladeira (4 °C), em diferentes proporções: 5 %, 10 %, 15 % e 20 % de pólen, acrescidos de 3 g de talco aplicadas com auxílio de um dispositivo aplicador. Após três dias da polinização, o saco protetor foi removido. A avaliação da taxa de polinização foi realizada com a contagem dos frutos por cacho polinizado.

Como resultados, observou-se que: 1) Avaliação da viabilidade polínica ao longo do armazenamento apresentou uma taxa média de polinização de 25 % de germinação, sem a utilização da sílica gel, armazenado em geladeira a 4 °C. Verificou-se também, que o pólen do acesso BGP 11.5, apresentou maiores taxa de viabilidade durante o processo de armazenamento em diferentes ambiente. 2) Adaptação de metodologia de polinização controlada apresentou eficácia para que não ocorresse contaminação do material por insetos e, a maior proporção de pólen utilizada garantiu maior pegamento de frutos. Conclui-se que a dessecação não influenciou na manutenção da viabilidade polínica ao longo do armazenamento. O armazenamento do grão de pólen a temperatura de 4 °C foi adequada para manter a viabilidade do grão de pólen por até 180 dias. A proteção da espata com o saco failite associada à polinização utilizando 3g talco com 20 % de pólen foi adequado para realizar a polinização controlada em macaúba garantindo alta taxa de frutificação.

## ABSTRACT

NASCIMENTO, Heloisa Rocha do, M.Sc., Universidade Federal de Viçosa, July, 2015. **Pollen viability and pollination controlled macaw palm (*Acrocomia aculeata*)**. Adviser: Leonardo Duarte Pimentel.

The macaw palm (*Acrocomia aculeata*) has stood out due to the high potential for oil production and adaptation to adverse conditions. However, it is a wild species and is still in the domestication process. It is therefore necessary to study conservation and use of pollen for the realization of controlled crosses in breeding programs. The objective of this study was to evaluate the effects of the variation of humidity and temperature in stored pollen grains and adapt controlled pollination methodology through the use of different doses of pollen and the dispersal agent (talc) to macaw palm. For this, two experiments were conducted: 1) Pollen viability assessment during storage: Pollen grains were collected in five macaw palm hits on Germplasm Bank of Macaw palm the University Federal of Viçosa (BAG Macaw palm - UFV). This material was stored at the following temperatures: room temperature (26 °C) refrigerator (4 °C) freezer (-20 °C), ultra freezer (-80 °C) with and without dehydration. Evaluation of pollen viability was performed every 30 days during 12 months with the germination test on solid medium at pH 6.5. 2) Controlled pollination methodology Adaptation: Floral spathes, a macaw palm access the BAG macaw palm-UFV (BGP 11.5) were isolated and monitored until its opening. This isolation was carried out with the aid of a bag made of fabric failete containing a transparent part to enable the monitoring of flower opening. At the opening of inflorescences, pollination was performed immediately, with pollen BGP donor 53, stored in the refrigerator (4 °C) at different proportions of 5%, 10%, 15% and 20% of pollen plus 3 g talc applied with the aid of an applicator device. After three days of pollination, the protective sac was removed. A review of pollination rate was performed by counting pollinated fruits per cluster. As a result, it was observed that: 1) Evaluation of pollen viability during storage showed an average rate of pollination 25% germination, without the use of silica gel, stored in the refrigerator at 4 °C. It was also found that the BGP access

pollen 11.5, showed the highest rate of viability during storage at different process environment. 2) Controlled pollination methodology adaptation presented effectively so that did not occur contamination of the material by insects, and the highest proportion of pollen used ensured greater fruit set. In conclusion, desiccation did not affect the maintenance of pollen viability during storage. The storage temperature pollen grain of 4 °C was adequate to maintain the viability of the pollen grain up to 180 days. The protection of the spathe with failete bag associated with pollination using 3g talc with 20% of pollen was adequate to carry out pollination controlled macaw palm ensuring high rate of fruiting.

## INTRODUÇÃO GERAL

A palmeira macaúba (*Acrocomia aculeata*) se destaca entre as oleaginosas para produção de biocombustíveis (RIBEIRO et al., 2010). Esta planta apresenta rusticidade e adaptabilidade às condições tropicais, alta percentagem de óleos dos frutos (20-25%) e elevada produtividade de óleo (3000-6000 Kg/ha), similar a cultura do dendê (*Elaeis guineenses*), além de apresentar potencial para utilização em plantios em pastagens degradadas e consórcios, proporcionando serviços ambientais (TEIXEIRA, 2005; MOURA, 2007; MOTOIKE et al., 2009). Agregam-se a isso as muitas possibilidades de uso da biomassa resultante da extração do óleo, pelos setores alimentícios, farmacêutico e energético, colocando a macaúba em uma posição privilegiada de sustentabilidade quando comparada a outras culturas energéticas.

De ocorrência em grande parte do território brasileiro, esta palmeira arbórea apresenta caracteristicamente estipe único recoberto por espinhos. Suas inflorescências interfoliares são longas espadas recobertas por uma bráctea rígida e pilosa que, quando madura, se abre longitudinalmente expondo a raquis floral, especialmente durante a estação chuvosa. As ráquias são dioicas, apresentando flores femininas e masculinas nas porções proximal e distal, respectivamente, com amadurecimento sequencial do tipo protoginia. Mesmo ocorrendo a protoginia, a espécie apresenta autocompatibilidade, ocorrendo há sobreposição temporal de flores masculinas e femininas maduras, em parte devido à produção e abertura assíncrona das inflorescências num mesmo indivíduo (SCARIOT et al., 1991).

Apesar de promissora, a inserção da macaúba como cultura oleaginosa requer a junção de diversas informações acerca de sua genética, exigências nutricionais, fisiologia, fenologia, etc. Conhecimentos que são necessários para direcionar os programas de melhoramento da palmeira, uma vez que está se encontra ainda em estado selvagem (MOURA, 2007; FARIAS, 2010; MONTOYA, 2013). Os programas de melhoramento genético têm como objetivo a obtenção de cultivares com características desejáveis,

disponibilizando genótipos superiores para os testes de progênies e posteriormente para os plantios comerciais (TECHIO et al.; 2006).

A polinização controlada é amplamente utilizada em programas de melhoramento de diversas espécies vegetais. O seu uso vem trazendo vários benefícios, especialmente em relação ao tamanho e qualidade dos frutos, estabilização da produção, variabilidade genética das culturas, contribuindo para resistência às doenças e às mudanças ambientais (CLASSEN et al., 2014). Entretanto, para que esta ferramenta de melhoramento seja efetiva, é necessário prévio conhecimento das características referentes à biologia floral da espécie-alvo, como: fenologia da floração, sistema de cruzamento, compatibilidade entre plantas progenitoras, viabilidade do pólen, susceptibilidade do pólen a condições de armazenamento, etc (BRITO 2013).

Observações em campo revelam que a macaúba apresenta grande diversidade fenotípica, inclusive em relação às características reprodutivas. Estudos recentes comprovam que a variabilidade também se estende ao caráter genético, sendo que a espécie apresenta elevada diversidade genética, tanto em indivíduos quanto em populações (PIMENTEL et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2012; LANES, et al., 2014; FEKADU, et al., 2015).

A floração da macaúba ocorre principalmente no período chuvoso (outubro-março). A sua polinização cruzada é realizada preferencialmente por coleópteros das famílias Curculionidae, Nitidulinedae e Scarabaedae (SCARIOT et al., 1991) e a anemofilia ocorre em menor proporção. Observações de campo indicam que após a fertilização, o desenvolvimento dos frutos até a abscisão natural ultrapassa o período de 12 meses (MONTROYA, 2013).

Para que a polinização controlada seja realizada, o estudo sobre a conservação do pólen é de extrema importância para o intercâmbio e preservação de Germoplasma, e as condições de armazenamento devem garantir a preservação da viabilidade polínica, sendo necessário o monitoramento antes, durante e depois do armazenamento. Com isto, pode ser estabelecido o período máximo de armazenamento sem que a capacidade germinativa e o potencial fertilizador do pólen sejam comprometidos, (HANNA, 1994; EINHARDT, 2006; FERES, 2009;

DAMASCENO JUNIOR et al., 2008). Este estudo é especialmente relevante quando a espécie em questão apresenta longos intervalos entre os episódios de floração. No entanto, sabe-se que o armazenamento do grão de pólen pode afetar o crescimento do tubo polínico em função da temperatura e o desempenho dos genótipos, podendo atuar como um agente de seleção. Este fato foi relatado para *Cocos nucifera*, em que a sensibilidade do pólen à temperatura de armazenamento é dependente do acesso genético (HEDHLY et al., 2004; MACHADO et al., 2014).

Uma das formas de se testar a viabilidade do grão de pólen é o armazenamento em condições artificiais, e antes que o mesmo seja aplicado em testes de cruzamento controlado, a viabilidade do grão de pólen pode ser verificada pelo o método direto, através do teste de germinação *in vitro*. Neste teste, rápido e barato, o pólen é induzido a germinar em meio de cultura apropriado, tendo o crescimento do tubo polínico como indicador. (FERREIRA et al., 2007; PIO et al., 2007). A quantidade de grãos de pólen viável tem demonstrado resultados satisfatórios, quando apresentam maior compatibilidade com o estigma, resultando na competição para fecundação do óvulo e, conseqüentemente, aumento da frutificação e na produção de sementes (FREITAS, 1997; NASCIMENTO et al., 2011).

Juntamente com a determinação das melhores condições de armazenamento do grão de pólen, uma segunda investigação igualmente importante nos programas de melhoramento é o da polinização cruzada. Estabelecer os padrões de polinização e as metodologias mais eficazes para o processo é fundamental para o direcionamento dos testes de cruzamento bem como para o sucesso da produção de frutos.

O período mais crítico para o vegetal é a fase reprodutiva devido as variações ambientais, como a temperatura, umidade, fotoperíodo, polinizadores e dispersores, podem estar relacionados às variações na floração e frutificação (FISCH, 2000).

Apesar de sua relevância nos programas de melhoramento, o sucesso da polinização controlada, é também dependente dos mesmos fatores ambientais críticos à reprodução natural (FISCH, 2000), como: temperatura, umidade, fotoperíodo, disponibilidade de polinizadores e dispersores. Segundo Losada et al. (2014), o crescimento do tubo polínico em várias

espécies, é dependente da temperatura. À exemplo, de que em baixas temperaturas em campo, afetam diretamente o crescimento do tubo polínico, tornando-o lento, e dificultando fertilização ou mesmo provocando aborto do embrião, enquanto que as temperaturas elevadas podem desidratar a superfície do estigma e não permitir a germinação do grão de pólen (MOREIRA, 2008; CRASSWELLER, 2015).

Considerando exposto, objetivou-se com este trabalho estudar a conservação de pólen e a polinização controlada de *Acrocomia aculeata*, visando subsidiar os programas de melhoramento e a conservação de recursos genéticos da espécie.

Como objetivos específicos, objetivou-se ou avaliar: 1) a viabilidade de amostras de pólen proveniente de diferentes acessos e armazenados em diferentes temperaturas e condições de umidade durante um ano; e 2) metodologia de polinização controlada, através do uso de doses diferenciadas de pólen e agente dispersor.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

BRITO, A.C. **Biologia reprodutiva de Macaúba: Floração, Polinizadores, Frutificação e Conservação de Pólen**. Viçosa, 2013, 47f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

CLASSEN, A.; PETERS, M.K.; FERGER, S.W.; HELBIG-BONITZ, M.; SCHMACK, J.M.; MAASSEN, G.; SCHLEUNING, M.; KALKO, E.K.V.; BOHNING-GAESE, K.; STEFFAN-DEWENTER, I. Complementary ecosystem services provided by pest predators and pollinators increase quantity and quality of coffee yields. **Proceedings The Royal Society publishing**, v.281, 2014.

CRASSWELLER, R. **Pollination requirements for various fruits and nuts**. Disponível em:

<[http://horticulture.psu.edu/files/hort/extension/Pollination\\_requirements\\_for\\_various\\_fruits\\_nuts.pdf](http://horticulture.psu.edu/files/hort/extension/Pollination_requirements_for_various_fruits_nuts.pdf)>. Acesso: 02 de julho de 2015.

DAMASCENO JUNIOR, P.C.; PEREIRA, T.N.S.; PEREIRA, M.G.; SILVA, F.F. Conservação de pólen de mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Ceres**. n.55, v.5, p.433-438, 2008.

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

FARIAS, T.M. **Biometria e processamento dos frutos da macaúba (*Acrocomia* sp) para a produção de óleos**. Belo Horizonte, 2010, 108f. Dissertação (Mestrado em Engenharia Química), Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2010.

FEKADU, G.M.; MOTOIKE, S.Y.; CAIXETA, E.T.; CRUZ, C.D.; KUKI, K.N. Cross-species amplification and characterization of new microsatellite markers for the macaw palm, *Acrocomia aculeata* (Arecaceae). **Plant Genetic Resources**, p.1-10, 2015. Disponível em CJO2015. doi:10.1017/S1479262115000179.

FERES, J.M. **Diversidade genética, sistema reprodutivo e fluxo de pólen em duas populações de *Tabebuia roseo-alba* (Ridl.) Sand.:** Implicações para a conservação. Ribeirão Preto, 2009, 142f. Dissertação (Mestrado em Ciências Biológicas) – Universidade de São Paulo, 2009.

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

FISCH, S.T.V.; JUNIOR, L.R.N.; MANTOVANI, W. Fenologia reprodutiva de *Euterpe edulis* Mart. Na mata atlântica (Reserva ecológica do Trabiçu, Pindamonhangaba – sp). **Revista Biociência**, v.6, n.2, p.31-37, 2000.

FREITAS, B.M. Changes with time in the germinability of cashew (*Anacardium occidentale*) pollen grains found on different body areas of its pollinator bees. **Revista Brasileira Biologia**, v.57, n.2, p.289-294, 1997.

HANNA, W.N. Pollen storage in frostless and conventional frost-forming freezers. **Crop Science**, v.34, p.1681-1682, 1994.

HEDHLY, A.; HORMAZA, J.I.; HERRERO, M. Effect of temperature on pollen tube kinetics and dynamics in sweet cherry, *Prunus avium* (Rosaceae). **American Journal of Botany**, v.91, n.4, p 558–564, 2004.

LANES, E.C.M., MOTOIKE, S.Y., KUKI, K.N., NICK, C., FREITAS, R.D. Molecular characterization and population structure of the macaw palm, *Acrocomia aculeata* (Arecaceae), *ex situ* germplasm collection using microsatellites markers. **Journal of Heredity**, v.106, n.1, p.102–112, 2014.

LOSADA, J.M; HERRERO, M. Glycoprotein composition along the pistil of *Malus x domestica* and the modulation of pollen tube growth. **BMC Plant Biology**, v.14, n.1, p.1-14, 2014.

MACHADO, C.A.; MOURA, C.R.F.; LEMOS, E.E.P.; RAMOS, S.R.R.; RIBEIRO, F.E.; LÉDO, A.S. Pollen grain viability of coconut accessions at low temperatures. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.36, n.2, p. 227-232, 2014.

MONTOYA, S.G. **Caracterização do Desenvolvimento do Fruto da Palmeira Macaúba**. Viçosa, 2013, 62f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

MOREIRA, P.Q. **Polinização e vingamento de ameixeira japonesa (*Prunus salicina* Lindl.). Avaliação da colocação sequencial de colmeias e de um bioestimulante**. Lisboa, 2008, 69f. Dissertação (Mestre em Engenharia Agrônômica).

MOTOIKE, S.; KUKI, K.N. The potential of macaw palm (*Acrocomia aculeata*) as source of biodiesel in Brazil. **International Review of Chemical Engineering**, v.1, p.632-635, 2009.

MOURA, E.F. **Embriogênese somática em macaúba: indução, regeneração e caracterização anatômica**. Viçosa, 2007, 66f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

NASCIMENTO, W.M; LIMA, G.P.; CARMONA, R. Influência da quantidade de pólen na produção e qualidade de sementes híbridas de abóbora. **Horticultura Brasileira**, v.29, n.1, p.21-25, 2011.

OLIVEIRA, D.A.; MELO JÚNIOR, A.F.; BRANDÃO, M.M.; RODRIGUES, L.A.; MENEZES, E.V.; FERREIRA, P.R.B. Genetic diversity in populations of *Acrocomia aculeata* (Arecaceae) in the northern region of Minas Gerais, Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v.11, p.531-538, 2012.

PIMENTEL, L.D.; DIAS, L.A.S.; PAES, J.M.V.; SATO, A.Y.; MOTOIKE, S.Y. Diversidade no gênero *Acrocomia* e proposta de subdivisão da espécie *Acrocomia aculeata*. **Informe agropecuário EPAMIG**, v.32, p.81-87, 2011.

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

RIBEIRO, L.M.; GARCIA, Q.S.; OLIVEIRA, D.M.T.; NEVES, S.C. Critérios para o teste de tetrazólio na estimativa do potencial germinativo em macaúba. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.45, n.4, p.361-368, 2010.

SCARIOT, A.; LIERAS, E.; HAY, J.D. Reproductive Biology of the Palm *Acrocomia aculeata* in Central Brazil. **Biotropica**, v.23, n.1, p.12-22, 1991.

TECHIO, V.H.; DAVIDE, L.C.; PEDROZO, C.A.; PEREIRA, A.V. Viabilidade dos grãos de pólen de acessos de capim-elefante, milho e híbridos interespecíficos (capim-elefante x milho). **Revista Acta Scientia Biologica**, v.28, n.1, p.7-12, 2006.

TEIXEIRA, L.C. Potencialidades de oleaginosas para produção de biodiesel. **Informe agropecuário**, v.26, p.18-27, 2005.

## CAPITULO 1

### Armazenamento de pólen e viabilidade polínica da palmeira Macaúba (*Acrocomia Aculeata*)

#### RESUMO

A macaúba apresenta potencial para produção de biocombustíveis, porém, é necessário a domesticação e melhoramento genético através da seleção de genótipos e cruzamentos controlados. O presente estudo teve como objetivo avaliar os efeitos das diferentes condições de umidade e temperatura provenientes de diferentes acessos da palmeira macaúba (*Acrocomia aculeata*) armazenadas em diferentes ambientes. O pólen foi armazenado em 4 temperaturas distintas: temperatura ambiente (26 °C), geladeira (4 °C), freezer (-20 °C), ultra freezer (-80 °C), na presença e ausência de desidratação constituindo experimentos distintos. Os dois experimentos (sem desidratação e com desidratação) foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado em ensaio fatorial 5x4x12 (05 acessos, 04 ambientes e 12 avaliações). As avaliações de viabilidade polínica foram realizadas a cada 30 dias no decorrer de 12 meses através do teste germinativo em meio de cultura sólido com pH 6,5. Houve diferença entre os acessos estudados, sendo o acesso BGP 11.5 o que apresentou maior viabilidade no decorrer do processo. Os resultados indicam que os pólenes da palmeira macaúba mantem sua viabilidade por 180 dias em geladeira independente da presença do agente desidratante sílica gel.

**Palavras-chave:** Floração, germinação *in vitro*, grão-de-pólen, tubo polínico.

## **Storage and pollen viability of Macaw palm (*Acrocomia Aculeata*)**

### **ABSTRACT**

The macaw palm shows potential for production of biofuels, however, domestication and genetic improvement is required through the selection of genotypes and controlled crossings. This study aimed to evaluate the effects of different temperature and humidity conditions from different accessions of macaw palm (*Acrocomia aculeata*) stored in different environments. Pollen was stored at 4 different temperatures: ambient temperature (26 °C), refrigerator (4 °C), freezer (-20 °C), ultra freezer (-80 °C) in the presence and absence of dehydration constituting separate experiments. The two experiments (without dehydration and dehydration) was a completely randomized design in factorial trial 5x4x12 (05 hits, 04 environments and 12 reviews). Evaluations of pollen viability were carried out every 30 days during 12 months through the germination test on solid medium with pH 6.5. There were differences among accessions, and the BGP 11.5 Access presented the highest viability in the process. The results indicate that the pollen of macaw palm maintains its viability for 180 days in refrigerator independent of the presence of silica gel desiccant agent.

**Key words:** Flowering, *in vitro* germination, pollen grain, pollen tube.

## 1. INTRODUÇÃO

A palmeira macaúba (*Acrocomia aculeata*) vem despertando o interesse de governos e da comunidade científica quanto ao seu potencial de uso como biocombustíveis (LANES et al., 2014) bem como nos setores alimentício, farmacêutico e energético. Este interesse tem como base a rusticidade e a elevada produtividade obtida de frutos com alto percentual de óleos (MOTOIKE et al., 2009). Apesar do seu potencial promissor, é necessária a obtenção de cultivares de macaúba com características desejáveis para os plantios comerciais, a partir da seleção de genótipos e cruzamentos controlados (TECHIO et al., 2006).

Para o controle adequado dos cruzamentos é de fundamental importância a disponibilidade de pólen nos períodos corretos do ciclo reprodutivo de cada espécie em teste. Entretanto, muitas vezes isso não é possível em decorrência da assincronia fenológica dos ecotipos ou acessos. Neste sentido, os programas de melhoramento devem recorrer à coleta e armazenamento sistemáticos do pólen destinados aos cruzamentos assistidos. Por sua vez, as condições de armazenamento devem garantir a viabilidade polínica, sendo necessárias avaliações para que se estabeleçam as condições microambientais e o período máximo de armazenamento sem que ocorra a perda da capacidade germinativa e o potencial fertilizador do pólen (EINHARDT, 2006; DAMASCENO JUNIOR et al., 2008; FERES, 2009). Isto é especialmente relevante quando a espécie apresenta longos intervalos entre florações, como observado para a macaúba (MONTROYA, 2013).

O armazenamento de grão de pólen possibilita o intercâmbio de material e os cruzamentos controlados entre diferentes acessos, possibilitando a combinação entre alelos favoráveis, principalmente a recombinação entre espécies alógamas (GOMES et al., 2003; CARDOSO, 2007).

Condições de armazenamento onde há predominância de baixas temperaturas e baixa umidade do grão de pólen, para a maioria das espécies, contribuem para a manutenção da viabilidade polínica, pois, ambas as situações permitem a redução da atividade metabólica do pólen e

de possíveis micro-organismos patogênicos (PIO 2004). Porém, o desenvolvimento do tubo polínico pode ser afetado pela temperatura de armazenamento, devido a diferença na susceptibilidade entre genótipos, podendo atuar como um agente seletor (HEDHLY et al., 2004).

A conservação da viabilidade do grão de pólen pode ser assegurada quando o mesmo se encontra desidratado. A redução prévia do conteúdo de água diminui a formação de cristais de gelo intracelular, que se formam a baixas temperaturas, ocasionando o rompimento das células e afetando diretamente a viabilidade do grão de pólen (FRANÇA et al.; 2010). A umidade do pólen pode ser reduzida em até 20%, quando os mesmos são expostos a sílica-gel (DAVIDE, 2009). Porém, a efetividade da sílica pode variar. Em estudo realizado com armazenamento de pólen de laranja, verificou-se melhores resultados para armazenamento em freezer (-18 °C) quando o pólen foi acondicionado em dessecador, com ou sem sílica gel (PIO et al.; 2007).

A viabilidade do grão de pólen pode ser averiguada por métodos diretos. Dentre os métodos diretos o mais comumente empregado é a indução da germinação *in vitro* (PIO et al., 2007) na qual são simuladas as condições de germinação do tubo polínico, em meio de cultura específico para cada espécie (FERREIRA et al., 2007). Até o momento, existem poucos estudos relacionados à viabilidade polínica da macaúba em diferentes condições de armazenamento.

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo avaliar a viabilidade de amostras de pólen proveniente de diferentes acessos armazenados em diferentes temperaturas e condições de umidade durante um ano.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

A coleta do pólen de macaúba foi realizada no Banco Germoplasma de Macaúba da Universidade Federal de Viçosa - UFV (BAG-MACAUBA / CEGEN nº 084/2013), localizado no município de Araponga, Minas Gerais, apresentando as coordenadas geográficas de 20°40'1" S 42° 31'15" W, com altitude de 806 a 810 m e predominância climática Cwa, segundo a

classificação de Köppen, durante o período de floração de agosto a dezembro de 2013.

O material foi coletado de cinco acessos oriundos de diferentes regiões (municípios) de Minas Gerais identificados com o número dos acessos e das plantas utilizadas: 1) BGP 5.1 (Barroso), 2) BGP 11.5 (Itabirito), 3) BGP 15 (Barroso), 4) BGP 22.1 (Abaeté) e 5) BGP 48.3 (Mateus Leme). No decorrer da floração de cada acesso, monitorou-se a emissão das espatas florais até sua abertura. Após vinte quatro horas da abertura da espata, as ráquias florais foram coletadas, envoltas em papel toalha, acondicionadas em bandejas e encaminhadas ao Laboratório de Cultura de Tecidos, no setor de Fruticultura da Universidade Federal de Viçosa - UFV. Após a antese das flores estaminadas a retirada do pólen foi realizada manualmente com auxílio de pincel. As raquis florais que apresentavam flores masculinas fechadas foram mantidas em recipiente com água para que a antese se completasse. Após a separação das impurezas, por meio de uma peneira de malha fina, foram pesadas amostras do pólen de 30 mg, em balança de alta precisão (Denver Instrument APX com capacidade máxima para 200 g), e acondicionadas em tubos criogênicos.

As unidades (tubos criogênicos) foram submetidas a dois ensaios experimentais independentes em relação a condição de umidade da amostra polínica: sem desidratação e com desidratação. No experimento sem desidratação, foi acrescentado no tubo criogênico somente a amostra de grão de pólen, mantendo-se a umidade natural; já no experimento com desidratação, foi adicionado 0,5 mg de sílica gel, separado do pólen por uma pequena porção de algodão e levado a vácuo. O processo do preparo do grão de pólen para o posterior armazenamento em temperatura controlada durou cerca de 8 horas. Em ambos os experimentos as amostras foram igualmente armazenadas em quatro ambientes com temperatura distinta: temperatura ambiente (26° C); geladeira (4° C); freezer (-20° C); e ultra freezer (-80° C).

Cada modalidade com desidratação e sem desidratação foram constituídas de experimentos distintos.

## 2.1 Teste Germinativo

A longevidade / viabilidade do pólen nas unidades foi avaliada como a seguir.

A cada trinta dias, no decorrer de doze meses, verificou-se a viabilidade polínica das amostras, através do teste germinativo. O meio de cultura para germinação do tubo polínico era preparado a cada nova averiguação. O meio de cultura apresentava a composição sugerida por BREWBAKER e KWAK (1963) de 100 g L<sup>-1</sup> de sacarose; 100 mg L<sup>-1</sup> de KNO<sub>3</sub>; 200 mg L<sup>-1</sup> de MgSO<sub>4</sub> (7H<sub>2</sub>O); 100 mg L<sup>-1</sup> H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>; 300 mg L<sup>-1</sup> de Ca (NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> 4(H<sub>2</sub>O); 10 g L<sup>-1</sup> de ágar com pH 6,5 estabelecida por BRITO (2013) como a mais adequada para a macaúba.

Com uma pipeta Pasteur, o meio de cultura foi distribuído sobre as lâminas escavadas e, após o resfriamento em temperatura ambiente, o grão de pólen foi aspergido, com auxílio de um pincel, sobre a superfície solidificada do meio de cultura. Em seguida, as lâminas foram acondicionadas em placas de Petri, previamente revestidas com papel filtro umedecidos com água, simulando uma câmara úmida e, mantidas em temperatura ambiente. As avaliações da germinação *in vitro* foram realizadas após doze horas da inoculação do pólen, sendo considerado viável o grão de pólen que apresentava crescimento do tubo polínico igual ou superior ao diâmetro do próprio pólen (ZHANG et al., 1997). O resultado foi expresso pela porcentagem de grãos de pólen germinados.

As observações foram realizadas em microscópio de luz com objetiva de 100X (Olympus CX31) e contagem de 200 grãos de pólen por lâmina com três repetições.

## 2.2 Delineamento Experimental

Os dois experimentos (sem desidratação e com desidratação) foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado em ensaio fatorial 5x4x12 (05 acessos, 04 ambientes e 12 avaliações). O modelo matemático utilizado foi:

$$Y_{ijk} = G_i + T_j + A_k + GT_{ij} + GA_{ik} + TA_{jk} + GTA_{ijk} + e_{ijkl}$$

Em que:

$Y_{ijk}$  = viabilidade (%) observada;

$G_i$  = efeito do acesso (genótipo)  $i$ ;

$T_j$  = efeito do ambiente (temperatura)  $j$ ;

$A_k$  = efeito da avaliação  $k$ ;

$GT_{ij}$  = interação acesso \* ambiente;

$GA_{ik}$  = interação acesso \* avaliação;

$TA_{jk}$  = interação ambiente \* avaliação;

$GTA_{ijk}$  = interação tripla;

$e_{ijkl}$  = erro aleatório.

Os dados experimentais foram submetidos aos testes de Shapiro-Wilk e Bartlett ( $P > 0,05$ ) para verificação da normalidade e homocedasticidade residuais, respectivamente. Posteriormente, realizado à transformação arco-seno, as análises estatísticas foram realizadas no programa SAS (2002) e avaliados por análise de variância. As médias foram ajustadas para os efeitos de interação pelo método de Tukey-Kramer e comparadas pelo teste  $t$ .

Para a análise da viabilidade dos acessos, dentro de cada ambiente, ao longo do período de avaliação, foi realizada análise de regressão linear. O nível de significância adotado foi  $\alpha = 0,05$ .

Realizou-se também, uma análise conjunta, fazendo comparações entre os experimentos com desidratação e controle, verificando se houve ou não diferença no decorrer do armazenamento.

### **3. RESULTADOS**

Para o armazenamento de pólen em relação as porcentagens de germinação in vitro, verificou-se significância entre os experimentos com e sem desidratação ( $P \leq 0,01$ ), perante a análise de variância (Tabela 1). Isto indica, que os experimentos com e sem desidratação apresentaram significâncias nas interações entre as fontes de variações estudadas.

**Tabela 1.** Resumo da análise de variância em quadrados médios em função das porcentagens de germinação in vitro dos experimentos controle e desidratação a cada 30 dias de avaliação no decorrer de 12 meses de macaúba.

FV	GL	Sem desidratação		Com Desidratação	
		QM	P-valor	QM	P-valor
Acesso (Ac)	4	0,5616	< 0,01	0,7703	< 0,01
Avaliação (Av)	11	2,5778	< 0,01	2,6117	< 0,01
Ambiente (Am)	3	8,0477	< 0,01	6,6358	< 0,01
Ac x Av	44	0,0236	< 0,01	0,0208	< 0,01
Ac x Am	12	0,1627	< 0,01	0,1061	< 0,01
Av x Am	33	0,1889	< 0,01	0,1061	< 0,01
Resíduo	612	0,00367718		0,00334825	
Total	719				
CV %	17,30131	16,9775			

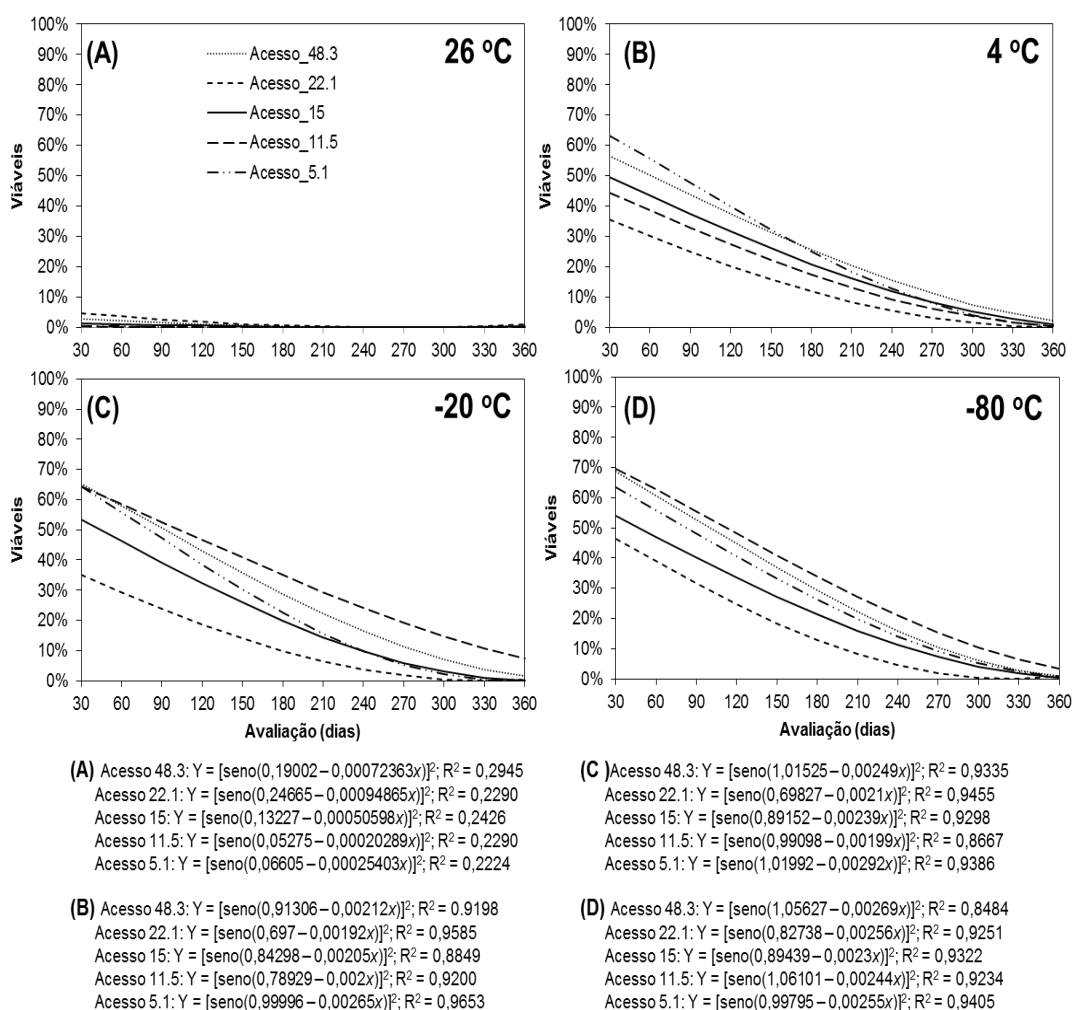
### 3.1 Porcentagem de germinação de grão de pólen sem desidratação submetidos ao armazenamento

Pode ser verificado em todos os ambientes (temperatura e armazenamento) utilizados que a viabilidade polínica decresceu linearmente ( $P \leq 0,01$ ) no decorrer do tempo de armazenamento para todos os acessos no tratamento controle. Entretanto, a perda da viabilidade foi distinta entre os acessos armazenados (Figura 1).

No armazenamento a temperatura de 26 °C de todos os acessos utilizados apresentaram uma perda da viabilidade polínica precoce, já aos 30 dias (Figura 1 A).

Na temperatura a 4 °C, o armazenamento aos 30 dias, foi semelhante para os acessos BGP 5.1, BGP 48.3, BGP 11.5 e BGP 15, com o vigor germinativo variando de 45 % a 62 % e o acesso 22.1 apresentou 35 %. No intervalo de 60 a 120 dias, os acessos BGP 5.1, BGP 48.3, BGP 11.5 e BGP 15, seguirão uma tendência semelhante variando de 40 % a 60 %. Em contrapartida, o acesso BGP 22.1, apresentou viabilidade variando de 30 % a 20 %. Aos 150 e 180 dias, os acessos BGP 5.1, BGP 48.3, BGP 11.5 e BGP 15, variaram de 40 % a 35 % e, o acesso BGP 22.1, variou de 20 % a 15 %. Aos 210 dias todos os acessos apresentaram uma tendência variando

de 15 % a 35 %, chegando a aproximadamente 0 % aos 360 dias de armazenamento (Figura 1 B).



**Figura 1.** Porcentagens de germinação *in vitro* de pólen de *A. aculeata* no experimento sem desidratação em função do ambiente, acesso e avaliação no decorrer de 360 dias.

No ambiente de armazenamento a -20 °C, os acessos BGP 5.1, BGP 48.3, BGP 11.5, aos 30 dias apresentaram vigor germinativo de 65 % e, os acessos BGP 22.1 e BGP 15 apresentaram 35 % e 52 %. Aos 60 e 120 dias de armazenamento os acessos BGP 5.1, BGP 48.3, BGP 11.5, variaram de 55 % a 50 %. Já o acesso BGP 22.1 apresentou variação de 30 % a 25 % e, o acesso BGP 15, variou de 40 % a 35 %.

Os acessos BGP 5.1, BGP 48.3, BGP 11.5, no período de 150 a 180 dias, variaram de 40 % a 35 % e, os acessos BGP 15 e BGP 22.1 apresentaram variação de 40 % a 10 % de viabilidade polínica. A partir dos

210 dias, seguiram uma tendência linear semelhante, chegando a aproximadamente 0 % aos 360 dias (Figura 1 C).

Na temperatura de -80 °C, os acessos BGP 5.1, BGP 48.3, BGP 11.5, foram semelhantes aos 30 dias com vigor germinativo variando de 65 % a 70 %. Os acessos BGP 22.1 e BGP 15, variaram de 45 % a 50 %. Aos 60 e 120 dias, os acessos BGP 5.1, BGP 48.3, BGP 11.5, apresentaram semelhança com 65 % de viabilidade polínica e os acessos BGP 22.1 e BGP 15, foram semelhantes com 35 % (Figura 1 D).

No intervalo de 150 a 180 dias, os acessos BGP 5.1, BGP 48.3, BGP 11.5, apresentaram semelhança com 35 % de germinação do grão de pólen e, os acessos BGP 22.1 e BGP 15, variaram de 25 % a 10 %. Entretanto, dos 210 dias de armazenamento todos os acessos apresentaram tendência semelhante, com aproximadamente 0 % de vigor germinativo aos 360 dias (Figura 1 D).

No processo de armazenamento do experimento controle, verificou-se que os acessos BGP 11.5 e BGP 48.3, apresentaram poder germinativo superior aos demais acessos utilizados. O desempenho dos acessos pode ser averiguado, através das médias da porcentagem de germinação do grão de pólen (Tabela 2).

**Tabela 2.** Médias ajustadas (%) para os acessos no experimento sem desidratação do grão de pólen de *A. aculeata* (média  $\pm$  erro-padrão da média).

Acesso	Viáveis (%)
5.1	12,59 $\pm$ 1,78 <sup>b</sup>
11.5	15,16 $\pm$ 1,80 <sup>a</sup>
15	10,92 $\pm$ 1,57 <sup>c</sup>
22.1	6,13 $\pm$ 1,22 <sup>d</sup>
48.3	15,38 $\pm$ 1,85 <sup>a</sup>

\*Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença a  $P < 0.05$ .

Com o ajuste das médias (%), observou-se a ocorrência de interação significativa entre os acessos e a temperatura de armazenamento no experimento controle ( $P \leq 0,01$ ) (Tabela 3).

**Tabela 3.** Médias ajustadas (%) para acesso e ambiente (média ± erro-padrão da média).

Acesso	Ambiente			
	26 °C	4 °C	-20 °C	-80 °C
5.1	0,03 ± 0,20 <sup>b1</sup>	21,56 ± 3,49 <sup>a12</sup>	19,02 ± 3,60 <sup>a3</sup>	22,99 ± 3,53 <sup>a2</sup>
11.5	0,02 ± 0,12 <sup>c1</sup>	15,05 ± 2,59 <sup>b3</sup>	32,07 ± 3,27 <sup>a1</sup>	30,59 ± 3,68 <sup>a1</sup>
15	0,11 ± 0,68 <sup>b1</sup>	18,34 ± 3,00 <sup>a23</sup>	17,05 ± 3,34 <sup>a3</sup>	18,54 ± 3,27 <sup>a3</sup>
22.1	0,38 ± 2,15 <sup>b1</sup>	10,01 ± 2,00 <sup>a4</sup>	8,10 ± 2,01 <sup>a4</sup>	10,40 ± 3,04 <sup>a4</sup>
48.3	0,24 ± 1,09 <sup>b1</sup>	23,03 ± 3,18 <sup>a1</sup>	25,57 ± 3,73 <sup>a2</sup>	25,74 ± 4,05 <sup>a2</sup>

\*Letras diferentes na mesma linha indicam diferença a  $P < 0.05$ . Números diferentes na mesma coluna indicam diferença a  $P < 0.05$ .

Verificou-se que os acessos BGP 5.1, BGP 15, BGP 48.3 e BGP 22.1, não apresentaram diferença estatística entre si armazenados nas temperaturas de 4 °C, -20 °C e - 80 °C. No entanto, o acesso BGP 11.5, apresentou melhor desempenho armazenado nas temperaturas de -20 °C e - 80 °C (Tabela 3). Os acessos utilizados e armazenados a 26 °C, não diferiram entre si.

O armazenamento entre os acessos BGP 5.1 e BGP 48.3 na temperatura de 4 °C, não apresentaram diferença estatística entre si, sendo superior aos demais (Tabela 3).

O acesso BGP 11.5 apresentou superioridade aos demais armazenado nos ambientes de -20 °C e -80 °C (Tabela 3).

### **3.2 Porcentagem de germinação de grão de pólen no experimento com desidratação submetidos ao armazenamento**

Verificou-se que a viabilidade polínica decresceu linearmente ( $P \leq 0,01$ ) no decorrer do tempo de armazenamento para todos os acessos utilizados (26 °C, 4 °C, -20 °C e -80 °C) (Figura 2). Porém, cada acesso apresentou velocidade distinta no decréscimo da viabilidade com a desidratação do grão de pólen.

Observou-se que a temperatura de 26 °C não é adequada para o armazenamento do pólen, pois o mesmo apresentou perda do poder germinativo

de todos os acessos utilizados, dentro de 30 dias de armazenamento (Figura 2 A).

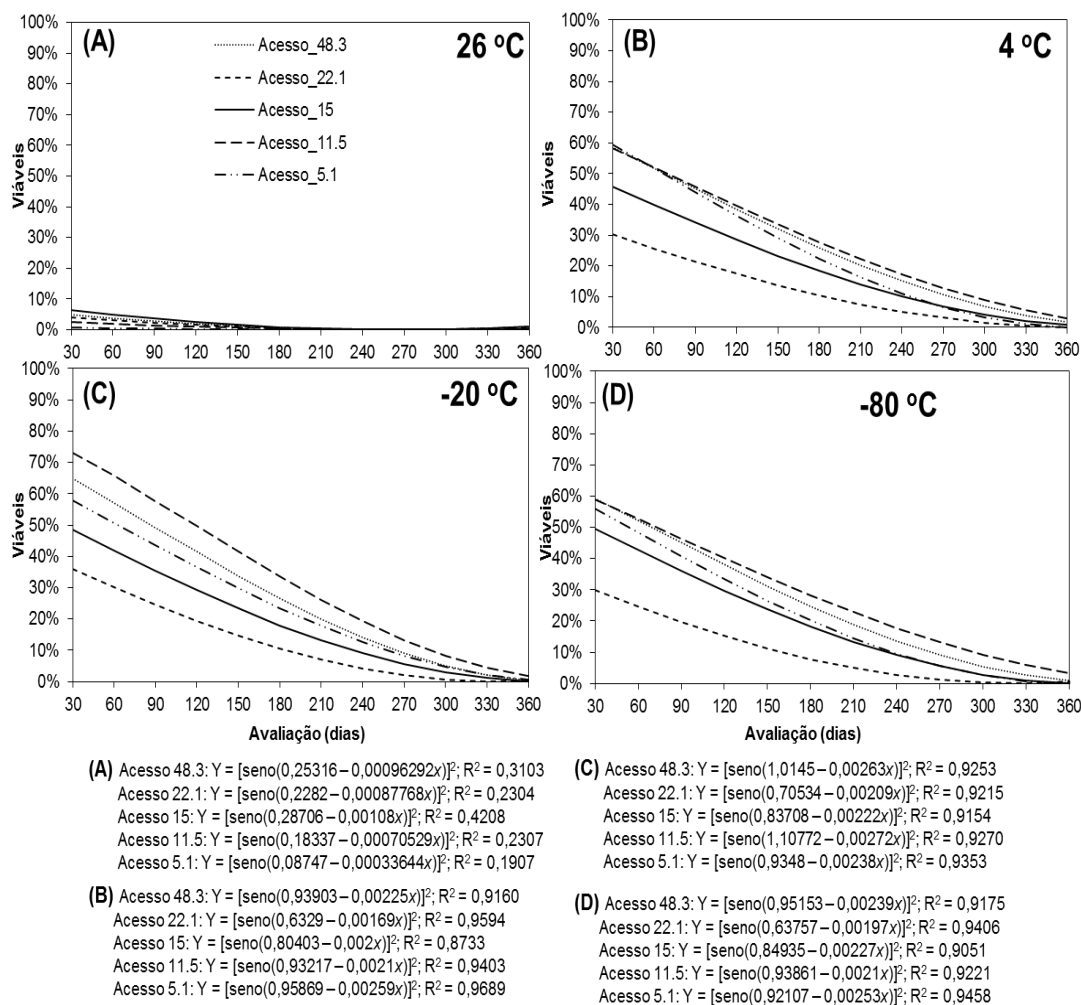
O armazenamento dos acessos BGP 48.3, BGP 22.1, BGP 15, BGP 11.5 e BGP 5.1, apresentaram perda do vigor germinativo em diferentes velocidades armazenadas a 4 °C (Figura 2 B).

Os acessos BGP 48.3, BGP 5.1, e BGP 11.3 apresentaram viabilidade polínica aos 30 dias de 60 % e, os acessos BGP 22.1 e BGP 15, apresentaram 30 % e 45 %.

No intervalo 60 a 120 dias de armazenamento os acessos BGP 48.3, BGP 5.1, e BGP 11.3 apresentaram viabilidade polínica semelhante variando de 55 % a 45 %. Entretanto, para os acessos BGP 22.1 e BGP 15, a viabilidade polínica foi de 30 % e 35 %. Aos 150 e 180 dias de armazenamento, os acessos BGP 48.3, BGP 5.1, e BGP 11.3, também apresentaram semelhança em relação a viabilidade polínica de 30 %. Em contrapartida, os acessos BGP 22.1 e BGP 15 apresentaram viabilidade polínica de 15 % e 30 % aos 150 dias e de 10 % a 20 % com 180 dias, chegando a aproximadamente 0 % de viabilidade polínica ao final da avaliação aos 360 dias (Figura 2 B).

O armazenamento na temperatura de -20 °C apresentou respostas distintas entre todos os acessos utilizados. Aos 30 dias, verificou-se a viabilidade polínica de 65 %, 35 %, 50 %, 72 % e 59 % para os acessos BGP 48.3, BGP 22.1, BGP 15, BGP 11.5 e o BGP 55.1 respectivamente (Figura 2 C).

No período de 60 a 120 dias o acesso BGP 11.5, apresentou maior porcentagem de viabilidade polínica, comparado aos demais, com 72 % e 65 %. Já o acesso BGP 22.1 apresentou baixo poder germinativo, neste mesmo período, com 30 % e 25 %. Aos 150 a 180 de armazenamento os acessos BGP 11.5, BGP 48.3 e 5, são semelhantes e aos 210 dias o acesso BGP 11.5 apresentou viabilidade superior aos demais. A partir dos 240 dias os acessos todos os acessos apresentaram semelhança entre si com viabilidade de 10 %, chegando a aproximadamente a 0 % aos 360 dias de armazenamento (Figura 2 C).



**Figura 2.** Porcentagens de germinação *in vitro* de pólen de *A. aculeata* no experimento com desidratação em função do ambiente, acesso e avaliação no decorrer de 360 dias.

Na temperatura de -80 °C, aos 30 dias de armazenamento os acessos BGP 48.3, BGP 11.5, BGP 5 e BGP 15, apresentaram viabilidade polínica semelhante, variando entre 50 % e 60 %. Entretanto, o acesso BGP 22.1 apresentou 30 % de poder germinativo (Figura 2 D).

No intervalo de 60 a 120 dias, os acessos BGP 48.3, BGP 11.5, BGP 5 e BGP 15 apresentaram o vigor germinativo, variando de 50 % a 60 % e, o acesso BGP 22.1, com 30 %. Aos 150 e 180 dias, observou-se que os acessos BGP 48.3, BGP 11.5, BGP 5 e BGP 15, foram semelhantes no decréscimo da viabilidade e, o acesso BGP 22.1, 20% a 15 % de vigor germinativo respectivamente, chegando a 0 % ao final da avaliação (360 dias).

No decorrer do processo de armazenamento do experimento utilizando a desidratação, observou-se que alguns acessos, apresentaram maior poder germinativo. Através das médias da porcentagem de germinação do grão de pólen, verificou-se que o melhor acesso para armazenamento de pólen é o BGP 11.5 apresentando superioridade aos demais acessos utilizados. Em contrapartida, o acesso BGP 22.1 não é indicado para o armazenamento de pólen com desidratação (Tabela 4).

**Tabela 4.** Médias ajustadas (%) para os acessos no experimento com desidratação do grão de pólen de *A. aculeata* (média  $\pm$  erro-padrão da média).

Acesso	Média (%)
5.1	11,35 $\pm$ 1,61 <sup>c</sup>
11.5	16,55 $\pm$ 1,83 <sup>a</sup>
15	10,21 $\pm$ 1,43 <sup>c</sup>
22.1	5,10 $\pm$ 0,99 <sup>d</sup>
48.3	14,35 $\pm$ 1,78 <sup>b</sup>

\*Letras diferentes na mesma coluna indicam diferença a  $P < 0.05$ .

Verificou-se a ocorrência de interação significativa entre os acessos utilizados e a ambiente de armazenamento ( $P \leq 0,01$ ) as médias ajustadas (%) (Tabela 5).

Os acessos BGP 5.1, BGP 15 e BGP 48.3, mantiveram a viabilidade média semelhante independente da temperatura de armazenamento, exceto a temperatura ambiente apresentando baixa germinação no decorrer de todo processo. No entanto, o acesso BGP 11.5, teve germinação média significativamente maior nas temperaturas de -20 °C e -80 °C. Já o acesso BGP 22.1, manteve maior vigor germinativo no armazenamento a 4 °C e -20 °C (Tabela 5).

No armazenamento a 26 °C o acesso BGP 15 diferiu estatisticamente do acesso BGP 5.1. Nas temperaturas de armazenamento a 4 °C e -20 °C, o acesso BGP 11.5 foi superior ao acesso BGP 22.1. Já na temperatura a -80 °C os acessos BGP 11.5 e BGP 48.3 foram superiores aos demais (Tabela 5).

**Tabela 5.** Médias ajustadas (%) para acesso e ambiente no experimento com desidratação do grão de pólen de *A. aculeata* (média ± erro-padrão da média).

Acesso	Ambiente			
	26 °C	4 °C	-20 °C	-80 °C
5.1	0,05 ± 0,48 <sup>b2</sup>	19,19 ± 3,31 <sup>a23</sup>	20,58 ± 3,09 <sup>a2</sup>	17,26 ± 3,20 <sup>a2</sup>
11.5	0,21 ± 1,28 <sup>c12</sup>	24,99 ± 3,14 <sup>b1</sup>	29,79 ± 4,07 <sup>a1</sup>	25,48 ± 3,21 <sup>ab1</sup>
15	0,59 ± 1,25 <sup>b1</sup>	16,19 ± 2,74 <sup>a3</sup>	15,48 ± 3,03 <sup>a3</sup>	15,58 ± 3,10 <sup>a2</sup>
22.1	0,33 ± 1,87 <sup>c12</sup>	8,94 ± 1,65 <sup>a4</sup>	8,58 ± 2,17 <sup>ab4</sup>	6,28 ± 1,91 <sup>b3</sup>
48.3	0,43 ± 1,73 <sup>b12</sup>	23,02 ± 3,27 <sup>a12</sup>	23,13 ± 3,89 <sup>a2</sup>	21,84 ± 3,40 <sup>a1</sup>

\*Letras diferentes na mesma linha indicam diferença a  $P < 0.05$ . Números diferentes na mesma coluna indicam diferença a  $P < 0.05$ .

### 3.3 Médias ajustadas (%) para acesso e ambiente em análise conjunta entre os experimentos com desidratação e sem desidratação.

Através das médias ajustadas da porcentagem de germinação *in vitro* de pólen para cada acesso armazenado, observou-se na análise conjunta entre os experimentos com e sem desidratação, a diferença entre os ambientes e acessos. (Tabela 6).

Verificou-se que os acessos BGP 5.1, BGP 22.1 e BGP 48.3, não apresentaram diferença em relação aos ambientes de armazenamento de 26 °C, 4°C e -20 °C com os experimentos com desidratação e sem desidratação (Tabela 6). Essa diferença pode ser observada no ambiente -80 °C onde, o armazenamento neste ambiente, não é necessário a desidratação do grão de pólen (Tabela 6).

O acesso 11.5 respondeu de forma similar aos demais supracitados, com exceção ao ambiente de 4 °C, no qual, é indicado a realização da desidratação para o armazenamento. Em contrapartida, o acesso BGP 15, independente do ambiente de armazenamento pode ser realizado ou não a desidratação do grão de pólen (Tabela 6).

**Tabela 6.** Médias ajustadas (%) para acesso e ambiente (média  $\pm$  erro-padrão da média).

		Com Desidratação	Sem desidratação
Acesso	Ambiente	Viáveis (%)	Viáveis (%)
5.1	26 °C	0,05 $\pm$ 0,48 <sup>a</sup>	0,03 $\pm$ 0,20 <sup>a</sup>
	4 °C	19,19 $\pm$ 3,31 <sup>a</sup>	21,56 $\pm$ 3,49 <sup>a</sup>
	-20 °C	20,58 $\pm$ 3,09 <sup>a</sup>	19,02 $\pm$ 3,60 <sup>a</sup>
	-80 °C	17,26 $\pm$ 3,20 <sup>b</sup>	22,99 $\pm$ 3,53 <sup>a</sup>
11.5	26 °C	0,21 $\pm$ 1,28 <sup>a</sup>	0,02 $\pm$ 0,12 <sup>a</sup>
	4 °C	24,99 $\pm$ 3,14 <sup>a</sup>	15,05 $\pm$ 2,59 <sup>b</sup>
	-20 °C	29,79 $\pm$ 4,07 <sup>a</sup>	32,07 $\pm$ 3,27 <sup>a</sup>
	-80 °C	25,48 $\pm$ 3,21 <sup>b</sup>	30,59 $\pm$ 3,68 <sup>a</sup>
15	26 °C	0,59 $\pm$ 1,25 <sup>a</sup>	0,11 $\pm$ 0,68 <sup>a</sup>
	4 °C	16,19 $\pm$ 2,74 <sup>a</sup>	18,34 $\pm$ 3,00 <sup>a</sup>
	-20 °C	15,48 $\pm$ 3,03 <sup>a</sup>	17,05 $\pm$ 3,34 <sup>a</sup>
	-80 °C	15,58 $\pm$ 3,10 <sup>a</sup>	18,54 $\pm$ 3,27 <sup>a</sup>
22.1	26 °C	0,33 $\pm$ 1,87 <sup>a</sup>	0,38 $\pm$ 2,15 <sup>a</sup>
	4 °C	8,94 $\pm$ 1,65 <sup>a</sup>	10,01 $\pm$ 2,00 <sup>a</sup>
	-20 °C	8,58 $\pm$ 2,17 <sup>a</sup>	8,10 $\pm$ 2,01 <sup>a</sup>
	-80 °C	6,28 $\pm$ 1,91 <sup>b</sup>	10,40 $\pm$ 3,04 <sup>a</sup>
48.3	26 °C	0,43 $\pm$ 1,73 <sup>a</sup>	0,24 $\pm$ 1,09 <sup>a</sup>
	4 °C	23,02 $\pm$ 3,27 <sup>a</sup>	23,03 $\pm$ 3,18 <sup>a</sup>
	-20 °C	23,13 $\pm$ 3,89 <sup>a</sup>	25,57 $\pm$ 3,73 <sup>a</sup>
	-80 °C	21,84 $\pm$ 3,40 <sup>b</sup>	25,74 $\pm$ 4,05 <sup>a</sup>

\*Letras diferentes na mesma linha indicam diferença a  $P < 0.05$ .

#### 4. DISCUSSÃO

O recente interesse na macaúba como fonte de óleo vegetal ensejou um número de programas de domesticação e melhoramento da espécie. Dado que a macaúba tem um ciclo anual concentrado nos meses de maior

pluviosidade (MONTROYA, 2013), um ponto crucial desses programas é o armazenamento de pólen viável.

A utilização da sílica gel no processo de desidratação do pólen não apresentou diferença em alguns acessos comparada ao controle. Isto pode ter ocorrido devido ao curto período de exposição do pólen a sílica gel, o que pode não ter permitido uma desidratação adequada ou ainda, que a desidratação, se efetiva, não é fator de interferência na viabilidade e longevidade do grão de pólen da macaúba. De fato, os estudos realizados por Brito (2013), demonstraram que para a conservação do pólen da macaúba pode ser realizado ou não dessecação. Já para armazenamento de diferentes acessos de coqueiros (*Cocos nucifera* L.), não foi realizado nenhum tipo de secagem do pólen antes do armazenamento em diferentes ambientes (MACHADO et al., 2014). Entretanto, para cultura do dendê (*Elaeis guineensis* Jacq.), é necessário que o pólen seja levado ao processo de secagem por 24 horas em sala climatizada (CHIA et al., 2009). Em contrapartida, Cunha et al. (2007) em seu processo de dessecação com sílica gel são necessárias 18 horas para cultura do dendê (*Elaeis guineensis*).

No presente trabalho, mostramos que o pólen de macaúba perde rapidamente a viabilidade se mantido em temperatura ambiente (30 dias). No entanto, temperaturas inferiores a 4 °C mantiveram níveis satisfatórios de viabilidade polínica por até 180 dias. Uma das alternativas para pólenes que apresentam baixa viabilidade no armazenamento é o aumento da quantidade de pólen aplicado sobre a superfície do estigma e maior volume de material armazenado (ASSIS et al.; 1993). Adicionalmente, identificamos acessos que geram pólenes menos susceptíveis às condições de armazenamento utilizadas, ou com melhor resposta a diferentes temperaturas de armazenamento, indicando que no futuro essas características podem ser selecionadas através de melhoramento. Neste trabalho, obtivemos taxas de viabilidade de 35 % a 25 % aos 120 e 180 dias de armazenamento respectivamente para ambos os experimentos, períodos estes que correspondem ao ciclo de floração da macaúba, o que viabiliza a utilização do pólen em cruzamentos planejados.

Foi possível estabelecer como melhor método de conservação da viabilidade polínica para macaúba, o armazenamento do pólen a 4 °C. Tal

temperatura corresponde aos processos simples de refrigeração de refrigeradores domésticos e câmaras frias, sendo um processo acessível, econômico e viável para a conservação. As técnicas e as condições de armazenamento do pólen são estudadas, com o intuito de preservar ao máximo sua viabilidade, como tem sido realizado para diversas espécies frutíferas (HONDA et al., 2002; BOYDEN e COUSINS, 2003).

Para o pólen das anonáceas comerciais, cherimóia (*Annona cherimola* Mill.), fruta-do-conde (*Annona squamosa* L.) e atemóia (*Annona cherimola* X *Annona squamosa*), a geladeira, tem sido uma opção de conservação da viabilidade polínica, para curto período, como pode ser feito para diversas árvores frutíferas (NETO et al.; 2009).

Na conservação do grão de pólen para a cultura do milho, foram encontrados resultados semelhantes, demonstrando que o armazenamento a 4 °C, proporciona maior viabilidade do pólen por 30 dias, permitindo a realização de cruzamentos com genótipos que não apresentam sincronismo (ALMEIDA et al.; 2011).

A perda da viabilidade do grão de pólen foi observada com decorrer do período de armazenamento, porém, pode estar acondicionado pelo estado nutricional da planta, recipiente utilizado para armazenagem e alterações fisiológicas. As baixas temperaturas de armazenamento não aumentam a viabilidade do grão de pólen, ocasionando perda da mesma com decorrer do tempo (STANLEY et al., 1974; NETO et al., 2011; CUCHIARA et al., 2012).

É importante destacar que a interação entre os fatores acesso e temperatura de armazenamento, indica que a resposta à temperatura de armazenagem pode variar de acordo com a constituição genética do acesso. O BGP 11.5 apresentou melhor taxa de viabilidade em temperaturas de armazenamento de -20 °C e -80 °C, o que pode estar relacionado a vários fatores evolutivos e genéticos inerentes ao indivíduo. Resultado semelhante foi encontrado na cultura da tâmara (*Phoenix dactylifera* L.) (MARYAM et al., 2015), relatando que a resposta da viabilidade polínica às condições de armazenamento, sofre influência do genótipo.

Assim como observado em macaúba, outras espécies apresentam sensibilidade distinta do grão de pólen em relação às temperaturas de

armazenamento. Como por exemplo, o observado em acessos de coqueiros (*Cocos nucifera* L.), em congelador (-4°C), freezer (-20°C), ultra freezer (-80°C) e nitrogênio líquido (-196°C) (MACHADO et al., 2014). Na cultura do açaí (*Euterpe oleracea* Mart.), entre vinte acessos de pólen armazenado, no decorrer de doze meses em freezer -10 °C, dois genótipos apresentaram taxa de germinação elevada, pelo teste de germinação *in vitro*, enquanto outros dois genótipos, apresentaram taxas inferiores aos demais (OLIVEIRA et al., 2001).

De acordo com o exposto, os resultados observados estão correspondentes com a literatura (STANLEY et al., 1974; NETO et al., 2011; CUCHIARA et al., 2012), mas, o método e o período de armazenamento, a longo ou médio prazo, dependerão do objetivo do trabalho a ser desenvolvido.

## **5. CONCLUSÕES**

Através dos resultados obtidos, pode ser concluído que o pólen da palmeira macaúba pode ser armazenado por 180 dias com uma taxa média de 25 % germinação sem a utilização de sílica gel em geladeira a 4 °C.

Houve interferência da origem dos acessos na resposta de viabilidade polínica ao armazenamento sendo que o pólen do BGP 11.5 apresentou maior viabilidade no decorrer do processo de armazenamento em diferentes ambientes.

## **6. AGRADECIMENTOS**

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo suporte financeiro.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALMEIDA, C.; AMARAL, A.L.; NETO, J.F.B.; SERENO, M.J.C.M. Conservação e germinação *in vitro* de pólen de milho (*Zea mays* subsp. *mays*). **Revista Brasileira de Botânica**, v.34, n.4, p.493-497, 2011.

ASSIS, T.F.; BAUER, J.F.S.; TAFAREL, G. SINTETIZAÇÃO DE HÍBRIDOS DE *Eucalyptus* POR CRUZAMENTOS CONTROLADOS. **Ciência Florestal**, v.3, n.1, p. 161-170, 1993.

BOYDEN, L.E.; COUSINS, P. Evaluation of grape pollen viability after freezing in liquid nitrogen and prolonged storage at -80°C. In: Annual meeting of american society for enology and viticulture, 54, 2003, Reno. **Anais...** Reno: ASEV, v.1, p.65, 2003.

BREWBAKER, J.L.; KWACK, B.H. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. **American Journal of Botany**, v.50, n.9, p.859-865, 1963.

BRITO, A.C. **Biologia reprodutiva de Macaúba: Floração, Polinizadores, Frutificação e Conservação de Pólen**. Viçosa, 2013, 47f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

CARDOSO, R.D.L. **Caracterização morfológica e citológica de gérbera: subsídio para o melhoramento genético**. Passo Fundo, 2007, 157f.

CUNHA, R.N.V.; LOPES, R.; DANTAS, J.C.R.; ROCHA, R.N.C. **Procedimentos para produção de sementes comerciais de dendezeiro na Embrapa Amazônia Ocidental**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental 2007. 33 p. (Documentos, 54).

CHIA, G.S.; LOPES, R.; CUNHA, R.N.V.; ROCHA, R.N.C. Germinação *in vitro* de pólen de híbridos interespecíficos entre o caiaué e o dendezeiro. **Revista Ciência Rural**, v.39, n.5, p.1569-1571, 2009.

COOK, S.A.; STANLEY, R.G. Tetrazolium chloride as an indicator of pine pollen germinability. **Silva e Genética**, v.9, n.5, p.134-136, 1960.

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

DAMASCENO JUNIOR, P. C.; PEREIRA, T.N.S.; PEREIRA, M.G.; SILVA, F.F. Conservação de pólen de mamoeiro (*Carica papaya* L.). **Revista Ceres**, n.55, v.5, p.433-438, 2008.

DAVIDE, L.M.C.; PEREIRA, R.C.; ABREU, G.B.; SOUZA, J.C.; PINHO, E.V. R.V. Viabilidade de pólen de milho em diferentes períodos de armazenamento em baixa temperatura. **Revista Brasileira de Milho e Sorgo**, v.8, n.2, p. 199-206, 2009.

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

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

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

FRANÇA, L.V.; NASCIMENTO, W.M.; CARMONA, R.; FREITAS, R.A. Tolerância à dessecação de pólen de berinjela. **Revista Brasileira de Sementes**, v.32, n.1 p.53-59, 2010.

GOMES, P.R.; RASEIRA, M.C.B.; BAUDET, L.L.; PESKE, S.T. Armazenamento do grão de pólen de cebola (*Allium cepa* L.). **Revista Brasileira de Sementes**, v.25, n.1, p.14-17, 2003.

HEDHLY, A.; HORMAZA, J. I.; HERRERO, M. Effect of temperature on pollen tube kinetics and dynamics in sweet cherry, *Prunus avium* (Rosaceae). **American Journal of Botany**, v.91, n.4, p.558–564, 2004.

HONDA, K.; WATANABE, H.; TSUTSUI, K. Cryopreservation of *Delfinium* pollen at – 30 °C. **Euphytica**, v.126, p.315-320, 2002.

LANES, E.C.M.; COSTA, P.M.A.; MOTOIKE, S.Y. Alternative fuels: Brazil promotes aviation biofuels. **Nature**, v.511, n.31, 2014.

MACHADO, C.A.; MOURA, C.R.F.; LEMOS, E.E.P.; RAMOS, S.R.R.; RIBEIRO, F.E.; LÉDO, A.S. Pollen grain viability of coconut accessions at low temperatures. **Acta Scientiarum Agronomy**, v.36, n.2, p.227-232, 2014.

MARYAM, M.J.J.; BILQUES, F.; HAIDER, M.S.; NAQVI, S.A.; NAFEES, M.; AHMAD, R.; KHAN, I.A. Evaluation of pollen viability in date palm cultivars under different storage temperatures. **Pakistan Journal of Botany**, v.47, p.377-381, 2015.

MONTOYA, S.G. **Caracterização do Desenvolvimento do Fruto da Palmeira Macaúba**. Viçosa, 2013, 62f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

MOTOIKE, S.; KUKI, K.N. The potential of macaw palm (*Acrocomia aculeata*) as source of biodiesel in Brazil. **International Review of Chemical Engineering**, v.1, p.632-635, 2009.

NETO, F.A.S.; 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.

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

OLIVEIRA, M.S.P.; MAUÉS, M.M.; KALUME, M.A.A. Viabilidade de pólen *in vivo* e *in vitro* em genótipos de açaizeiro. **Acta botânica Brasilica**, v.15, p.27-33, 2001.

PIO, L.A.S.; RAMOS, J.D.; PASQUAL, M.; SANTOS, F.C.; JUNQUEIRA, K.P. Receptiveness of the stigma and *in vitro* germination of orange pollen, submitted to different temperatures. **Ciência e Agrotecnologia**, v.5, n.5, p.1087-1091, 2004.

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

SAS Institute Inc 2002: SAS/STAT<sup>®</sup> 9.0 User's guide. Cary, NC: SAS Institute Inc.

STANLEY, R.G.; LINSKENS, H. F. **Pollen biology biochemistry marnagement**. Berlin: Springer- Verlag, p.307, 1974.

TECHIO, V. H.; DAVIDE, L.C.; PEDROZO, C.A.; PEREIRA, A.V. Viabilidade dos grãos de pólen de acessos de capim-elefante, milheto e híbridos interespecíficos (capim-elefante x milheto). **Acta Scientiarum Biological Science**, v.28, n.1, p.7-12, 2006.

ZHANG, C.; FOUNTAIN, W.D.; MORGAN, E.R. *In vitro* germination of the trinucleate pollen of *Limonium perezii*. **Grana**, v.36, p.284–288, 1997.

## CAPÍTULO 2

### Metodologia de polinização controlada para palmeira Macaúba (*Acrocomia Aculeata*)

#### RESUMO

A macaúba apresenta ampla dispersão natural no Brasil com elevado potencial baseada na sua rusticidade e adaptabilidade. É explorada de forma extrativista aproveitando da ocorrência de grandes populações naturais, devido ao potencial na produção de biocombustíveis e o elevado teor de óleo nos frutos. Entretanto, para utilização do óleo, como biodiesel, é necessário a domesticação da espécie. O presente estudo teve como objetivo adaptar metodologia de polinização controlada da palmeira macaúba (*Acrocomia aculeata*) com diferentes porcentagens de pólen. Durante a floração, foram selecionados os acessos BGP 53 e BGP 11, devido a quantidade de espatas emitidas e da altura das plantas, facilitando o manuseio, e a polinização controlada. Para aplicação da metodologia, foi necessário adaptar a metodologia de isolamento das inflorescências e polinização utilizada para cultura do dendê. Foram selecionadas 7 plantas do acesso BGP 11, com 4 espatas, que foram isoladas por sacos confeccionados com tecido failete branco com uma janela transparente. Com o isolamento, as espatas foram monitoradas diariamente até a abertura. O acesso BGP 53 foi selecionado como planta doadora de pólen, no qual, o pólen foi coletado 24 horas após a abertura da espata e armazenado em tubos criogênicos com diferentes porcentagens de pólen: 5 %, 10 %, 15 % e 20 % e armazenados em geladeira a 4 °C. A polinização controlada foi realizada imediatamente com a abertura das espatas em uma mistura de pólen com 3 g talco ( $\text{CaCO}_3$ ). A aplicação da mistura (pólen e talco) foi realizada com auxílio de um dispositivo aplicador através de um pequeno orifício realizado na janela transparente, do saco protetor, em seguida, realizou aplicação e, a vedação com auxílio de uma fita adesiva. Após a aplicação, o saco de proteção, foi deixado por mais três dias garantindo que não ocorresse contaminação nos cachos polinizados. A avaliação ocorreu aos 240 dias com a contagem dos frutos por cacho de polinização aberta e

controlada. O delineamento experimental foi conduzido em blocos casualizados apresentando 7 blocos (plantas) com 5 tratamentos (polinização aberta e 4 porcentagens de pólen).

**Palavras chaves:** Floração, inflorescência, melhoramento, pólen, talco.

## **Controlled pollination methodology for Macaw palm (*Acrocomia aculeata*)**

### **ABSTRACT**

The macaw palm features ample natural dispersion in Brazil with high potential based on their hardiness and adaptability. It is operated in extractive way taking advantage of the occurrence of major natural populations, because of the potential for biofuel production and high oil content in fruits. However, the oil for use as biodiesel, domesticated species is required. This study aimed to adapt controlled pollination methodology macaw palm (*Acrocomia aculeata*) with different percentages of pollen. During flowering, the BGP hits were selected BGP 53 and 11, because the amount of issued spathes and plant height, easy handling, and controlled pollination. For application of the methodology, it was necessary to adapt the isolation methodology and pollination of the flowers used for oil palm cultivation. They selected seven plants BGP 11 access with 4 spathes, which were isolated by bags made from white failete fabric with a transparent window. With isolation, sheaths were monitored daily until the opening. BGP 53 access was selected as donor plant pollen in which the pollen was collected 24 hours after the opening of the sheath and stored in cryogenic tubes with different pollen percentages: 5%, 10%, 15% and 20% and stored in refrigerator at 4 °C. Controlled pollination was performed immediately by opening the sheaths in a mixture of pollen with 3 g talc (CaCO<sub>3</sub>). The application of the mixture (pollen and talc) was performed with the aid of an applicator through a small orifice made in the transparent window, the protective bag, then held application, the sealing with the aid of an adhesive. After application, the protective bag was left for three days ensuring that no contamination occurred in pollinated bunches. The evaluation took place after 240 days with the fruits count for open and controlled pollination of grapes. The experiment was conducted in a randomized block design featuring seven blocks (plants) with 5 treatments (open-pollinated and 4 pollen percentages).

**Key words:** flowering, breeding, inflorescence, pollen, talc.

## 1. INTRODUÇÃO

Durante o processo de melhoramento de uma espécie, é primordial o estudo da biologia da polinização, pois este fenômeno interfere diretamente nas características dos frutos resultantes. A polinização cruzada e controlada beneficia várias espécies, proporcionando frutos maiores e de qualidade, estabilidade na produção, mantendo a variabilidade genética das culturas e contribui para a resistência às mudanças ambientais (CLASSEN et al., 2014). Nesta modalidade, a polinização apresenta maior eficiência quando a quantidade de grãos de pólen viáveis, compatíveis ao estigma, proporciona uma competição para fecundação do óvulo, com isto, ocorrerá um aumento no pegamento ou no número de sementes formadas (FREITAS, 1997; NASCIMENTO et. al.; 2011).

Apesar do grande potencial agrícola da macaúba, a sua domesticação, que garantirá seu cultivo racional, ainda encontrasse em estágio inicial. O seu melhoramento genético e produtividade se beneficiarão com uma polinização mais eficiente e racional. Isso proporcionará o aumento da homogeneidade do cultivo e da produção, uma vez que a espécie apresenta protogenia, assincronia na abertura das inflorescências e autocompatibilidade, apresentando floração nos períodos de maior pluviosidade, sobrepondo-se ao período de acasalamento e ovoposição dos besouros na polinização cruzada, no qual, é necessária para que ocorra frutificação (BRITO, 2013).

Na cultura do (*Elaeis guineensis*), a polinização controlada é realizada para produção de sementes comerciais, buscando manter a integridade e o desenvolvimento do programa de melhoramento. A prática consiste no isolamento da inflorescência feminina, com auxílio de uma estrutura de tecido resistente, para que não ocorra polinização indesejada. Quando a mesma se torna receptiva, cerca de 0,6 g de pólen de qualidade comprovada, acrescido de 4 g de talco inerte é aspergido dentro da estrutura que protege a inflorescência (CUNHA et al., 2007).

Já para *Araucaria angustifolia*, a aplicação de cruzamentos controlados é realizada para aumentar a produção de pinhões por pinha, no

qual, pode ocorrer influência na produção devido às condições ambientais (ANSELMINI et al., 2012).

Sabe-se que a fase reprodutiva do vegetal é a mais crítica podendo ser influenciada com as variações da temperatura, umidade, fotoperíodo, polinizadores e dispersores, afetando diretamente a floração e frutificação (FISCH, 2000; LOSADA et al., 2014). As baixas temperaturas do campo podem afetar o crescimento do tubo polínico tornando-o lento, podendo não ocorrer à fertilização ou, ainda, o aborto do embrião, devido à baixa receptividade do estigma. Temperatura elevada, por sua vez, pode desidratar a superfície do estigma, interferindo na sua receptividade e comprometendo a germinação do grão de pólen (MOREIRA, 2008; CRASSWELLER, 2015). Outro fator que pode interferir no sucesso da produção de frutos é a compatibilidade genética entre genitores. Estudos recentes têm demonstrado que a macaúba apresenta elevada variabilidade genética, tanto em indivíduo quanto em populações (PIMENTEL et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2012; LANES, et al., 2014).

Diante do exposto, o presente estudo teve como objetivo adaptar metodologia de polinização controlada, através do uso de doses diferenciadas de pólen e agente dispersor (talco) para *Acrocomia aculeata*, o que pode contribuir diretamente com programas de melhoramento da espécie.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1 Local de estudo e material vegetal**

O presente estudo foi realizado no Banco Germoplasma de Macaúba da Universidade Federal de Viçosa – UFV (BAG-MACAUBA / CEGEN nº 084/2013), localizado no município de Araçuaia, Minas Gerais, apresentando as coordenadas geográficas de 20°40'1" S 42° 31'15" W, com altitude de 806 a 810 m e predominância climática Cwa, segundo a classificação de Köppen, durante o período de floração de agosto a dezembro de 2014.

Os testes foram realizados no período de novembro a dezembro de 2014, que apresentou temperatura média de 22,6 °C, umidade relativa do ar de 74,2 % e índice pluviométrico de 180 mm.

No decorrer da floração, os acessos BGP 53 (São José Del Rey) e BGP 11 (Itabirito), foram selecionados, em decorrência do número de espatas emitidas e da altura das plantas, para facilitar o manuseio, e a realização da polinização controlada. Os acessos BGP 53 e BGP 11 foram selecionados como planta doadora e receptora de pole respectivamente.

## **2.2 Coleta de pólen e mistura polinizadora**

A coleta do pólen foi realizada 24 horas após a abertura da espata. As inflorescências abertas eram acondicionadas em sacos de plásticos transparentes e encaminhadas ao Laboratório de Cultura Tecidos, no setor de Fruticultura da Universidade Federal de Viçosa – UFV. Com a abertura das flores masculinas e a exposição das anteras, a coleta do pólen foi realizada manualmente com auxílio de pincel. As raquis florais que não apresentavam flores estaminadas abertas foram mantidas em recipiente com água para que a antese se completasse.

Com a retirada do pólen, a separação das impurezas foi realizada com auxílio de uma peneira de malha fina. Em seguida, foram pesadas amostras do pólen em diferentes proporções com: 5 %, 10 %, 15 % e 20 % de pólen, em balança de alta aferição (Denver Instrument APX com capacidade máxima para 200 g), acondicionados em tubos criogênicos e armazenados em geladeira (4 °C) até o momento da polinização (Figura 1 C4). Para a polinização, estas quantidades de pólen foram retiradas da geladeira e deixadas ao ar por alguns minutos. Posteriormente elas foram individualmente misturadas ao agente dispersor (talco - CaCO<sub>3</sub>) na quantidade fixa de 3 g.

Desta forma, as misturas polinizadoras (talco + pólen) efetivamente aplicada nas inflorescências apresentavam concentrações de pólen de 5 %, 10 %, 15 % e 20 %.

## **2.3 Polinização controlada**

Para realizar a polinização controlada na macaúba, aplicou-se a metodologia de isolamento das inflorescências e a polinização controlada utilizada para cultura do dendê (CUNHA, et al., 2007), com modificações descritas a seguir.

### **2.3.1 Isolamento das inflorescências**

No acesso BGP 11, foram selecionadas 7 plantas, com 4 espatas, as quais foram isoladas. O isolamento das espatas ocorreu próximo aos dias de abertura, com prévia limpeza das mesmas e aplicação de repelente para insetos (Figura 1 A e 1 B). O isolamento foi realizado através do acondicionamento das inflorescências fechadas em sacos confeccionados em tecido failete branco (1,50 m x 1,20 m). As sacolas apresentavam uma abertura lateral de 40 cm de diâmetro recoberta por plástico transparente para facilitar o monitoramento das espatas florais.

### **2.3.2 Polinização**

A polinização controlada foi realizada imediatamente após a abertura das espatas com as respectivas misturas polinizadoras.

A aplicação da mistura polinizadora foi realizada com auxílio de um dispositivo montado com base na metodologia empregada para polinização de dendê. Este aplicador é constituído por i) uma bomba de ar (Lee pro tools Abs<sup>®</sup> ii) frasco plástico de 250 ml (tipo pet) com a tampa adaptada com dois canos de cobre e iii) 2 mangueiras, de 30 e 15 cm de comprimento, com 5 mm de diâmetro (Figura 1 C1- C3). Uma das mangueiras interliga a bomba de ar a um dos canos de cobre do frasco; enquanto a outra, ligada ao segundo cano de cobre, tem a função de aspergir a mistura polinizadora.

Através de um pequeno orifício realizado na parte transparente das sacolas que protegem as inflorescências, realizou-se a aplicação da mistura polinizadora por meio do bombeamento do aplicador. Em seguida a orifício de foi vedado com fita adesiva 3M (Figura 1D). Para garantir que a

polinização das flores não ocorresse pelo pólen de outras plantas de macaúba, as inflorescências permaneceram isoladas por mais 3 dias, após a aplicação da mistura polinizadora.

Como testemunhas foram monitoradas 7 espatas que não receberam isolamento e a ficaram expostas a polinização aberta natural.



**Figura 1.** Metodologia de polinização controlada adaptada para *Acrocomia aculeata*: Limpeza da espata (A); Espata isolada (B); Dispositivo aplicador (C); Bomba de ar (C1); Frasco plástico (tipo pet com a tampa adaptada com cano de cobre) (C2); Mangueira com 5 mm de diâmetro (C3); Porcentagem de pólen (C4); Aplicação do pólen com talco (D); Barras C, C-4 = 2 cm.

## 2.4 Avaliação

A avaliação da eficiência da metodologia de polinização controlada para macaúba foi realizada com a contagem dos frutos por cacho das

plantas testemunhas e das que sofreram polinização artificial. O resultado foi expresso como valores absolutos médios. A contagem dos frutos ocorreu 240 dias após a aplicação da mistura polinizadora (plantas artificialmente polinizadas), ou da abertura da espata (plantas testemunhas).

O delineamento experimental foi em blocos casualizados constituídos por 7 blocos (plantas) com 5 tratamentos (polinização aberta e 4 porcentagens de pólen).

Os dados foram analisados em software R versão 3.0.3 (R Core Team, 2015) com auxílio do pacote ExpDes versão 1.1.2 (FERREIRA et al., 2013).

### 3. RESULTADOS

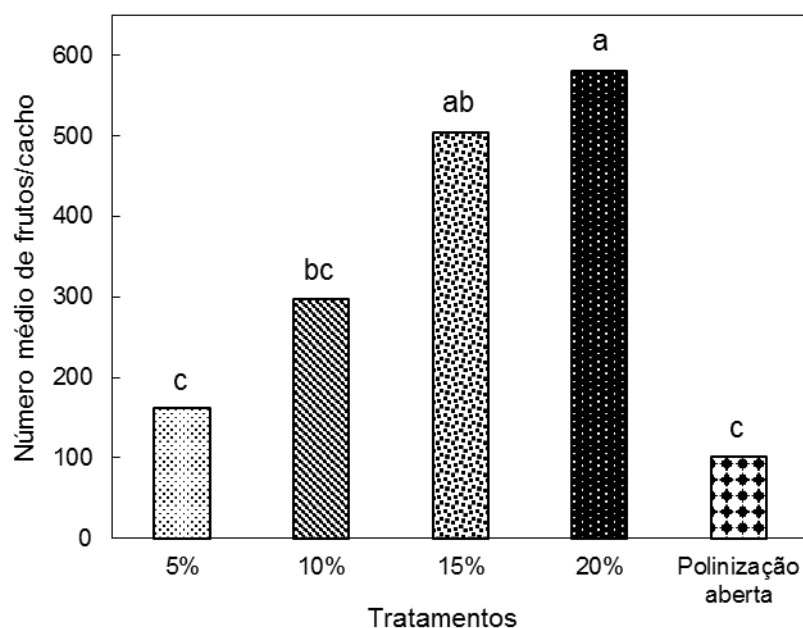
Verificou-se que os tratamentos aplicados na polinização controlada apresentaram significância ( $P \leq 0,01$ ), perante a análise de variância (Tabela 1), com a contagem dos frutos por cacho polinizado, aos 240 dias, em relação a polinização aberta.

**Tabela 1.** Resumo da análise de variância em quadrados médios em função das porcentagens de pólen e polinização aberta no número de frutos por cacho em 240 dias após a polinização do acesso BGP11 de macaúba (*Acrocomia Aculeata*).

Fonte de Variação	Graus de Liberdade	Quadrado Médio	P valor
Blocos	6	14785	0,57629
Tratamentos	4	306224	$\leq 0,01$
Resíduo	24	18377	
Total	34		
$CV_{exp}(\%)$		41,17	

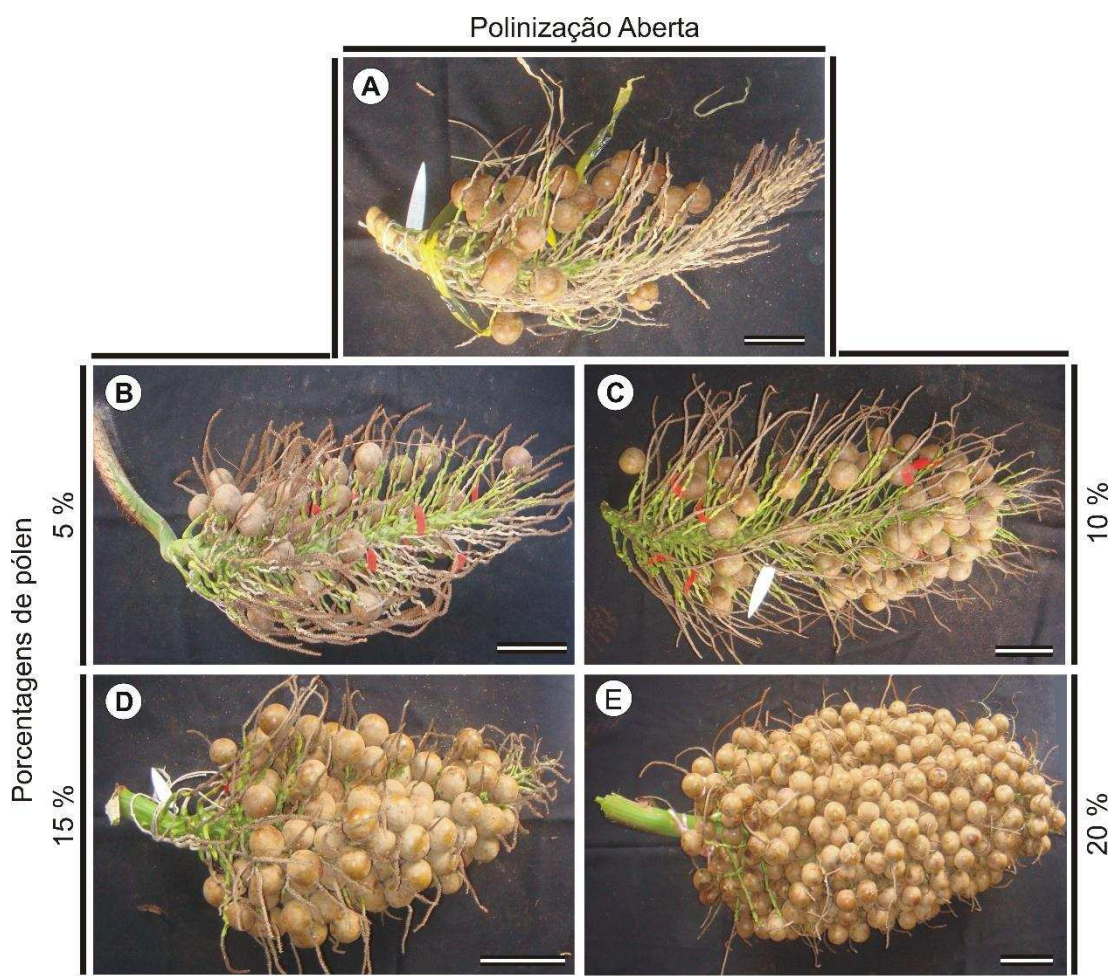
Comparando as médias do pegamento dos frutos por cada proporção de pólen aplicada, verificou-se que dentre as misturas polinizadoras aplicada aquela com menor proporção de pólen (0,15 g) apresentou a menor quantidade de frutos pegos, semelhante ao tratamento testemunha (Figura 2).

Observou-se que o número de frutos pegos aumentaram a medida que a proporção de pólen aumentou. Sendo possível verificar que estatisticamente as proporções com 0,30 g e 0,45 g de pólen não apresentaram diferença significativa entre si, com média de 297 e 505 frutos em média. Já para a maior proporção de pólen (0,60 g), verificou-se o pegamento de 581 frutos sendo superior aos demais tratamento. Entretanto, estatisticamente não apresentou diferença com a proporção de 0,45 g de pólen (Figura 2).



**Figura 2.** Número de frutos por cacho polinizado com diferentes porcentagens de pólen aos 240 dias em relação a polinização aberta do acesso BGP11 (Itabirito – MG) de macaúba (*Acrocomia Aculeata*). \*Médias seguidas de uma mesma letra não diferem entre si, pelo teste de Tukey a 5 % de probabilidade.

A diferença entre a polinização aberta e a aplicação das diferentes proporções de pólen aplicadas também pode ser verificada visualmente garantindo um numeroso pegamento de frutos e a formação de cachos maiores e homogêneo (Figura 3).



**Figura 3.** Visualização dos cachos polinizados com 240 dias após aplicação da mistura (pólen e talco). Polinização aberta (A); Pegamento de fruto com 5 % de pólen (B); 10 % de pólen (C); 15 % de pólen (D); 20 % de pólen (E). Barras A = 8 cm; B, D e E = 11,5 cm; C = 12 cm.

#### 4. DISCUSSÃO

Neste trabalho, foi possível verificar, que os cachos polinizados responderam de formas distintas e positivamente às diferentes porcentagens de pólen aplicadas. Ou seja, a medida que ocorreu o aumento das porcentagens de pólen aplicado, o número efetivo de frutos pegos por cacho e que completaram seu desenvolvimento aumentou concomitantemente. Dentre os tratamentos aplicados com a mistura polinizadora de 0,60 g com 3 g talco de pólen apresentou melhor resultado absoluto.

Esta diferença entre os tratamentos adequados em cada indivíduo pode estar relacionada à variabilidade genética devido à disparidade tanto

em nível de indivíduo quanto em populações para a cultura da macaúba (PIMENTEL et al., 2011; OLIVEIRA et al., 2012; LANES, et al., 2014).

Além disso, pode-se atribuir diferenças entre concentrações adequadas de pólen para cada variedade de uma mesma cultura na fecundação cruzada. Em abóbora, com o objetivo de produção de sementes híbridas, utilizando diferentes concentrações de pólen (0,011 g, 0,023 g, 0,047 g, 0,094 g e 0,188 g) observou uma relação com a quantidade de pólen e produtividade, onde 0,188 g de pólen, correspondente a quatro flores de *C. moschata*, foram necessários para polinizar com sucesso uma flor de *C. máxima*, proporcionando maior porcentagem de pegamento (NASCIMENTO, et al., 2011).

Já para cultura do dendê, está estabelecida uma proporção de 0,0625 g de pólen com 4 g de talco inerte, para produção de sementes comerciais, por inflorescência (CUNHA et al.; 2007).

Em *Araucaria angustifolia*, a polinização controlada com elevada concentração de pólen (3,3 g) apresentou maior produção de pinhões, do que em 1,1 g de pólen e a polinização aberta no segundo ano de produção. A baixa produtividade da aplicação do pólen no primeiro ano pode estar atribuída, em parte, às condições climáticas e ao período da aplicação do pólen (ANSELMINI et al., 2012).

A metodologia de isolamento das espatas de macaúba baseada na cultura do dendê (CUNHA, et al., 2007), apresentou eficácia, impedindo a contaminação do material por insetos polinizadores sendo mantida a integridade do experimento. A substituição da lona, utilizada para dendê, pelo tecido failete, apesar da fragilidade, apresentou resultado satisfatório.

Com isto esta metodologia testada pode ser utilizada para macaúba visando à utilização em: i) cruzamentos intraespecíficos, com o objetivo de desenvolver híbridos e aumentar a variabilidade genética através da polinização controlada como em maracujá (*Passiflora sp*), (BELLON et al., 2014); ou ii) cruzamentos interespecíficos, como em eucalipto, visando aumento da heterose, para desenvolvimento de novos híbridos (FILHO et al., 2011). Um caso de sucesso de cruzamento controlado, com objetivo melhoramento, foi obtido para a palmácea açazeiro (*Euterpe oleracea*). Através do processo da metodologia foi possível verificar progênes

apresentando compatibilidade, aumentando a possibilidade de desenvolver híbridos com características desejadas, com cachos pesados, melhor rendimento de frutos por cacho e elevada quantidade de polpa (MENEZES et al., 2009).

## 5. CONCLUSÕES

Através dos resultados obtidos, conclui-se que a metodologia de isolamento para realização da polinização controlada na palmeira macaúba foi eficiente para não ocorrência da contaminação do material. Sendo assim, a polinização controlada na macaúba constitui uma ferramenta de grande valia para programas de melhoramento.

Foi possível verificar que a quantidade ideal de pólen aplicado e que assegura o sucesso do pegamento dos frutos. Contudo, a maior proporção de pólen 20 % favorece a frutificação da macaúba.

## 6. AGRADECIMENTOS

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pelo suporte financeiro.

## 7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ANSELMINI, J.I.; ZANETTE, F. POLINIZAÇÃO CONTROLADA EM *Araucaria angustifolia*. **Revista Cerne**, v.18, n.2, p.247-255, 2012.

BELLON, G.; FALEIRO, F.G.; JUNQUEIRA, N.T.V.; FUHRMANN, E. Variabilidade genética de genótipos elite de maracujazeiro, obtidos em programas de retrocruzamento envolvendo espécies silvestres e comerciais com base em marcadores RAPD. **Bioscience Journal**, v.30, n.6, p.1692-1697, 2014.

BERTINI, C.H.C.M.; TEÓFILO, E.M.; DIAS, F.T.C. Divergência genética entre acessos de feijão-caupi do banco de germoplasma da UFC. **Revista Ciência Agronômica**, v.40, n.1, p.99-105, 2009.

BRITO, A.C. **Biologia reprodutiva de Macaúba: Floração, Polinizadores, Frutificação e Conservação de Pólen**. Viçosa, 2013, 47f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

CICONINI, G. **Caracterização de frutos e óleo de polpa de macaúba dos biomas Cerrado e Pantanal do estado de Mato Grosso do Sul, Brasil**. Campo Grande, 2012, 128f. Dissertação (mestrado em biotecnologia) Universidade Católica Dom Bosco, Campo Grande, 2012.

CLASSEN, A.; PETERS, M.K.; FERGER, S.W.; HELBIG-BONITZ, M.; SCHMACK, J.M.; MAASSEN, G.; SCHLEUNING, M.; KALKO, E.K.V.; BOHNING-GAESE, K.; Steffan-Dewenter, I. Complementary ecosystem services provided by pest predators and pollinators increase quantity and quality of coffee yields. **Proceedings The Royal Society publishing**, v.281, 2014.

CORRÊA, M.C.M.; PRADO, R.M.; NATALE, W.; SILVA, M.A.C.; PEREIRA, L. Índice de pagamento de frutos em goiabeiras. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.24, n.3, p.783-786, 2002.

COSTA, M.N.; PEREIRA, W.E.; BRUNO, R.L.A.; FREIRE, E.C.; NÓBREGA, M.B.M.; MILANI, M.; OLIVEIRA, A.P. Divergência genética entre acessos e cultivares de mamoneira por meio de estatística multivariada. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.41, n.11, p.1617-1622, 2006.

CUNHA, R.N.V.; LOPES, R.; DANTAS, J.C.R.; ROCHA, R.N.C. **Procedimentos para produção de sementes comerciais de dendezeiro na Embrapa Amazônia Ocidental**. Manaus: Embrapa Amazônia Ocidental 2007. 33 p. (Documentos, 54).

CRASSWELLER, R. **Pollination requirements for various fruits and nuts**. Disponível em:

<[http://horticulture.psu.edu/files/hort/extension/Pollination\\_requirements\\_for\\_various\\_fruits\\_nuts.pdf](http://horticulture.psu.edu/files/hort/extension/Pollination_requirements_for_various_fruits_nuts.pdf)>. Acesso: 02 de julho de 2015.

FERREIRA, E.B.; CAVALCANTI, P.P.; NOGUEIRA, D.A. **ExpDes: Experimental Designs package**. R package version 1.1.2. 2013.

FILHO, E.P., SANTOS, P.E.T. Programa de melhoramento genético de eucalipto da EMBRAPA Florestas: Resultados e Perspectivas. Colombo EMBRAPA Floresta 2011. 63 p. (Documentos, 214).

FISCH, S.T.V.; JUNIOR, L.R.N.; MANTOVANI, W. Fenologia reprodutiva de *Euterpe edulis* Mart. Na mata atlântica (Reserva ecológica do Trabiçu, Pindamonhangaba – sp). **Revista Biociência**, v.6, n.2, p.31-37, 2000.

FREITAS, B.M. Changes with time in the germinability of cashew (*Anacardium occidentale*) pollen grains found on different body areas of its pollinator bees. **Revista Brasileira Biologia**, v.57, n.2, p.289-294, 1997.

HORN, F.L.; SCHUCH, L.O.B.; SILVEIRA, E.P., ANTUNES, I.F., VIEIRA, J. C., MARCHIORO, G., MEDEIROS, D.F., SCHWENGBER, J.E. Avaliação de espaçamentos e populações de plantas de feijão visando à colheita mecanizada direta. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.35, n.1, p.41-46, 2000.

LANES, E.C.M., MOTOIKE, S.Y., KUKI, K.N., NICK, C., FREITAS, R.D. Molecular characterization and population structure of the macaw palm, *Acrocomia aculeata* (Arecaceae), ex Situ germplasm collection using microsatellites markers. **Journal of Heredity**, v.106, n.1, p.102–112, 2014.

LOPES, I.S.; NÓBREGA, A.M.F.; MATOS, V.P. Maturação e colheita da semente de *Amburana cearensis* (Allem.) A. C. Smith. **Revista Ciência Florestal**, v.24, n.3, p.565-572, 2014.

LOSADA, J.M; HERRERO, M. Glycoprotein composition along the pistil of *Malus x domestica* and the modulation of pollen tube growth. **BMC Plant Biology**, v.14, n.1, p.1-14, 2014.

MANFIO, C.E.; MOTOIKE, S.Y.; SANTOS, C.E.M.; PIMENTEL, L.D.; QUEIROZ, V.; SATO, A.Y. Repetibilidade em características biométricas do fruto de macaúba. **Ciência Rural**, v.41, n.1, p.70-76, 2011.

MENEZES JUNIOR, J.A.N.; RAMALHO, M.A.P.; ABREU, A.F.B. Seleção recorrente para três caracteres do feijoeiro. **Revista Bragantia**, v.67, n.4, p.833-838, 2008.

MENEZES, R.O.; OLIVEIRA, M.S.P. Estudos preliminares para obtenção de híbridos intraespecíficos de açaizeiro (*Euterpe oleracea*). In: 7º Seminário de Iniciação Científica da UFRA e 13º Seminário de Iniciação Científica da EMBRAPA. **Anais...** 01 a 04 de dezembro de 2009.

MONTOYA, S.G. **Caracterização do Desenvolvimento do Fruto da Palmeira Macaúba**. Viçosa, 2013, 62f. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.

MOREIRA, P.Q. **Polinização e vingamento de ameixeira japonesa (*Prunus salicina* Lindl.). Avaliação da colocação sequencial de colmeias e de um bioestimulante**. Lisboa, 2008, 69f. Dissertação (Mestre em Engenharia Agrônômica).

MOTOIKE, S ; KUKI, Kacílda Naomi. The potential of macaw palm (*Acrocomia aculeata*) as source of biodiesel in Brazil. **International Review of Chemical Engineering**, v.1, p.632-635, 2009.

MOURA, E.F. **Embriogênese somática em macaúba: indução, regeneração e caracterização anatômica**. Viçosa, 2007, 66f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento de Plantas) Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2007.

MURPHY, D.J. The future of oil palm as a major global crop: opportunities and challenges. **Journal of Oil Palm Research**, v.26, n.1, p.1- 24, 2014.

NASCIMENTO WM; LIMA GP; CARMONA R. Influência da quantidade de pólen na produção e qualidade de sementes híbridas de abóbora. **Horticultura Brasileira**, v.29, n.1, p.21-25, 2011.

OLIVEIRA, D.A.; MELO JÚNIOR, A.F.; BRANDÃO, M.M.; RODRIGUES, L.A.; MENEZES, E.V.; FERREIRA, P.R.B. Genetic diversity in populations of *Acrocomia aculeata* (Arecaceae) in the northern region of Minas Gerais, Brazil. **Genetics and Molecular Research**, v.11, p.531-538, 2012.

PIMENTEL, L.D.; DIAS, L.A.S.; PAES, J.M.V.; SATO, A.Y.; MOTOIKE, S.Y. Diversidade no gênero *Acrocomia* e proposta de subdivisão da espécie *Acrocomia aculeata*. **Informe agropecuário EPAMIG**, v.32, p.81-87, 2011.

R CORE TEAM. **R: A language and environment for statistical computing**. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <http://www.R-project.org/>. 2015.

RIBEIRO, L.M.; GARCIA, Q.S.; OLIVEIRA, D.M.T.; NEVES, S.C. Critérios para o teste de tetrazólio na estimativa do potencial germinativo em macaúba. **Pesquisa agropecuária brasileira**, v.45, n.4, p.361-368, 2010.

TECHIO, V. H.; DAVIDE, L.C.; PEDROZO, C.A.; PEREIRA, A.V. Viabilidade dos grãos de pólen de acessos de capim-elefante, milheto e híbridos interespecíficos (capim-elefante x milheto). **Acta Scientiarum Biological Science**, v.28, n.1, p.7-12, 2006.

## CONCLUSÕES GERAIS

Com base nos resultados obtidos no desenvolvimento dos trabalhos no estudo de armazenamento de pólen no capítulo 1 para palmeira macaúba (*Acrocomia Aculeata*): 1) o pólen pode ser armazenado por 180 dias, apresentando uma taxa média de 25 % germinação sem a utilização de sílica gel e armazenado em geladeira a 4 °C; 2) Ocorreu interferência da origem dos acessos em relação as respostas de viabilidade polínica ao armazenamento verificando que o pólen do acesso BGP 11.5 apresentou maior viabilidade no decorrer do processo de armazenamento em diferentes ambientes; Em relação ao desenvolvimento de uma metodologia para o cruzamento controlado no capítulo 2: 1) o isolamento da inflorescência, adaptado da dendeicultura, apresentou eficácia, mantendo integridade do experimento realizado; 2) foi possível verificar que a maior porcentagem de pólen utilizada (20 %) favoreceu a frutificação da macaúba.