

UNIVERSIDADE TECNOLÓGICA FEDERAL DO PARANÁ
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ENGENHARIA FLORESTAL
CÂMPUS DOIS VIZINHOS

WÉLIDA MAIARA TOMAZONI KELLER

**BIOLOGIA FLORAL, REPRODUTIVA, POLINIZADORES E VIABILIDADE DO
PÓLEN DE *Eugenia myrcianthes* Nied.**

TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO II

DOIS VIZINHOS

2017

WÉLIDA MAIARA TOMAZONI KELLER

**BIOLOGIA FLORAL, REPRODUTIVA, POLINIZADORES E VIABILIDADE DO
PÓLEN DE *Eugenia myrcianthes* Nied.**

Trabalho de conclusão de curso apresentado à disciplina de Trabalho de conclusão de curso II, do Curso Superior de Engenharia Florestal da Universidade Tecnológica Federal do Paraná – UTFPR, como requisito parcial para obtenção do título de Engenheiro Florestal.

Orientador: Prof. Dr. Américo Wagner Júnior.

Co-orientadora: Msc. Karina Guollo

DOIS VIZINHOS

2017



TERMO DE APROVAÇÃO

BIOLOGIA FLORAL, REPRODUTIVA, POLINIZADORES E VIABILIDADE DO PÓLEN DE *Eugenia myrcianthes* Nied.

por

WÉLIDA MAIARA TOMAZONI KELLER

Este Trabalho de Conclusão de Curso foi apresentado em 05 de junho de 2017 como requisito parcial para a obtenção do título de Bacharel em Engenharia Florestal. O(a) candidato(a) foi arguido pela Banca Examinadora composta pelos professores abaixo assinados. Após deliberação, a Banca Examinadora considerou o trabalho aprovado.

Prof. Dr. Américo Wagner Júnior
Orientador

Prof^a. Dr^a Juliana C. Radaelli
Membro titular (UTFPR)

Prof^a. Dr^a. Juliana Perseguini
Membro titular (UTFPR)

Prof^a. Dr^a. Simone Wendt
Membro titular (UTFPR)

- O Termo de Aprovação assinado encontra-se na Coordenação do Curso -

A toda minha família, exemplo de amor, carinho e caráter, aos meus avós que foram meus pilares, pessoas dedicadas e amorosas responsáveis pelas minhas diretrizes para a formação da minha personalidade e educação, que muito me ajudaram que palavras não são o suficiente para agradecer.

A eles dedico.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a Deus, pela constante presença em minha vida, concedendo forças e sabedoria nos momentos de dificuldade, colocando pessoas especiais em minha vida, guiando-me pelo melhor caminho.

A UTFPR por fornecer a estrutura necessária para a realização desse trabalho.

Ao professor Américo Wagner Júnior pela orientação, confiança, grande exemplo de justiça, humildade, caráter e disciplina.

A Doutoranda Karina Guollo pela colaboração e co-orientação, e por ter me aguentado esse tempo todo.

Aos membros da banca por aceitar o convite e sugerir melhorias, contribuindo para o aprimoramento deste trabalho.

Aos meus avós Valcir Luiz Tomazoni e Ilse Trevisan Tomazoni, a minha querida mãe Vera Lucia Tomazoni, a minhas irmãs Luana Tomazoni Paz e Carina Tomazoni Paz, e toda a minha família que tanto me apoiaram nessa jornada, mesmo eu estando muito ausente em razão da distância, porém meu coração e pensamentos estão sempre com vocês.

Aos amigos de longa data, que se não fosse por eles, não estaria realizando essa conquista, além disso, muito incentivo recebi, agradeço a vocês Juliana Dias de Castro, Daiane Bressan, Jessica Paula Chiele, Jessica Camile e Thais Tomazoni.

A Leonardo Mandelli por me apoiar, compreender e me aguentar nesses dias de estresse.

Ao casal de amigos Carmen e José Dias de Castro que me acolheram com tanto carinho.

Aos colegas de trabalho, muitos dos quais se tornaram amigos, Karina Guollo, Juliano Zanella, Gisely Correa de Moura, Juliana Cristina Radaelli, Kamila Cristina Fabiane, Carlos Koseira Neto, Marciéli da Silva, Alexandre Hack Porto, Cristiano Hossel, Jessica Scarlet Oliveira, Juliana Dias de Castro, Daiane Bressan, Jéssica Chiele, Natália Venciguerra, Rayanah Stival Svidzinski, Isadora Bischoff, Alberto Ricardo Stefani, Adriana Dallago, Eduardo Zanetti, Edna Zimbro, Josiane Derengoski e aos demais que por ventura não foram mencionados, mas todos vocês me apoiaram fazendo com que os dias fossem mais felizes e o convívio mais afável. Agradeço também a todos que direta ou indiretamente estiveram presentes e colaboraram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

Dizem que, na vida, quem perde o telhado ganha as estrelas. É assim mesmo. Às vezes você perde o que não queria, mas conquista o que nunca imaginou. Nem tudo depende de um tempo, mas sim de uma atitude. O tempo é como um rio. Você nunca poderá tocar na mesma água duas vezes, porque a água que já passou, nunca passará novamente. Aproveite cada minuto de sua vida e lembre-se: Nunca busque boas aparências, porque elas mudam com o tempo. Não procure pessoas perfeitas, porque elas não existem. Mas busque acima de tudo, um alguém que saiba o seu verdadeiro valor. Tenham 4 amores: Deus, A vida, a família e os amigos. Deus porque é o dono da vida, A vida porque é curta, a família porque é única e os amigos porque são raros! (Autor desconhecido).

RESUMO

KELLER, Wélida M. T **BIOLOGIA FLORAL, REPRODUTIVA, POLINIZADORES E VIABILIDADE DO PÓLEN DE *Eugenia myrcianthes* Nied.** 2017. 36 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Florestal) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2017.

O pessegueiro-do-mato é fruteira nativa pouco conhecida pela população, mas que produz fruto que pode atender nichos de mercado ávidos por novidade. Para isso, importante estabelecer conhecimentos sobre a planta, como aquelas ligadas a biologia floral, para que assim possa ser definidas estratégias de manejo. O presente trabalho objetivou elucidar aspectos da biologia floral e reprodutiva e, de polinizadores do pessegueiro-do-mato (*Eugenia myrcianthes* Nied). Os trabalhos foram realizados no Laboratório de Fisiologia Vegetal e pomar de Fruteiras Nativas, da UTFPR – Câmpus Dois Vizinhos. Foram analisadas as características da biologia floral da planta através da: fenofases avaliação a campo feita das 5:00horas da manhã até as 20:00horas em cinco dias não consecutivos acompanhando a abertura e senescência floral, caracterização morfológica feita através de avaliações com paquímetro e folha milimetrada das estruturas florais, biologia reprodutiva através de análises de germinação de pólen em diferentes concentrações de sacarose e origem do pólen adores, e teste de detecção de estruturas de reconhecimento por polinizadores através da luminescência e do “bioensaio olfativo” A concentração de 5% de sacarose promoveu maior germinação de grãos de pólen de pessegueiro-do-mato coletados em pós-antese. Os principais visitantes florais da espécie pertencem as famílias Apidae, Melyridae e Chrysopidae. A antese das flores ocorre até às 9 horas, podendo permanecer aberta por até 48 horas. As flores apresentam odor em notas frutais, levemente adocicadas, este que é secretado pelas anteras.

Palavra-Chave: pessegueiro-do-mato; morfologia floral; germinação de pólen.

ABSTRACT

KELLER, M. T. Wélida **FLORAL BIOLOGY, REPRODUCTIVE, POLLINATORS AND VIABILITY OF POLLEN IN *Eugenia myrcianthes* Nied.** 2017. 36 f. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Engenharia Florestal) – Universidade Tecnológica Federal do Paraná. Dois Vizinhos, 2017.

The peach bush is native fruit very little known by the population, but that produces fruit that can meet niches of market avid by novelty. For this, it is important to establish knowledge about the plant, such as those related to floral biology, so that management strategies can be defined. The present work aimed to elucidate aspects of the floral and reproductive biology, and pollinators of the *Eugenia myrcianthes* Nied. The work was carried out at the Laboratory of Plant Physiology and Orchard of Native Fruits, UTFPR - Câmpus Dois Vizinhos. The characteristics of the floral biology of the plant were analyzed through: field evaluation phenophases from 5:00 a.m. to 8:00 p.m. on five nonconsecutive days following the opening and floral senescence, morphological characterization made through assessments with pachymeter And millimeter leaf of floral structures, reproductive biology through analyzes of pollen germination at different concentrations of sucrose and pollen source, and detection of pollinator recognition structures through luminescence and olfactory bioassay. The concentration of 5 % Sucrose promoted greater germination of peach pollen grains collected in post-anthesis. The main floral visitors of the species belong to the families Apidae, Melyridae and Chrysopidae. The anthesis of the flowers occurs until 9:00 am, and can remain open for up to 48 hours. The flowers have an odor of fruity, slightly sweet notes, which is secreted by the anthers.

Keyword: Brazilian peach; Floral morphology; Germination of pollen.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	10
2 REVISÃO BIBLIOGRÁFICA	12
2.1 FRUTEIRAS NATIVAS E A IMPORTÂNCIA DO MELHORAMENTO GENÉTICO	12
2.2 FAMÍLIA MYRTACEAE	13
2.2.1 <i>Eugenia myrcianthes</i> Nied	13
2.3 BIOLOGIA FLORAL E REPRODUTIVA	14
2.4 RECURSOS FLORAIS E AGENTES POLINIZADORES	15
2.5 GERMINAÇÃO DE PÓLEN IN VITRO	16
3 OBJETIVO	17
3.1 OBJETIVO GERAL	17
3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS	17
4 MATERIAL E MÉTODOS	18
4.1 DESCRIÇÃO DO LOCAL DE ESTUDO	18
4.2 BIOLOGIA FLORAL	18
4.2.1 FENOFASES	18
4.2.2 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA	19
4.3 BIOLOGIA REPRODUTIVA	20
4.3.1 Germinação do pólen in vitro	20
4.4 POLINIZADORES	21
4.4.1 CARACTERIZAÇÃO DE POLINIZADORES	21
4.4.2 DETECÇÃO DE ESTRUTURAS DE RECONHECIMENTO POR POLINIZADORES	22
4.4.2.1 Luminescência	22
4.4.2.2 Olfativo	23
5 RESULTADO E DISCUSSÃO	24
5.1 FENOLOGIA	24
5.1.1 Fenofases	24
5.2 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA	25
5.3 GERMINAÇÃO DO PÓLEN IN VITRO	26
5.4 POLINIZADORES	28
5.4.1 Luminescência	29
5.4.2 Olfativo	30
6 CONCLUSÃO	31
7 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS	32

1 INTRODUÇÃO

A família Myrtaceae engloba cerca de 129 gêneros que estão distribuídos em 4.620 espécies, tendo no Brasil cerca de 26 gêneros, com aproximadamente 1.000 espécies (BÜNGER et al., 2012).

O Brasil se destaca por ser um dos principais centros de diversidade genética de fruteiras nativas do mundo, mas infelizmente, pouco se conhece sobre a maioria das espécies existentes. No Sul do país, tais fruteiras nativas constituem papel importante para avifauna e vem demonstrando pelas características, principalmente, de seus frutos, potencial para exploração econômica, onde se destacam muitas espécies da família Myrtaceae (FRANZON, 2008).

As fruteiras nativas da família Myrtaceae representam patrimônio genético de grande valor e com potencial de expressão econômica (CLEMENT, 2001) e ecológica. Porém, os estudos básicos ainda são escassos e necessário quando se pensa em domesticação do material. Dentre os estudos mais urgentes que podem ser elencados têm-se aqueles ligados aos aspectos sobre biologia floral e reprodutiva destas espécies.

Desta forma, o conhecimento do sistema de reprodução é essencial para compreensão das relações ecológicas entre diferentes espécies, no estabelecimento da influência dos fatores bióticos e abióticos nos padrões fenológicos das espécies, na conservação do germoplasma, na elaboração de protocolos de manejo em cultivo, principalmente quanto a necessidade ou não de uso de genótipos polinizadores e, para o melhoramento genético, pois permite definir estratégias de seleção com base em cruzamentos intra e inter-populacionais (DANNER et al., 2011; KUARAKSA et al., 2011; FRANÇOSO et al., 2014; TORRES e GALETTO, 2011).

Os estudos sobre fenologia possuem grande importância para a identificação da época em que há disponibilidade de recursos florais aos polinizadores, para que ocorra a dispersão de sementes e a coleta para que seja possível realizar reflorestamento

Estudos de fenologia são de grande importância para identificação de épocas de disponibilidade de recursos florais aos polinizadores, de frutos aos dispersores de sementes e para coleta de sementes para reflorestamentos ambientais e conservação *ex situ*. Conforme Fournier (1974), os estudos fenológicos em ecossistemas, podem

ser realizados por meio de populações (espécies) ou comunidades sendo analisados quantitativamente (intensidade de ocorrência da fenofase) e qualitativamente (épocas de ocorrência das fenofases).

Enfatiza-se nesse sentido que os estudos de biologia floral se revestem de grande importância, uma vez que, permitem determinar o modo de reprodução da espécie, definindo a ocorrência de produção de frutos e sementes de modo a identificar a atuação de insetos polinizadores e, no âmbito do melhoramento definir os processos de emasculação e tipo de polinização (FOURNIER, 1974; SCALON et al., 2004). Isso é importante principalmente quando ligado a espécies ainda pouco conhecidas como o pessegueiro-do-mato (*Eugenia myrcianthes*), que podem ser opção para atender nichos de mercado ávidos por novidades.

Essa espécie pode trazer caráter inovador ao mercado costumeiramente tradicional que comercializa sempre as mesmas frutas. Além disso, com a oferta deste novo fruto, este pode-se ter o papel de incentivador na busca pelos produtores da região, cuja base é agricultura familiar, pela diversidade do uso de espécies até então negligenciadas

Diante do exposto, este trabalho teve como objetivo elucidar aspectos da biologia floral e reprodutiva e, de polinizadores do pessegueiro-do-mato (*Eugenia myrcianthes* Nied).

2 REVISÃO BIBLIOGRAFICA

2.1 FRUTEIRAS NATIVAS E A IMPORTÂNCIA DO MELHORAMENTO GENÉTICO

Uma das linhas de pesquisa de maior importância para o avanço dos estudos na área de fruticultura foi o melhoramento genético, fazendo com que fosse levado em conta determinados elementos da biodiversidade e tendo como resultado disso produto com valor econômico considerável para o nosso atual mercado (CLEMENT, 2001).

Com isso, torna-se importante o conhecimento da biologia floral, no qual necessita-se que se leve em consideração vários pontos dos quais alguns envolvem o conhecimento do padrão fenológico, as delimitações dos vetores do fluxo de pólen, além da compreensão do sistema reprodutivo. O conhecimento desses pontos faz com que seja possível o desenvolvimento de programas de melhoramento genético (MAUÉS & COUTURIER, 2002).

O programa de seleção e recombinação utilizado no melhoramento genético possui seus objetivos bem claros, tornando-se necessário o conhecimento completo da espécie a ser melhorada desde sua biologia floral, sistemas de propagação, diversidade genética e qual melhor método de melhoramento para que haja a segregação genética da espécie. Com o conhecimento dessas variáveis é possível definir parâmetros de melhoramento para a determinada espécie (BRAGA et al., 2005).

Importante enfatizar que a variabilidade genética é a matéria prima do processo e exerce função fundamental no planejamento de cruzamentos e na seleção de genótipos melhorados, o que torna a diversidade existente no Brasil vantajosa no processo. Decorrente de tal variabilidade é possível utilizar os métodos de melhoramento mais adequados para cada espécie frutífera, com opções para a introdução de germoplasma, a seleção clonal e a hibridação (BRAGA et al., 2005).

2.2 FAMÍLIA MYRTACEAE

A família Myrtaceae possui grande representatividade florística em suas diferentes composições vegetacionais da Cadeia do Espinhaço, estando presente, especialmente nas Matas de Galeria e afloramentos rochosos.

A família Myrtaceae engloba cerca de 129 gêneros, distribuídos em 4.620 espécies e em 5 tribos de árvores e arbustos que se dividem em duas seções, com a primeira contendo as Myrteas, as Lepiospermeas e as Chamelauceas e, a segunda as Lecythideas e Puniceas. Na primeira seção possuem espécies que contem bolsas secretoras de essências, ao contrário das pertencentes à segunda seção (BARROSO & PERON 1991; MARCHIORI & SOBRAL, 1997; LANDRUM & KAWASAKI, 1997).

O Brasil apesar de destacado centro de diversidade genética com fruteiras silvestres desta família, explora-as muito pouco, pela potencialidade existente, negligenciando a grande maioria, o que aumenta cada vez mais o risco de extinção de muitas delas. Entretanto, algumas destas já vêm sendo exploradas comercialmente (GRESSLER, PIZO e MORELLATO, 2006), como a goiabeira e o eucalipto, sendo este último usado no mercado madeireiro.

2.2.1 *Eugenia myrcianthes* Nied

Eugenia myrcianthes (Sinonímia: *Hexachlamys edulis* (O. Berg); *Myrcianthes edulis* O. Berg; *Eugenia edulis* Vell.), conhecida popularmente como pessegueiro-domato, Ivaí e Ubajaí, é espécie arbórea que pertence à família Myrtaceae. Possui ampla distribuição nos Estados de São Paulo, Minas Gerais, Goiás, Mato Grosso do Sul até o Rio Grande do Sul, porém, pode-se dizer que é desconhecida pela grande maioria da população destes locais.

Possui porte de arvoreta com aproximadamente 4-6 metros de altura, com folhas decíduas, subcoriáceas de 3-6 cm de comprimento. As flores ficam reunidas em pequenos racemos axilares de 2-5 flores pediceladas, frutos subglobosos, velutinos, com polpa succulenta de sabor doce-acidulado.

Estudos na área da biologia floral e reprodutiva especialmente do gênero *Eugenia* são escassos, tornando tal condição necessária e urgente antes que a torne com risco de extinção (SILVA & PINHEIRO, 2006).

2.3 BIOLOGIA FLORAL E REPRODUTIVA

A biologia floral abrange estudos da manifestação de vida floral, desde a ecologia da polinização até a fertilização da mesma (FAEGRI & VAN DER PIJL, 1979). A compressão dos atributos e do sistema reprodutivo servem como base aos programas de melhoramento utilizando a hibridação controlada (CLARK, 2008) e também para a compreensão história evolutiva e o manejo correto. O entendimento do sistema reprodutivo é fundamental para compressão de características da biologia reprodutiva das espécies junto ao programa de melhoramento genético, sendo usado também para a compreensão da história evolutiva e dos instrumentos envolvidos no avanço das espécies (DOBZHANSKY, 1970).

A partir da caracterização destas espécies, os aspectos detectados podem ser aproveitados para formação de bancos de germoplasma, assim como para planejamento de coleta de pólen e sementes, cruzamentos dirigidos e colheita dos frutos (DANNER et al., 2010).

O entendimento da biologia floral através do conhecimento de floração, frutificação e produção acabam gerando base para produtores que queiram investir nessas espécies ou até mesmo para saber qual a melhor época de coleta de sementes das mesmas. Já aspectos relacionados a floração auxiliam no processo de polinização, por exemplo no horário da antese, hora em que o estigma estará mais receptivo, viabilidade, germinação do grão de pólen e quais são os horários em que a flor está mais atrativa para os visitantes florais. Através desse conhecimento é possível desenvolver programas de melhoramento genético (SILVA & PINHEIRO, 2006; CAMILO et al., 2013).

Sendo assim, o conhecimento do mecanismo de reprodução de cada espécie é muito importante pois através dele é possível garantir que ocorra a perpetuação da sua progênie, além de entender os aspectos evolutivos naturais da espécie, pois ele auxilia não somente em programas de melhoramento genético, mas também para que

possa haver produção em escala comercial desta espécie (GRANT, 1971; DARWIN, 1859; STEBBINS, 1950; SILVA & PINHEIRO, 2006).

2.4 RECURSOS FLORAIS E AGENTES POLINIZADORES

A polinização nas espécies da família Myrtaceae é considerada muito variada podendo ser por animais, abelhas, vespas, moscas, pássaros e até mesmo mamíferos (BEARDSELL et al., 1993; PROENÇA & GIBBS, 1993; NIC LUGHADHA & PROENÇA, 1996).

As abelhas da família Colletidae são consideradas uma das mais abundantes e importantes polinizadores de espécies da família Myrtaceae e, em espécies africanas e na região neotropical do gênero *Eugenia* são as Apidae.

A *Apis melífera* L. possui origem africana, porém é amplamente disseminada pelos seres humanos e com isso acabaram proporcionando benefícios ou malefícios na hora da reprodução das espécies frutíferas, além de influenciar diretamente e indiretamente no desempenho de transporte de pólen (MICHERNER, 1979; PATON, 1993; VAUGTON, 1996; VILLANUEVA, 2002; ARMSTRONG, 1979; VAN WYK & LOWREY, 1988; NIC LUGHADHA & PROENÇA, 1996; SILVA & PINHEIRO, 2006)

Quando se pensa em recursos florestais eles englobam todos os membros da flor e da inflorescência que é utilizado pelos animais para que ocorra a polinização. Todavia, o pólen e o néctar são os mais procurados, pois, eles atuam como atrativo para que ocorra a polinização cruzada (FAEGRI & VAN DER PIJL, 1979; SIMPSON & NEFF, 1981).

A polinização pode ser considerada como associação simbiótica, pois tanto os polinizadores quanto as plantas se beneficiam. Os polinizadores obtêm seu alimento e a planta o transporte e disposição de pólen e, eles ainda auxiliam na triagem das características florais (BAWA, 1990; CULLEY, STEPHEN & SAKAI, 2002).

As plantas com o passar dos anos desenvolveram indicadores que mostram onde estão localizados os recursos florestais sendo estes chamados de guia de néctar, osmóforos ou até mesmo mudança na coloração das pétalas (WASER & PRICE, 1985; VOGEL, 1990; WEISS, 1992).

2.5 GERMINAÇÃO DE PÓLEN *IN VITRO*

Em estudos de melhoramento genético, um elemento de grande importância é o conhecimento da viabilidade do grão de pólen a ser utilizado. Há quatro principais métodos para poder realizar esta estimativa sendo eles, germinação *in vitro*, teste com corantes, germinação *in vivo* onde se avalia o crescimento do tubo polínico no estigma ou no pistilo ou nos dois e a produção de sementes após polinização normal de genitor feminino escolhido (GALLETTA, 1995).

Apesar do método de uso de corantes ser o mais rápido ele muitas vezes acaba superestimando a viabilidade do pólen. Em alguns casos apesar do grão de pólen estar inviável ele ainda cora, pois, ele pode possuir doses razoáveis de enzimas, amido ou outras substâncias. Já os outros dois métodos são considerados muito trabalhosos, necessitando maior conhecimento e tempo para obter os resultados (GALLETTA, 1995).

Por estes motivos normalmente escolhe-se o método de germinação *in vitro* como dos mais apropriado e seguros para testar a viabilidade do grão de pólen, já que será possível ver o verdadeiro estado das reservas e a condição da membrana (MARCELLÁN & CAMADRO, 1996).

Porém, o sucesso da germinação *in vitro* depende de diferentes fatores como meio de cultura, tempo de dessecação, tempo de incubação, temperatura, presença de micro e macronutrientes no meio de cultura, condições de armazenamento do grão de pólen e situação da flor no momento de coleta (SOARES et al. 2008; CHAGAS et al., 2010; SINIMBU NETO, MARTINS & BARBOSA, 2011; STANLEY & LENSSENS, 1974).

O meio de cultura mais utilizado é composto de açúcar, ácido bórico podendo ainda ser adicionado outros nutrientes na mistura. O açúcar usado no meio serve de equilíbrio osmótico, entre o pólen e o meio de germinação, assim como auxiliar com energia para que o tubo polínico possa se desenvolver (MIRANDA & CLEMENTE, 1990; MOORE & JANICK, 1983; STANLEY & LINSKENS, 1974; PFAHLER, 1967).

3 OBJETIVO

3.1 OBJETIVO GERAL

Elucidar aspectos da biologia floral, reprodutiva, polinizadores e viabilidade do pólen do pessegueiro-do-mato (*Eugenia myrcianthes* Nied).

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

Observar e caracterizar as fenofases do pessegueiro-do-mato;

Realizar a caracterização morfológica da flor de pessegueiro-do-mato;

Identificar as estruturas odoríferas de pessegueiro-do-mato através da luminescência;

Identificação das estruturas florais de pessegueiro-do-mato que liberam odor e do momento em que as flores exalam o odor através do “bioensaio olfativo”;

Avaliar a viabilidade do pólen de pessegueiro-do-mato por meio de testes de germinação *in vitro*;

Identificar os visitantes florais e horários de visita de pessegueiro-do-mato.

4 MATERIAL E MÉTODOS

4.1 DESCRIÇÃO DO LOCAL DE ESTUDO

O trabalho foi realizado no Laboratório de Fisiologia Vegetal e no pomar de Fruteiras Nativas, da Estação Experimental da UTFPR, Câmpus Dois Vizinhos.

4.2 BIOLOGIA FLORAL

4.2.1 FENOFASES DA FLOR

As anteses, foram feitas avaliações em duas plantas matrizes, sendo estas realizadas em 5 dias não consecutivos com avaliações realizadas das 5:00horas da manhã até as 20:00horas da noite onde foram marcados 100 botões florais e acompanhado a abertura destes com monitoramento constante até a abertura total do botão floral. Após foi acompanhado quanto tempo a flor permanecia aberta e o processo de deiscência e senescência das mesmas ou parte delas.



Figura 1. Acompanhamento de fenofases. Fonte: Karina Guollo (2016)

4.2.2 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA

A flores em diferentes estádios de desenvolvimento (pré e pós-antese) foram coletadas (100 flores), para análise da morfologia floral com ênfase na estrutura dos órgãos sexuais. O material foi armazenado em FAA (formol; ácido acético; etanol 70% [10:5:85, v/v]) e analisados posteriormente em estereoscópio (BEZERRA e MACHADO, 2003; KIILL, MARTINS e SILVA, 2014; MATIAS & CONSOLARO, 2014; VERSIEUX et al., 2014).

Com auxílio de paquímetro digital foi medido diâmetro e comprimento do botão floral (Figura 2.A.) enquanto que no resto das medições utilizou-se a folha milimetrada para a medição: diâmetro e comprimento de flores recém-abertas (Figura 2.B), cálice (Figura 2.C.), corola (Figura 2.D.), bem como, o tamanho das estruturas reprodutivas (Figura 2.E, 2.H) (KIILL, MARTINS e SILVA, 2014) e, a distância entre o estigma e os estames, além do comprimento total dos pistilos conforme sugerido por Degenhardt et al. (2001). Foram mensurados o número de óvulos por ovário com o auxílio de estereoscópio (Figura 2.F; 2.G.), estames por flor, anteras por flor e flores por axila foliar (SILVA & PINHEIRO, 2006).

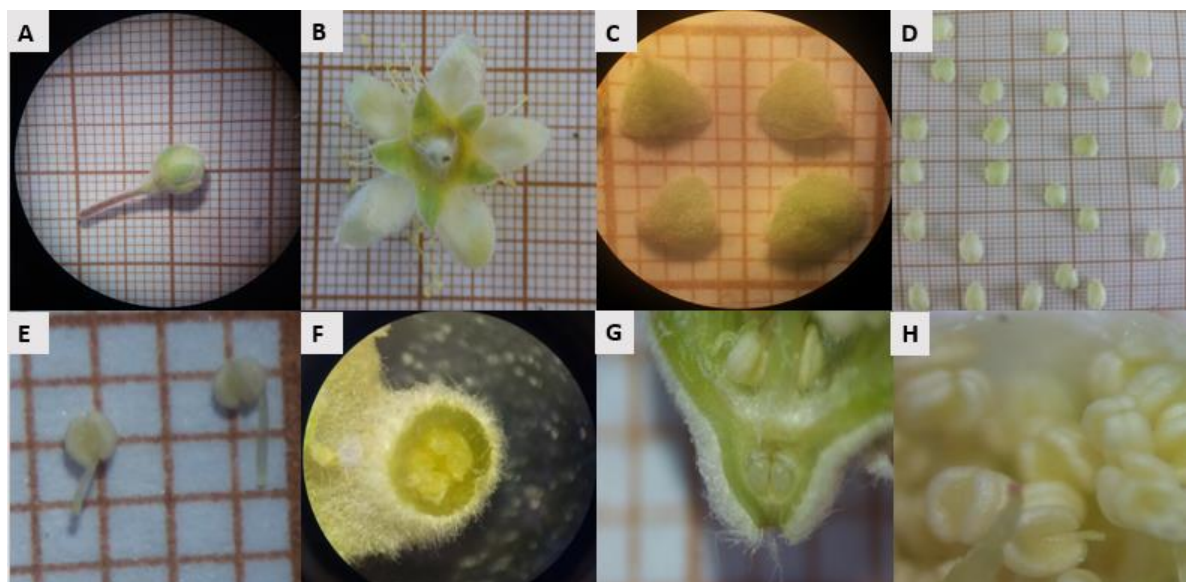


Figura 2. A) Botão floral. B) Flor de pessegueiro-do-mato. C) Sépalas. D) Pétalas. E) Antera. F) Corte transversal do ovário. G) Corte longitudinal do ovário. H) Conjunto de anteras e pistilo. Fonte: O autor (2016).

4.3 BIOLOGIA REPRODUTIVA

4.3.1 Germinação do pólen *in vitro*

Para o teste de germinação de pólen *in vitro*, anteras de flores em pré e pós-antese foram destacadas e colocadas para secar em bandejas de papel, em câmara de sílica, à temperatura ambiente ($\pm 25^{\circ}\text{C}$), por 24 horas, provocando a deiscência e liberação do grão de pólen.

Para este experimento utilizou-se delineamento inteiramente casualizado (DIC), em esquema fatorial 2 x 5 (origem do pólen x concentração de sacarose). O fator origem do pólen (níveis pré e pós-antese) e o fator concentração de sacarose (níveis de 0, 5, 10, 20 e 30%).

Os elementos constituintes dos meios de cultura (sacarose e ágar 1%) foram dissolvidos em água destilada e aquecidos em forno de microondas até completa dissolução dos mesmos (Figura 3.A). Ainda quente, o meio foi vertido em placas de Petri® (Figura 3.B.) e, após resfriamento e solidificação, este foi cortado com auxílio de espátula, formando pequenos blocos que foram dispostos sobre lâminas (Figura 3.C.), no qual o pólen (Figura 3.D.) foi aspergido com auxílio de pincel n°4 (Figura 3.E.).

As lâminas foram colocadas em caixas gerbox® com tampa, contendo papel umedecido (câmara úmida simulada) e incubadas em estufa tipo B.O.D. (Biological Demand Oxygen) com temperatura controlada (25°C) durante 24 horas. Na avaliação dos resultados, cada bloco de meio de cultura, em cada uma das lâminas, representou uma repetição.

A contagem da percentagem de grãos de pólen germinados foi realizada em microscópio binocular (Figura 3.F.). Cem grãos de pólen foram contados em cada bloco de meio de cultura e, somente grãos com comprimento do tubo polínico igual ou superior ao diâmetro do próprio grão de pólen foram considerados germinados (FRANZON e RASEIRA, 2006; FRANCESCOTTO, 2014).

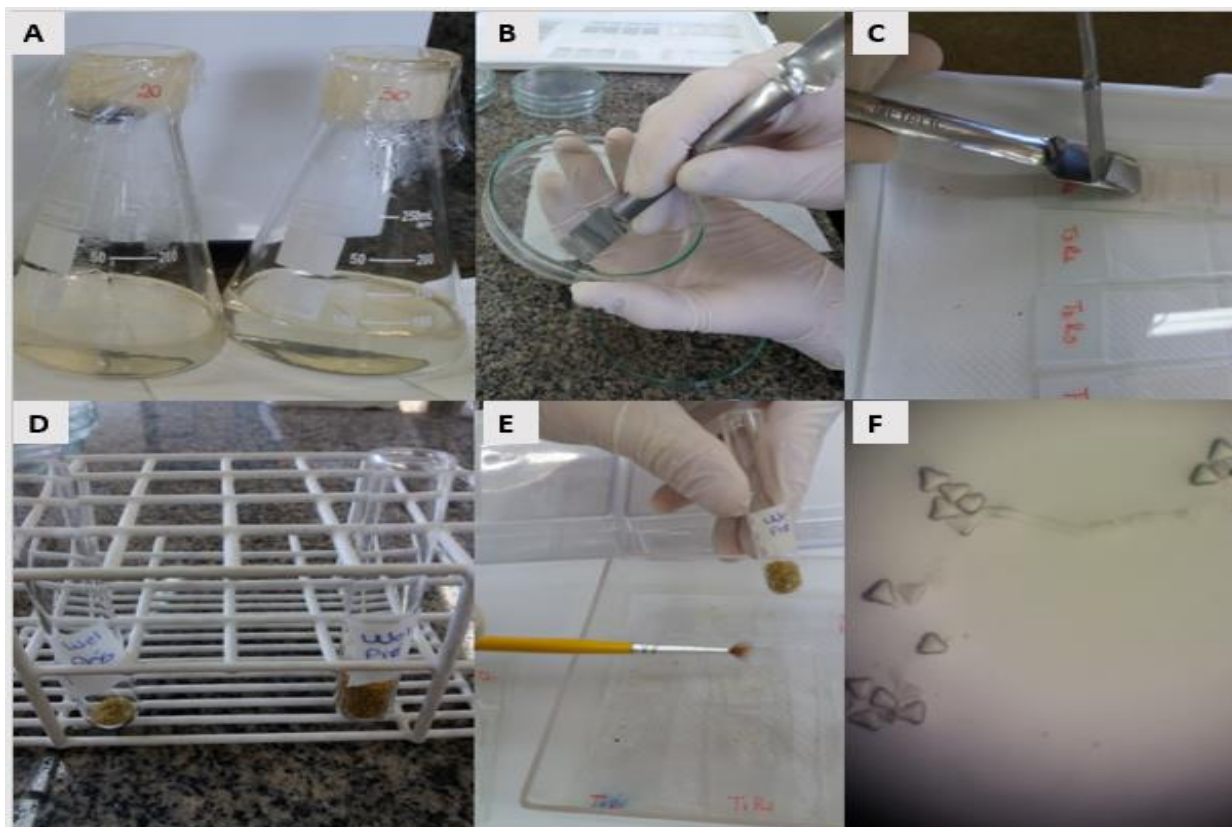


Figura 3. A) Preparo de meio de cultura. B) Corte de meio de cultura em blocos. C) Disposição de bloco de meio de cultura em lâmina. D) Anteras de pessegueiro-do-mato armazenadas em tubos de ensaio. E) Dispersão de pólen em blocos de meio de cultura. F) Leitura de germinação de pólen de pessegueiro-do-mato. Fonte: O autor (2016).

Os dados obtidos foram submetidos ao teste de normalidade (Lilliefors) e homogeneidade da variância (Bartlett). As médias observadas foram transformadas em arco seno de $\sqrt{x/100}$. Atendendo as pressuposições do modelo estes foram submetidos à análise de variância (ANOVA) para verificar a significância dos fatores e suas interações. Quando significativos, foi aplicado teste de médias Tukey a 5% de probabilidade para o fator qualitativo e análise de regressão para o fator quantitativo, utilizando-se auxílio do software Genes (CRUZ, 2013).

4.4 POLINIZADORES

4.4.1 CARACTERIZAÇÃO DE POLINIZADORES

Foram realizadas observações dos visitantes florais durante o período de floração (Figura 4.A, 4.B.). Para tal, foi escolhido duas árvores matrizes de onde foram

anotados os horários de visitas discriminadas de cada grupo de inseto (abelhas, moscas, besouros e outros).

As observações ocorreram em dias não consecutivos, no período das 5:00horas às 20:00horas durante a primavera, sendo uma observação constante (VERSIEUX et al., 2014), onde foram anotados horário de visita dos visitantes mais frequentes (SILVA & PINHEIRO, 2006; KIILL & SIMÃO-BIANCHINI, 2011).

A importância de cada visitante floral foi determinada com base no comportamento e na proporção relativa das visitas. Foram considerados polinizadores ocasionais aqueles que apresentaram visitas menos frequentes, mesmo sendo visitante legítimo aquele que realizou a polinização passando por cima de todas as estruturas florais (MATIAS & CONSOLARO, 2014).

Foi realizado registro fotográfico e alguns visitantes foram capturados, com auxílio de rede e aspirador entomológico sendo conservados em FAA (Figura 4.C.), e identificados por família e ordem (Figura 4.D.) conforme a chave existente no livro de insetos de importância econômica (KIILL, MARTINS e SILVA, 2014).



Figura 4. Observação (A-B), coleta (C) e identificação de polinizadores (D). Fonte: O autor (2016).

4.4.2 DETECÇÃO DE ESTRUTURAS DE RECONHECIMENTO POR POLINIZADORES

4.4.2.1 Luminescência

O reconhecimento da flor pelos insetos visitantes muitas vezes se faz pela reflexão dos raios ultravioleta. A análise referente à absorção e reflexão de luz ultravioleta foi realizada através de observação direta de flores frescas em câmara provida com luz ultravioleta (Figura 5) (BUCHMANN, JONES e COLIN,1977). Foi produzido uma câmara com uma caixa de papel, onde numa das extremidades foi cortado o suficiente

para passar uma mão e na outra extremidade foi fixado a lâmpada negra, na base de cima foi aberto uma janela para podermos realizar a observação e registros fotográficos, após a câmera pronta foi levado até uma sala totalmente escura onde foi realizado a observação.

4.4.2.2 Olfativo

A flor possui diversos atrativos para os insetos sendo um desses o odor liberado. Para identificar as estruturas liberadoras de odor foi separado a flor em tubos de ensaio contendo algodão umedecido no fundo e após foi separado cada tubo contendo: sépalas, pétalas, estames, pistilos e vedados com papel filme durante cinco horas. Após este período, dez voluntários aleatórios foram questionados para saber qual a parte da flor possuía odor e o que o odor lembrava e se era possível o descreveram (VERSIEUX et al., 2014).

Para a identificação do momento em que as flores exalam o odor foi conduzido “bioensaio olfativo”. Para tal, flores coletadas após a antese foram alocadas em tubo de ensaio vedados com papel filme (contendo algodão umedecido no fundo) e foram analisadas olfativamente por voluntários em intervalos horários durante 10 horas (BENEZAR & PESSONI, 2006).

5 RESULTADOS E DISCUSSÃO

5.1 FENOLOGIA

5.1.1 Fenofases

Foram observados que a antese de flores de pessegueiro-do-mato, que se inicia em horários variados ao longo da manhã começando por volta das 6:00horas (Figura 5.A.) estendendo-se até as 9:00horas (Figura 5. B, 5.C, 5.D, 5.E, 5.F.), permanecendo-se abertas por aproximadamente 48 horas (Figura 5.J). Ao longo deste período com a liberação do pólen ocorreu a senescência das mesmas e conseqüentemente a mudança de coloração para marrom escuro (Figuras 5.G, 5.H, 5.I.).

Flores de *E. uniflora*, *E. puniceifolia*, *E. rotundifolia* e *E. neonitida* possui a abertura floral começando por volta das 5h30min e se estendendo ao longo do dia (SILVA & PINHEIRO, 2006). *Myrciaria dúbia* possui abertura floral começando em torno das 5:00horas até as 7:00horas da manhã (MAUÉS & COUTURIER, 2002). Tal comparação permite visualizar que o pessegueiro-do-mato se encontra dentro da faixa já apresentada para outras Myrtaceae.

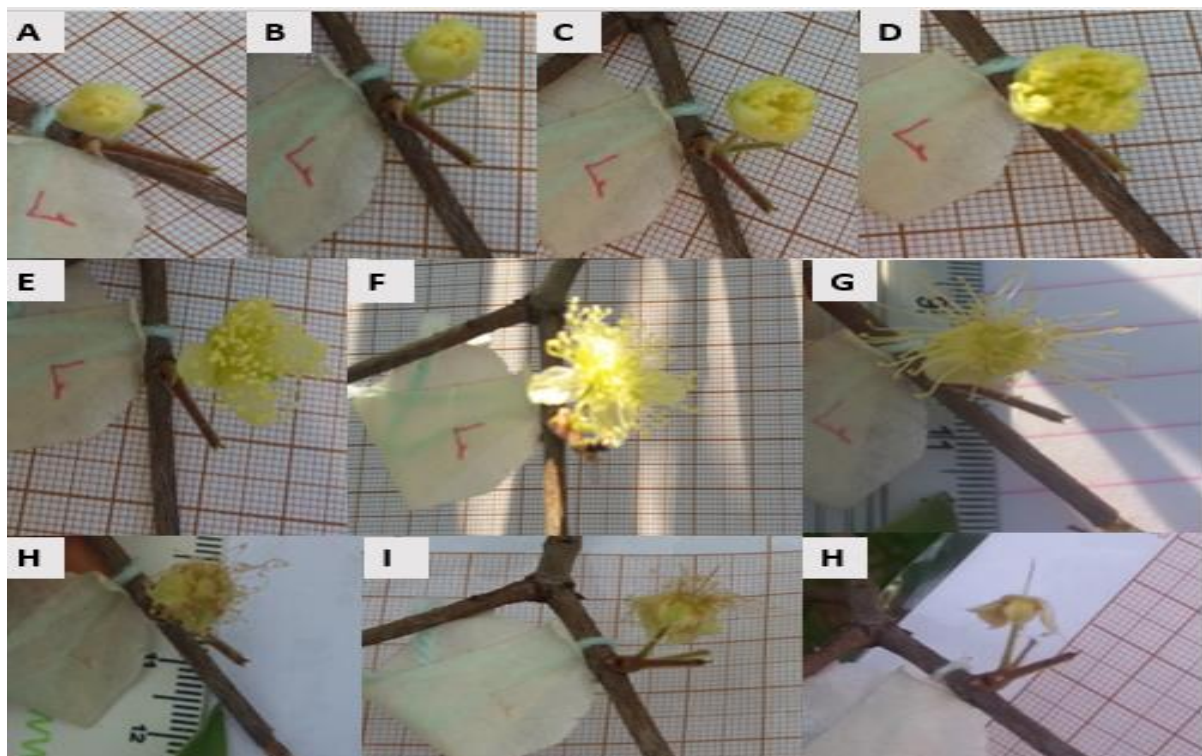


Figura 5. Abertura floral de pêssego-do-mato 6 horas da manhã (A), até as 9 horas da manhã (B, C, D, E, F), 12 horas após a abertura (G), 24 horas (H), 36 horas (I), 48 horas após a abertura (J). Fonte: O autor (2016).

5.2 CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA

Após correr a chave no livro de botânica organografia foi possível constatar que a *E. myrcianthes* possui folhas simples e incompleta, com margem inteiras, forma obtusa, limbo elíptico, borda do limbo inteira, ápice do limbo agudo, base obtusa, com disposição oposta cruzada.

A flor possui assimetria floral actinomorfa, corola dialipétalas e actinomorfas semelhante as Rosáceas, com androceu. Possui estames heterodinamos com soldadura dialistemones, cujos estames estão livres entre si, as anteras são livres, de filete simples, posição em relação a corola exertos (sobressaem na garganta do cálice/corola), flor epígina com ovário ínfero, gineceu com ovário bilocular com dois ovários por lóculo

Na pré-antese, o comprimento do botão floral atinge em média de 0,98 milímetros enquanto que na pós-antese, pela flor já ter atingido o máximo da sua abertura, ele possui 2,10 mm, com diâmetro do botão de $0,55 \pm 2,10$ mm, comprimento de pétalas de $0,67 \pm 0,92$ mm, diâmetro de pétala de $0,54 \pm 1,30$ mm, comprimento de sépala 0,42

$\pm 0,5\text{mm}$, diâmetro das sépalas $0,33 \pm 0,58 \text{ mm}$, comprimento da antera de $0,10 \pm 0,68 \text{ mm}$, comprimento do filete de $0,38 \pm 107,70\text{mm}$, comprimento do estame $0,48 \pm 0,55\text{mm}$, quantidade de estames 107, 70 e comprimento do pistilo de $0,83 \text{ mm}$. A variação encontrada na análise descritiva se dá devido ao fato de que na pré-antese a flor não está totalmente desenvolvida enquanto que na pós-antese já encontra-se totalmente aberta (Tabela 1).

Tabela 1. Estatística descritiva para as variáveis do comprimento do botão (CB), diâmetro do botão (DB), comprimento da pétala (CP), diâmetro da pétala (DP), comprimento da sépala (CS), diâmetro da sépala (DS), comprimento da antera (CA), comprimento do filete (CF), comprimento do estame (CE), quantidade de estames (QE) e comprimento do pistilo (CP) de balões e flores de pessegueiro-do-mato. UTFPR-DV, 2016.

Pré – antese											
Estatística descritiva	CB	DB	CP	DP	CS	DS	CA	CF	CE	QE	CP
Máximo	8,00	0,70	0,90	5,00	0,70	0,50	0,20	0,70	0,80	190,00	1,50
Mínimo	0,60	0,40	0,50	0,3	0,30	0,20	0,10	0,01	0,20	81,00	0,60
Média	0,98	0,55	0,67	0,54	0,42	0,33	0,10	0,38	0,48	107,70	0,83
Desvio padrão	1,18	0,06	0,08	0,45	0,05	0,05	0,01	0,12	0,12	22,27	0,13
Pós – antese											
Máximo	2,20	2,20	8,00	2,00	0,70	1,00	0,20	1,10	0,90	190,00	1,50
Mínimo	2,00	2,00	0,70	1,00	0,30	0,30	0,10	0,40	0,20	81,00	0,60
Média	2,10	2,10	0,92	1,37	0,50	0,58	0,10	0,60	0,28	107,70	0,83
Desvio padrão	0,14	0,14	0,71	0,29	0,06	0,17	1,95	0,17	0,08	22,27	0,13

5.3 GERMINAÇÃO DE PÓLEN *IN VITRO*

De acordo com a análise de variância (Tabela 2) ambos os fatores e sua interação foram significativas ao nível de 5% de probabilidade do erro, rejeitando-se assim a hipótese de nulidade H_0 . O coeficiente de variação obtido pode ser considerado baixo, mostrando bom controle experimental.

Tabela 2. ANOVA: Coeficiente de variação (CV), graus de liberdade (GL) e quadrados médios (QM) da análise de variância para a variável germinação de pólen, em experimento conduzido em DIC com oito repetições. UTFPR-DV,2016.

Causa de variação	GL	QM
Origem do pólen (A)	1	3404,02**
Concentração de sacarose (B)	4	411,15**
A X B	4	411,15**
Tratamento	9	743,69**
Erro	30	0,72
CV (%)		9,23

**Significativo em nível de 5% de probabilidade de erro pelo teste F.

A concentração de sacarose que melhor favoreceu a germinação *in vitro* de grãos de pólen de pessegueiro-do-mato coletados em pós-antese, correspondeu a 5% atingindo 42% de germinados, diferindo-se estatisticamente do meio de cultura sem sacarose e dos demais com uso deste açúcar (Tabela 3).

Tabela 3. Germinação *in vitro* de pólenes de pessegueiro-do-mato em função do momento de coleta dos botões florais e da concentração de sacarose no meio de cultura.

Origem	Sacarose (%)				
	0	5	10	20	30
Pré-antese	0,00 A*	0,00 b A	0,00 b A	0,00 b A	0,00 b A
Pós-antese	5,00 a D	42,00 a A	21,00 a B	11,75 a C	12,50 a C

*Dados não seguidos por mesma letra minúscula na coluna e maiúscula, diferem estatisticamente entre si pelo Tukey, em nível de 5% de probabilidade de erro.

Apesar da concentração de 5% de sacarose ter promovido maior percentual de germinação (42%) nos pólenes de pessegueiro-do-mato, sendo considerada baixa por Bruckner (2002), que descreveu para que pólen possa ser considerado satisfatório deve apresentar de 50% a 85% de germinação *in vitro*.

Dessa forma, outros fatores podem influenciar para maior germinação de grãos de pólen de pessegueiro-do-mato, podendo-se testar outros nutrientes e concentrações dos mesmos para o meio de cultura (boro, sacarose, cálcio, magnésio, entre outros), concentração de ágar, temperatura e tempo de incubação, período de dessecação dos grãos de pólen, entre outros.

A maturação do pólen é uma das partes de importância para o ciclo de vida das plantas (LIN & DICKINSON, 1984). Dessa forma, o que se constatou foi ausência de germinação *in vitro* de pólenes coletados em pré-antese

Segundo Franzon; Raseira e Wagner Junior (2006) a capacidade germinativa do pólen pode ocorrer somente após a deiscência do mesmo, desde que todos os fatores sejam favoráveis para que isso ocorra. Isso demonstra que para pessegueiro-do-mato somente deve-se obter pólen de flores em pós-antese.

Quando se pensa em programas de melhoramento e de suma importância realizar a coleta do pólen no período correto de maturação do mesmo, para que possa manter viabilidade e capacidade de germinar quando for levado para hibridação controlada.

5.4 POLINIZADORES

Os visitantes florais começaram a chegar por volta das 9:00horas da manhã quando a temperatura do sol começou a ficar mais elevada. Foi corrido a chave de identificação do livro insetos de importância econômica onde foi possível identificar a família dos visitantes florais de pessegueiro-do-mato sendo elas: Apidae (Figura 6.A) (Hymenoptera), com 56,25% dos visitantes. Segundo Nic Lughadha & Proença (1996) esta família é a mais comum encontrada entre os visitantes da família Myrtaceae.

Outras famílias de visitantes também foram identificadas, porém com menos frequência, dentre estas, Melyridae (Figura 6.B) (Coleóptera) com 12,5% e o restante com apenas 6,25% dos visitantes florais; Chrysopidae (Figura 6.C) (Neuroptera); Syrphidae (Figura 6.D) (Diptera); Pyrrhocoridae (Figura 6.E) (Hemíptera); Vespidae (Figura 6.F) (Hymenoptera) e Sphecidae (Figura 6.G) (Hymenoptera). Segundo Proença & Gibbs (1993), em seu trabalho eles afirmaram que o tamanho da flor está diretamente relacionado com o tamanho dos seus polinizadores.



Figura 6. Apidae (A), Melyridae (B), Chrysopidae (C), Pyrrhocoridae (D), Syrphidae (E), Vespidae (F), Sphecidae (G). Fonte: O autor (2016).

5.4.1 Luminescência

De acordo com o teste de luminescência realizado, houve reflexão de luz ultravioleta mostrando a presença de áreas de concentração de emissão de odor na região apical das anteras (Figura 7). Este resultado também foi encontrado por Bezerra & Machado (2003), quando analisou a espécie *Solanum stramonifolium* que pertencente à família Solanaceae (BEZERRA & MACHADO, 2003).



Figura 7. Reflexão de luz ultravioleta mostrando a presença de áreas de concentração de emissão de odor na região apical das anteras do pessegueiro do mato. Fonte: O autor (2016).

Isto pode ser justificado por Buchmann (1983) em sua pesquisa onde ele descreve a existência da síndrome de polinização vibrátil onde a antese é diurna, e existem áreas contratantes de emissão de odor, pois o pólen pequeno e leve.

5.4.2 Olfativo

De acordo com o teste olfativo, as flores de pessegueiro-do-mato apresentam odor característico em notas frutais levemente adocicadas.

Quando avaliadas de forma isolada, pétalas e sépalas e pistilo não possuem odor, fazendo com que se concentre basicamente nas estruturas masculinas (estames). Durante o período do teste, que teve duração de 10 horas, a fragrância se manteve estável. Resultado este que corrobora com o teste de lumiscência, o qual identificou as anteras como principal órgão secretor de fragrância.

Este fato pode ser atribuído a estratégia de perpetuação da espécie, fazendo com que seus polinizadores sejam atraídos até o órgão dispensor de pólen e através do seu caminhamento este seja depositado sobre o órgão feminino, promovendo assim a polinização.

Os estames trabalham como atrativos visuais e olfativos aos polinizadores, porém muitas vezes eles são a estrutura que possui maior destaque para as flores (NIC LUGHADHA & PROENÇA, 1996; SOUZA, 1997; MAUÉS & COUTURIER, 2002). Segundo Grifo (1992) em seu trabalho sobre *Myrcianthes* sp. ele descreveu que o aroma das flores podem ser consideradas como adocicadas ou como levemente azedas.

6 CONCLUSÕES

Com a caracterização morfológica e possível observar que após ocorrer a abertura floral as estruturas florais na sua grande maioria aumentam de tamanho.

A concentração de 5% de sacarose promoveram maior germinação de grãos de pólen de pessegueiro-do-mato coletados em pós-antese.

Os principais visitantes florais da espécie pertencem as famílias Apidae, Melyridae e Chrysopidae.

A antese de flores de pessegueiro-do-mato ocorre até aproximadamente às 9 horas, podendo permanecer aberta por até 48 horas.

As flores apresentam odor em notas frutais, levemente adocicadas, este que é secretado pelas anteras.

7. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ARMSTRONG, J.A. Biotic pollination mechanisms in the Australian flora – A review. **New Zealand Journal of Botany**. v.17. p.467-508.1979.
- BARROSO, G.M.; PERON, M.V. Myrtaceae. In: M.P.M. LIMA & R.R.G. BRUNI (orgs.). Reserva Ecológica de Macaé de Cima, Nova Friburgo: RJ. Aspectos Florísticos das Espécies Vasculares. **Jardim Botânico**. Rio de Janeiro. v.1, p.261-302.1991.
- BAWA, K.S. Plant-pollinator interactions in Tropical Rain Forests. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 21, p. 399-422, 1990.
- BEARDSSELL, D.V. O'BRIEN, S.P WILLIAMS, E.G, KNOX, R.B.; CALDER, D.M. Reproductive biology of Australian myrtaceae. **Australian Journal of Botany**, v.41, p. 511-526. 1993.
- BENEZAR, R.M. C.; PESSONI, L.A. Biologia floral e sistema reprodutivo de *Byrsonima coccolobifolia* (Kunth) em uma savana amazônica. **Acta Amazonica**, v. 36, p.159-168. 2006.
- BEZERRA, E.L.S., MACHADO, I.C. Biologia floral e sistema de polinização de *Solanum stramonifolium* Jacq. (Solanaceae) em remanescente de mata atlântica, Pernambuco. **Acta Botânica Brasileira**, v.17, p.247-257. 2003.
- BRAGA, M. F.; BATISTA, A. D.; JUNQUEIRA, N. T. V.; JUNQUEIRA, K. P.; VAZ, C. F.; SANTOS, E. C.; SANTOS, F. C. Características agrônômicas, físicas e químicas de maracujá-alho (*Passiflora tenuifila* Killip) cultivado no Distrito Federal. **IV Reunião Técnica de Pesquisas em Maracujazeiro**. Planaltina, DF: Embrapa Cerrados, p. 86-90. 2005.
- BRUCKNER, C.H. **Melhoramento de Fruteiras de Clima Temperado**. Viçosa: UFV, p.89-126, 2002.
- BUCHMANN, S. L.; JONES, C. E.; COLIN, L. J. Vibratile pollination of *Solanum douglasii* and *Solanum xantii* (Solanaceae) in Southern California. **The Wasman Journal Biology**. V.35: p.1- 25, 1977.
- BUCHMANN, S. L. Buzz pollination in Angiosperms. In: JONES, C.E.; LITTLE R.J. (Eds.). **Handbook of experimental pollination biology**., New York. p.73-113,1983.
- BÜNGER, M.O; SCALON, V.R. SOBRAL, M.; STEHMANN, J.R. Myrtaceae no Parque Estadual do Itacolomi, Minas Gerais, Brasil. **Rodriguesia**.v.63. p.857-881. 2012.
- CAMILO, Y.M.V.; SOUZA, E.R.B.; VERA, R. NAVES, R.V. Fenologia, produção e precocidade de plantas de eugenia dysenterica visando melhoramento genético. **Revista de Ciências Agrárias**. v. 36.p.192-198. 2013.

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

CLARK, J. R. Primocane-fruited blackberry breeding. **HortScience**, v. 46, p. 1637-1639, 2008.

CLEMENT, C. R. **Melhoramento de espécies nativas. In: Recursos genéticos e melhoramento – Plantas.** Fundação de apoio à pesquisa agropecuária de Mato Grosso – Fundação MT. p.423-441. 2001.

CULLEY, T. M; STEPHEN, W. S. G.; SAKAI, A. K. The evolution of wind pollination in Angiosperms. *Trends in Ecology & Evolution*, v. 17, p. 361-369, 2002.

CRUS, C.D. GENES – a software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. **Acta Scientiarum**. v.35, n.3, p.271-276, 2013.

DANNER, M. A., CITADIN, I., SASSO, S. A. Z., SACHET, M. R., AMBRÓSIO, R. Fenologia da floração e frutificação de mirtáceas nativas da floresta com araucária. Comunicação científica. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 32, p.291-295. 2010.

DANNER, M. A.; CITADIN, I.; SASSO, S. A. Z.; SCARIOT, S.; BENIN, G. Genetic dissimilarity among jaboticaba trees native to Southwestern Paraná, Brazil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v.33, p.517-525, 2011.

DARWIN, C. **A origem das espécies.** Tradução Eugênio Amado. Belo Horizonte, Vila Rica ed. Grandes Obras da Cultura Universal.1859.

DEGENHART, J.; ORTH, A.I.; GUERRA, M.P.; DUCROQUET, J.P.; NODARI, R.O. Morfologia floral da goiabeira serrana (feijoa sellowiana) e suas implicações na polinização. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v.23. p.718-721. 2001.

DOBZHANSKY, T. G. **Genetics of the Evolutionary Process.** New York: Columbia University Press, 1970.

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

FOURNIER, L. A. Un método cuantitativo para la medición de características fenológicas en árboles. **Turrialba**, v.24, p.422-423, 1974.

FRANCESCOTTO, P. **Desenvolvimento das estruturas reprodutivas da macieira (*Malus domestica* Borkh) sob diferentes condições climáticas: da formação da gema à colheita dos frutos.**293f. 2014.

FRANÇOSO, R., GUARALDO, A. DE C., PRADA, M., PAIVA, A.O., MOTA, E.H., PINTO, J.R.R. Fenologia e produção de frutos de *Caryocar brasiliense* Cambess. E *Enterolobium gummiferum* (Mart.) J.F. Macbr. Em diferentes regimes de queima. **Revista Árvore**, v. 38, p.579-590. 2014.

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

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

FRANZON, R. C.; RASEIRA, M. do C. M.; WAGNER JÚNIOR, A. Testes de germinação *in vitro* e armazenamento de pólen de pitangueira (*Eugenia uniflora* L.). **Acta Scientiarum Agronomy**, v. 29, p.251-255, 2006.

GRANT, V. **Plant speciation**. Ed. Columbia University Press.1971.

GRESSLER, E.; PIZO, M. A.; MORELLATO, P. C. Polinização e dispersão de sementes em Myrtaceae do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 29, p. 509-530, 2006.

GRIFO, F.T. Arevision of myrcianthes Berg. (Myrtaceae). PhD. Dissertation, University of Cornell, Ithaca. 1992.

GRINDELAND, J.M.; SLETVOLD, N.; IMS, R. A. Effects of floral display size and plant density on pollinator visitation rate in a natural population of *Digitalis purpurea*. **Functional Ecology**. v.19, p. 383-390, 2005.

KIILL, L. H. P., MARTINS, C. V. D., SILVA, P. P. Biologia reprodutiva de *Sideroxylon obtusifolium* (Roem. E Schult.) T.D. Penn. (Sapotaceae) na região Semiárido da Bahia. **Revista Árvore**, v. 38, p.1015-1025. 2014.

KIILL, L. H. P., SIMÃO-BIANCHINI, R. Biologia reprodutiva e polinização de *Jacquemontia nodiflora* (Desr.) G. Don (Convolvulaceae) em Caatinga na região de Petrolina, PE, Brasil. **Hoehnea**, v. 38, p.511-520. 2011.

KUARAKSA, C.; ELLIOTT, S.; HOSSAERT-MCKEY, M. The phenology of dioecious *Ficus* spp. tree species and its importance for forest restoration projects. **Forest Ecology and Management**, v. 265, p.82-93. 2011.

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

LIN, J.J.; DICKINSON, D.B. Ability of pollen to germinate prior to anthesis and effect of desiccation on germination. **Plant Physiology**, v.74, p. 746- 748.1984.

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

MARCHIORI, J. N. C.; SOBRAL, M. **Dendrologia das angiospermas: myrtales**. Santa Maria: Ed. UFSM, p.304,1997.

- MATIAS, R., CONSOLARO, H. Pollination biology of *Geissomeria pubescens* Nees (Acanthaceae) in a forest remnant in central Brazil. **Botany**, v. 92, p.215-222. 2014.
- MAUÉS, M. M., COUTURIER, G. Biologia floral e fenologia reprodutiva do camu-camu (*Myrciaria dubia* (H.B.K.) McVaugh, Myrtaceae) no Estado Pará, Brasil. **Revista Brasileira Botânica**, v. 25, p.441-448. 2002.
- MOORE, J, N; JANICK, J. **Pollen and seed management**. Methods in fruit breeding. Indiana. Purdue University Press. v.3, p.23-47. 1983.
- MICHENER, C.D. Biogeography of the bees. **Annals of the Missouri Botanical Garden**. v.66. p.277-347.1979.
- MIRANDA, P.A.; CLEMENT, C.R. Germination and storage of pejibaye (*Bactris gasipaes*) Palmae pollen. **Revista de Biologia Tropical**, San Jose, v.38, p.29-33,1990.
- NIC LUGHADHA, E.N; PROENÇA, C. A survey of the reproductive biology of the Myrtoideae (Myrtaceae). **Annals of the Missouri botanical Garden**. p.40-503. 1996.
- PATON, D.C. Honeybees in the Australian environment. Does *Apis mellifera* disrupt or benefit the native biota? **Bioscience**. v.2. p.95-103.1993.
- PFAHLER, P.L. in vitro germination and pollen tube growth of maize (*zea mays* L.) pollen: calcium e boron effects. **Canadian Journal of Botany**. v.45. p.839-845.1967.
- PROENÇA, C. E. B.; GIBBS, P. E. Reproductive biology of eight sympatric Myrtaceae from Central Brazil. **New Phytologist**, v. 126, p.343-354, 1994.
- SILVA, A.L.G.; PINHEIRO, M.C.B. Biologia floral e da polinização de quatro especies de Eugenia l. (myrtaceae). **Acta Botanica Brasil**. v.21.p.235-247.2006
- SIMPSON, B. B.; NEFF, J. Floral rewards: alternatives to pollen and nectar. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 68, p.301-322, 1981.
- SINIMBU NETO, F. A., MARTINS, A. B. G., BARBOSA, J. C. Viabilidade "*in vitro*" de grãos de pólen de bacurizeiro - Clusiaceae. **Revista Brasileira de Fruticultura**. v. 33, p. 593-600. 2011.
- SOARES, T. L., SILVA, S. O., COSTA, M. A. P. C., SANTOS-SEREJO, J. A., SOUZA, A. S., LINO, L. S. M., SOUZA, E. H., JESUS, O. N. In vitro germination and viability of pollen grains of banana diploids. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**. v. 8, p.111-118. 2008.
- STANLEY, R.G.; LINSKENS, H.F. **Pollen biochemistry management**. Berlin: Heidelberg, p.307,1974.
- STEBBINS, G.L. **Variation and Evolution in Plants**. Columbia University Press. 1950.

- TORRES, C.; GALETTO, L. Flowering phenology of co-occurring Asteraceae: a matter of climate, ecological interactions, plant attributes or of evolutionary relationships among species? **Organisms Diversity & Evolution**, v. 11, p.19. 2011.
- VAN WYK, A.E. LOWREY, T.K. Studies on the reproductive biology of Eugenia L. (Myrtaceae) in Southern Africa. **Monographs in systematic Botany from the Missouri Botanical Garden**. v. 25, p.279-293. 1988.
- VERSIEUX, L. M.; ACOSTA, A. L.; JORDAO, A. L. ; ZIDKO, A.; MAIA, U. M. . Floral biology, morphology and ecological niche modelling of *Caraipa grandifolia* (Calophyllaceae), an important Amazonian floodplain tree. *Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi. Ciências Naturais*, v. 9, p.621-638, 2014.
- VILLANUEVA, G.R. Polliniferous plants and foraging strategies of *apis melífera* (hymenoptera: Apidae) in the yacatan Peninsula, Mexico. **Revista de Biología Tropical**. v.50. p.1035-1044, 2002.
- VOGEL S. ***The role of scent glands in pollination: on the structure and function of osmophores***. New Delhi: Amerind xvi, p.20, 1990.
- WASER, N. M.; M. V. PRICE. The effect of nectar guides on pollinator preference: experimental studies with a montane herb. **A ecologia** v.67, p.121-126, 1985.
- WEISS, R. M. Floral color change: a widespread functional convergence. **American Journal of Botany**. v.82, p.167-185. 1992.