



**NATÁLIA FERREIRA SUÁREZ**

**GENETIC DIVERSITY, REPRODUCTIVE COMPATIBILITY  
AND DORMANCY BREAKING IN THE PEAR TREE  
PRODUCTION ON SUBTROPICAL REGION**

**LAVRAS - MG  
2021**

**NATÁLIA FERREIRA SUÁREZ**

**GENETIC DIVERSITY, REPRODUCTIVE COMPATIBILITY AND DORMANCY  
BREAKING IN THE PEAR TREE PRODUCTION ON SUBTROPICAL REGION**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para obtenção do título de Doutor.

Prof. Dr. Rafael Pio  
Orientador  
Dra. Paula Nogueira Curi  
Coorientadora

**LAVRAS - MG  
2021**

**Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema de Geração de Ficha Catalográfica da Biblioteca  
Universitária da UFLA, com dados informados pelo(a) próprio(a) autor(a).**

Suárez, Natália Ferreira.

Genetic diversity, reproductive compatibility and dormancy  
breaking in the pear tree production on subtropical region / Natália  
Ferreira Suárez. - 2021.

105 p. : il.

Orientador(a): Rafael Pio.

Coorientador(a): Paula Nogueira Curi.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Lavras, 2021.

Bibliografia.

1. Pyrus spp. 2. Diversidade genética. 3. Antecipação da  
produção. I. Pio, Rafael. II. Curi, Paula Nogueira. III. Título.

**NATÁLIA FERREIRA SUÁREZ**

**GENETIC DIVERSITY, REPRODUCTIVE COMPATIBILITY AND DORMANCY  
BREAKING IN THE PEAR TREE PRODUCTION ON SUBTROPICAL REGION**

**DIVERSIDADE GENÉTICA, COMPATIBILIDADE REPRODUTIVA E QUEBRA DE  
DORMÊNCIA NA PRODUÇÃO DE PEREIRAS EM REGIÃO SUBTROPICAL**

Tese apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Agronomia/Fitotecnia, área de concentração em Produção Vegetal, para obtenção do título de Doutor.

APROVADA em 29 de outubro de 2021.

Dr. José Emílio Bettiol Neto

Dr. Pedro Henrique Abreu Moura

Dra. Marinês Ferreira Pires Lira

Dra. Ana Claudia Costa

IAC

EPAMIG

UFLA

UFLA

Prof. Dr. Rafael Pio  
Orientador

**LAVRAS - MG  
2021**

*Aos meus pais Maria Adelina e José Luis por todo amor, carinho e apoio durante toda a minha trajetória, e por serem meu exemplo de vida.*

*Dedico.*

## AGRADECIMENTOS

A DEUS pelas oportunidades, força, coragem e sabedoria para enfrentar os desafios.

Aos meus pais, José Luis e Maria Adelina, sou grata pelo amor incondicional, por todos os sacrifícios, incentivos e ensinamentos durante minha trajetória, sempre me amparando e fortalecendo frente às dificuldades.

Ao meu namorado Rafael por toda paciência, carinho e companheirismo durante todo o doutorado e na execução deste trabalho.

Aos demais familiares que sempre me acompanharam e me deram todo o apoio necessário.

Aos amigos que sempre acreditaram e me incentivaram todos esses anos.

Aos amigos do Setor de Fruticultura pela parceria em todos os momentos, auxílio e empenho na condução do experimento, e por compartilharem comigo seus conhecimentos, que foram essenciais para a elaboração deste projeto.

Ao Professor Rafael Pio pela orientação, ensinamentos, apoio, confiança e amizade durante a realização deste trabalho.

Aos demais professores da Universidade Federal de Lavras que transmitiram seus conhecimentos e experiências, em especial aos professores Eduardo Alves (Laboratório de Microscopia Eletrônica e Análise Ultraestrutural) e Vânia Helena Techio (Laboratório de Citogenética) pela disponibilidade do laboratório e auxílio na realização das análises.

Ao professor Anderson Oliveira Latini que sempre me inspirou, ensinou, incentivou e ajudou durante todos esses anos de formação profissional.

Aos membros da banca, Dr. José Emílio Bettiol Neto, Dr. Pedro Henrique Abreu Moura, Dra. Marinês Ferreira Pires Lira e Dra. Ana Claudia Costa pela disponibilidade e contribuições.

Aos funcionários do Departamento de Agricultura (Setor de Fruticultura), em especial ao Evaldo pela ajuda na execução das atividades.

À Universidade Federal de Lavras e ao Programa de Agronomia/Fitotecnia pela oportunidade. Agradeço a todos os professores e servidores, em especial à Marli, secretária da Pós-Graduação, por sempre estar disposta a ajudar.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES), pela concessão da bolsa de estudos.

A todos que, direta ou indiretamente, contribuíram de alguma forma para realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos e minha eterna gratidão!

## RESUMO

A pereira (*Pyrus* spp.) é uma frutífera de clima temperado e seu cultivo é possível em regiões subtropicais devido às cultivares híbridas, obtidas pelo cruzamento entre as espécies europeias (*Pyrus communis*) e asiáticas (*Pyrus pyrifolia*). Todavia, a obtenção de cultivares adaptadas e com desempenho de alto rendimento é objetivo dos programas de melhoramento, tornando-se necessárias maiores informações sobre a cultura. A caracterização da diversidade entre as cultivares de pereiras híbridas com base em parâmetros agronômicos e morfológicos, a seleção de cultivares com menor necessidade em frio aliado ao uso de indutores de brotação e avaliações da compatibilidade entre os genótipos, são necessárias para obtenção de cultivares com altos desempenhos produtivos em regiões com invernos amenos. Assim, no primeiro experimento, objetivou-se avaliar a diversidade genética e a filogenia entre cultivares de pereiras cultivadas em condições subtropicais, através da caracterização morfológica de 66 descritores (43 variáveis multicategóricas qualitativas e 23 quantitativas). O segundo experimento objetivou-se avaliar a compatibilidade reprodutiva, o desenvolvimento de tubos polínicos, a receptividade estigmática e a viabilidade dos grãos de pólen de cultivares de pereiras em regiões subtropicais. E, no terceiro experimento, objetivou-se selecionar doses de cianamida hidrogenada (Dormex<sup>®</sup>) na quebra de dormência e brotação das gemas em cultivares de pereiras, sob condições subtropicais, através do pincelamento de ramos de 5 cultivares com Dormex<sup>®</sup> nas dosagens 0, 1, 2, 3, 4, e 5%. As técnicas multivariadas para estudo de diversidade genética demonstraram grande potencial de uso na caracterização de germoplasma de pereira, sendo que o agrupamento UPGMA indicou a existência de variabilidade genética entre as cultivares, sugerindo grupos mais dissimilares com potencial de serem utilizados em futuras hibridações. As cultivares avaliadas apresentaram receptividade estigmática durante todos os estágios de desenvolvimento reprodutivo e alta viabilidade polínica, com destaque para a cultivar ‘Shinseiki’. A cultivar ‘Seleta’ foi a mais adaptada às condições de inverno ameno, sendo o cruzamento ‘Seleta’ x ‘Shinseiki’ o qual apresentou maiores percentuais de frutificação. Após a germinação, os tubos polínicos apresentaram crescimento no estilete, com redução gradativa das porcentagens até as 72h, horário que a maioria dos tubos polínicos já demonstravam crescimento em direção ao ovário. As maiores porcentagens de pistilos com tubo polínicos alcançando o ovário foram observadas nas combinações ‘Triunfo’ x ‘Shinseiki’ e ‘Seleta’ x ‘Shinseiki’, reforçando a aptidão da cultivar ‘Shinseiki’ como doadora de grãos de pólen e a cultivar ‘Seleta’ como receptora de grãos de pólen. As pereiras europeias ‘William’s’ e ‘Packham’s Triumph’ apresentaram baixas taxas de brotação comparadas às pereiras híbridas, o que pode ser decorrente à maior exigência por horas de frio, entretanto, as maiores doses de Dormex<sup>®</sup> (4 e 5%) promoveram maior brotação das gemas em menor período de tempo. Sendo assim, a utilização de variáveis qualitativas e quantitativas permitiram a caracterização eficiente de cultivares de pereiras, visando variabilidade suficiente para seleção e utilização em futuros programas de melhoramento genético. Para a exploração comercial de pereiras em clima subtropical, a aplicação de cianamida hidrogenada e a recomendação de cultivares polinizadoras eficientes se tornam primordiais.

**Palavras-chave:** *Pyrus* spp. Diversidade genética. Filogenia. Antecipação da produção. Polinização.

## ABSTRACT

The pear tree (*Pyrus* spp.) is a fruit tree of temperate climate and its cultivation is possible in subtropical regions due to hybrid cultivars, obtained by crossing European (*Pyrus communis*) and Asian (*Pyrus pyrifolia*) species. However, obtaining adapted cultivars with high-yield performance is a breeding programs objective, making more information about the crop necessary. The diversity characterization among hybrid pear cultivars based on agronomic and morphological parameters, the selection of cultivars with less need for cold, combined with the use of sprouting inducers and compatibility evaluations between genotypes, are necessary to obtain cultivars with high productive performance in mild winter regions. Thus, in the first experiment, the objective was to evaluate the genetic diversity and phylogeny among pear cultivars cultivated in subtropical conditions, through the morphological characterization of 66 descriptors (43 qualitative and 23 quantitative multicategorical variables). The second experiment aimed to evaluate reproductive compatibility, pollen tube development, stigmatic receptivity and pollen grain viability of pear cultivars in subtropical regions. And, in the third experiment, the objective was to select doses of hydrogenated cyanamide (Dormex®) in breaking dormancy and bud sprouting in pear cultivars, under subtropical conditions, by brushing branches of 5 cultivars with Dormex® at 0, 1, 2, 3, 4, and 5% dosages. The multivariate techniques for the genetic diversity study showed great potential for use in the pear germplasm characterization, and the UPGMA grouping indicated the existence of genetic variability among cultivars, suggesting more dissimilar groups with potential to be used in future hybridizations. The evaluated cultivars showed stigmatic receptivity during all reproductive development stages and high pollen viability, especially the cultivar 'Shinseiki'. Cultivar 'Seleta' was the most adapted to mild winter conditions, with the cross 'Seleta' x 'Shinseiki' showing the highest fruiting percentage. After germination, the pollen tubes showed growth in the style, with a percentage gradual reduction until 72h, when most pollen tubes already showed growth towards the ovary. The highest percentages of pistils with pollen tube reaching the ovary were observed in the 'Triunfo' x 'Shinseiki' and 'Seleta' x 'Shinseiki' combinations, reinforcing the aptitude of the 'Shinseiki' cultivar as a pollen grain donor and the 'Seleta' cultivar as a recipient of pollen grains. European pear trees 'William's' and 'Packham's Triumph' had low sprouting rates compared to hybrid pears, which may be due to the greater requirement for cold hours, however, the higher doses of Dormex® (4 and 5%) promoted greater bud sprouting in a shorter period of time. Thus, the use of qualitative and quantitative variables allowed the efficient characterization of pear cultivars, aiming at sufficient variability for selection and use in future breeding programs. For the commercial exploitation of pear trees in a subtropical climate, the application of hydrogenated cyanamide and the recommendation of efficient pollinating cultivars are essential.

**Keywords:** *Pyrus* spp. Genetic diversity. Phylogeny. Production anticipation. Pollination.

## SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO .....	10
2	REVISÃO DE LITERATURA .....	11
2.1	Origem e importância econômica .....	11
2.2	Descrição da biologia reprodutiva .....	12
2.3	Caracterização e adaptação ao clima subtropical .....	13
2.4	Cultivares de Pereira .....	14
2.4.1	‘Cascatense’ .....	14
2.4.2	‘Centenária’ .....	14
2.4.3	‘D’água’ .....	14
2.4.4	‘Le Conte’ .....	15
2.4.5	‘Packham’s Thiumph’ .....	15
2.4.6	‘Primorosa’ .....	16
2.4.7	‘Seleta’ .....	16
2.4.8	‘Shinseiki’ .....	16
2.4.9	‘Tenra’ .....	16
2.4.10	‘Triunfo’ .....	17
2.4.11	‘William’s’ .....	17
2.5	Superação da dormência das gemas .....	17
2.6	Viabilidade de grãos de pólen .....	19
2.7	Receptividade estigmática .....	20
2.8	Hibridações e desenvolvimento de tubo polínico .....	20
	REFERÊNCIAS .....	22
	<b>ARTIGO 1 - DIVERSIDADE GENÉTICA DE CULTIVARES DE PEREIRA CULTIVADAS EM CLIMA SUBTROPICAL .....</b>	<b>28</b>
1	INTRODUÇÃO .....	30
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	31
3	RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	36
4	CONCLUSÕES .....	48
5	AGRADECIMENTOS .....	48
6	REFERÊNCIAS .....	48
	<b>ARTIGO 2 - SELEÇÃO DE CULTIVARES POLINIZADORAS PARA PEREIRAS EM CLIMA SUBTROPICAL .....</b>	<b>54</b>
1	INTRODUÇÃO .....	55
2	MATERIAL E MÉTODOS.....	56

<b>3</b>	<b>RESULTADOS.....</b>	<b>62</b>
<b>3.1</b>	<b>Caracterização e descrição da morfologia floral.....</b>	<b>62</b>
<b>3.2</b>	<b>Receptividade estigmática.....</b>	<b>64</b>
<b>3.3</b>	<b>Viabilidade dos grãos de pólen por coloração.....</b>	<b>64</b>
<b>3.4</b>	<b>Frutificação efetiva.....</b>	<b>65</b>
<b>3.5</b>	<b>Crescimento/Desenvolvimento de tubo polínico.....</b>	<b>67</b>
<b>4</b>	<b>DISCUSSÃO.....</b>	<b>75</b>
<b>4.1</b>	<b>Caracterização e descrição da morfologia floral.....</b>	<b>75</b>
<b>4.2</b>	<b>Receptividade estigmática.....</b>	<b>76</b>
<b>4.3</b>	<b>Viabilidade dos grãos de pólen por coloração.....</b>	<b>77</b>
<b>4.4</b>	<b>Frutificação efetiva.....</b>	<b>78</b>
<b>4.5</b>	<b>Crescimento/Desenvolvimento de tubo polínico.....</b>	<b>80</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSÕES.....</b>	<b>81</b>
<b>6</b>	<b>AGRADECIMENTOS.....</b>	<b>81</b>
<b>7</b>	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>81</b>
	<b>ARTIGO 3 - HYDROGENED CYANAMIDE PROMOTES DORMANCY BREAKAGE IN PEAR GROWN IN A SUBTROPICAL REGION.....</b>	<b>86</b>
<b>1</b>	<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>87</b>
<b>2</b>	<b>MATERIALS AND METHODS.....</b>	<b>89</b>
<b>3</b>	<b>RESULTS.....</b>	<b>92</b>
<b>4</b>	<b>DISCUSSION.....</b>	<b>99</b>
<b>5</b>	<b>CONCLUSION.....</b>	<b>102</b>
<b>6</b>	<b>ACKNOWLEDGMENT.....</b>	<b>102</b>
<b>7</b>	<b>BIBLIOGRAPHIC REFERENCES.....</b>	<b>103</b>

## PRIMEIRA PARTE

### 1 INTRODUÇÃO

A pereira (*Pyrus* spp.) é considerada uma frutífera de clima temperado, tendo alta necessidade de frio hibernal. O cultivo de peras no Brasil ainda é pequeno comparado às demais frutas de clima temperado, representando apenas 0,55 % do total de frutas exigentes a baixas temperaturas produzidas no país, com produção de aproximadamente 15.363 toneladas em 2020 (IBGE, 2021). A alta demanda para abastecimento do consumo interno torna o Brasil um dos maiores importadores mundiais de peras, sendo a primeira fruta mais importada pelo país (FACHINELLO et al., 2011; FAO, 2020).

A principal região produtora brasileira é o Sul do país, com destaque para o estado do Rio Grande do Sul, com 45% da produção nacional (IBGE, 2021). Todavia, a exploração das pereiras em regiões subtropicais do Brasil apresentou expansão nos últimos anos, devido ao desenvolvimento de cultivares adaptadas, obtidas através da hibridação entre pereiras asiáticas e europeias (*P. communis* x *P. pyrifolia*), as quais aliam a qualidade de frutos das peras europeias, com a menor necessidade de horas-frio, característica das pereiras de origem asiática (BARBOSA et al., 2018).

Apesar do surgimento de cultivares adaptadas a condições de inverno ameno, a baixa produção de frutos é um dos fatores limitantes para a expansão do cultivo de pereira nos trópicos (BARBOSA et al., 2018; BETTIOL NETO et al., 2014). A maioria das cultivares com potencial para plantio em regiões subtropicais foi desenvolvida pelo Instituto Agrônomo, entretanto, existem desafios para a consolidação do cultivo de pereiras em regiões com invernos amenos, a exemplo de estudos sobre a adaptabilidade dessas cultivares e aprimoramento das técnicas de cultivo, nas mais diferentes condições edafoclimáticas peculiares dessas regiões.

A obtenção de cultivares de pereira adaptadas e com desempenho de alto rendimento é objetivo dos programas de melhoramento genético, tornando-se necessário maiores informações sobre as pereiras cultivadas em climas subtropicais para avanços dos programas e das estratégias de manejo cultural. A caracterização da diversidade entre as cultivares de pereiras híbridas com base em parâmetros agronômicos e morfológicos, a seleção de cultivares com menor necessidade em frio aliado ao uso de indutores de brotação e avaliações da compatibilidade entre os genótipos são necessárias para obtenção de cultivares com alto desempenho produtivo em regiões com invernos amenos.

Assim, objetivou-se com este trabalho, avaliar a diversidade genética e a filogenia entre cultivares, compreender a biologia floral e a compatibilidade reprodutiva entre cultivares de pereiras, sob condições subtropicais, e a seleção de doses de cianamida hidrogenada (Dormex<sup>®</sup>) na quebra de dormência e brotação das gemas.

## 2 REVISÃO DE LITERATURA

### 2.1 Origem e importância econômica

As pereiras são pertencentes à família Rosaceae, subfamília Maloideae, gênero *Pyrus*, e compreendem mais de 20 espécies, nativas da Europa e Ásia. Segundo Vavilov (1951), a pereira possui três centros de origem, sendo eles: China (*P. pyrifolia* e *P. ussuriensis*); Oriente Médio (centro de origem primário da espécie *P. communis*); e Ásia (centro de origem secundário da *P. communis*).

A produção mundial de peras, em 2019, foi de 23.919.075 toneladas em uma área colhida de 1.379.387 hectares (FAO, 2020). O maior produtor mundial de peras é a China, com produção de 17.091.032 toneladas e área colhida de 956.166 hectares (71,45% da produção mundial), seguido pelos Estados Unidos com 661.340 toneladas e Argentina com 595.427 toneladas. A produção brasileira de peras em 2020 foi de 15.363 toneladas em área total de 1.078 hectares, representando apenas 0,064% da produção mundial, sendo os principais estados produtores no Brasil, o Rio Grande do Sul (6.913 t), Santa Catarina (5.090 t), Paraná (1.485 t), Minas Gerais (1.235 t) e São Paulo (640 t) (IBGE, 2021).

Em 2016, o Brasil importou 146 mil toneladas de pera, totalizando aproximadamente US\$ 143 milhões, sendo um dos maiores países importadores do mundo. Os maiores fornecedores de peras para o Brasil foram a Argentina e Portugal com cerca de 90% de todo volume importado (BRASIL, 2018). O cultivo de pereiras no Brasil ainda é pequeno, em relação às outras frutíferas de clima temperado, representando apenas 0,65 % do total deste tipo de frutas produzido no país (FACHINELLO et al., 2011). As dificuldades para expansão do cultivo no país estão relacionadas à baixa qualidade das frutas de pereiras cultivada no Brasil, principalmente, pela falta de cultivares adaptadas às diversas condições climáticas.

Apesar de tratar-se de uma espécie de clima temperado, o cultivo de pereiras em regiões subtropicais foi possibilitado pelas cultivares híbridas obtidas através do cruzamento entre *P. communis* x *P. pyrifolia* (CURI et al., 2017), aliando a qualidade das pereiras europeias (*P.*

*communis*) com a baixa exigência em horas de frio pelas pereiras asiáticas (*P. pyrifolia*). Entretanto, a baixa frutificação ainda é um dos fatores limitantes para a expansão das safras de pereira em regiões subtropicais (BETTIOL NETO et al., 2014).

## 2.2 Descrição da biologia reprodutiva

As pereiras são plantas de porte arbustivo, copa em formato piramidal, que podem alcançar até 20 metros de altura. As folhas são comumente caducifólias, crenadas, lobuladas ou inteiras e serradas. As principais estruturas de frutificação são denominadas de brindilas e esporões. As brindilas consistem em ramos finos (5 cm a 25 cm de comprimento), que podem apresentar uma gema floral na extremidade (capacidade de formação de flores mais desenvolvidas, que originarão frutos de grande calibre), e os esporões são estruturas que compreendem um conjunto de bolsas, dardos e lamburdas que constituem uma formação característica, com dois anos ou mais (MARCON FILHO et al., 2012).

Possuem gemas vegetativas e mistas, sendo que, a gema vegetativa é pontiaguda e pequena, e dará origem aos ramos e folhas, enquanto as gemas mistas apresentam estruturas vegetativas e reprodutivas (apresentam maior tamanho, formato mais arredondado, e originarão as flores) (BETTIOL NETO; PIO, 2014).

As flores são monóicas, compostas por cinco sépalas e cinco pétalas, geralmente brancas e raramente rosadas (JACKSON, 2003; LORENZI, 2006). O gineceu é sincárpico e pentacarpelar, o conjunto de estigma e estilete são morfológicamente individualizados entre si na porção apical e média e fundidos na base. O ovário é ínfero constituído de cinco lóculos, contendo dois óvulos cada, de placentação axilar.

O órgão masculino da flor é formado pelo conjunto de estames em número maior que o dobro das pétalas, com um filete livre que se une ao conectivo na região dorsal da antera (dorsifixo). A antera é intorsa (voltada para o centro da flor), apresenta deiscência longitudinal, e é composta por duas tecas (diteca), onde se localizam os sacos polínicos e são formados os grãos de pólen (JACKSON, 2005).

A maioria das cultivares de pereira apresenta incompatibilidade gametofítica, e/ou parcialmente autoestéreis, podendo desenvolver frutos sem sementes quando autofecundadas, fenômeno conhecido como partenocarpia estimulativa (HOFFMANN, 2003). Os frutos são do tipo pomo, resultado da fusão entre o cálice e o receptáculo ou simplesmente o engrossamento do receptáculo. O endocarpo ou fruto verdadeiro, onde se encontram as paredes dos lóculos, é cartilaginoso ou escamoso, e as sementes são pequenas e de coloração preta (BETTIOL NETO;

PIO, 2014). As epidermes dos frutos de pera possuem coloração superficial verde amarelado, podendo apresentar partes avermelhadas de intensidade variável, e a polpa é branca com tendência ao creme (MUNIZ et al., 2012).

Avaliações dos aspectos morfométricos das plantas são importantes, visando maior conhecimento das relações entre as estruturas. Segundo Verissimo et al. (2004), o comprimento das inflorescências permite diferenciar as cultivares de pereira quanto à época de retomada do desenvolvimento floral, constatando que, plantas com inflorescências maiores estão relacionadas a cultivares com comportamento de desenvolvimento fenológico precoce.

### **2.3 Caracterização e adaptação ao clima subtropical**

O cultivo de pereiras no Brasil ainda é baixo em relação às outras frutíferas de clima temperado e o país se enquadra como um dos maiores importadores dessa fruta, devido à alta demanda para abastecer o consumo interno (FACHINELLO et al., 2011). A quantidade restrita de cultivares adaptadas às condições de clima tropical e subtropical limita a expansão do cultivo, onerando o baixo rendimento em produtividade de pereira no Brasil (BETTIOL NETO et al., 2014). O aumento dos plantios de pera no país depende do surgimento de novas cultivares e maiores estudos sobre características e manejo das plantas, garantindo altas e uniformes produtividades em condições edafoclimáticas com temperaturas mais elevadas (FACHINELLO et al., 2011).

São escassas as regiões com quantidade de frio hibernal suficiente para o cultivo de pereiras no Brasil (FAORO; ORTH, 2011), tornando necessário o conhecimento da estrutura floral (morfologia floral; quantidade, qualidade e viabilidade dos grãos de pólen; receptividade estigmática; horário e período de abertura floral, dentre outras) desta espécie em regiões de clima tropical e subtropical, pois, constitui-se a base para o desenvolvimento de técnicas de melhoramento genético (SOARES et al., 2010).

No Brasil, pesquisas têm visado o melhoramento genético de pereira, objetivando a seleção e/ou criação de cultivares-copa e porta-enxertos adaptadas às condições edafoclimáticas das regiões produtoras, além de um alto grau de compatibilidade entre elas (DE OLIVEIRA et al., 2011). As peras híbridas são as mais plantadas no Brasil, e as principais cultivares são: Carrick, Garber, Le Conte, Tenra Primorosa, Seleta, Smith, Triunfo e Cascatense (GONÇALVES, 2008).

As peras híbridas são as mais adaptadas ao clima subtropical, conhecidas também como peras rústicas, por aliarem a qualidade de frutos das peras europeias, com a menor demanda de

horas-frio, característica das pereiras de origem asiática. A maior parte das cultivares com potencial para regiões subtropicais foram desenvolvidas pelo Instituto Agrônomo de Campinas (BETTIOL NETO et al., 2014). Todavia, apesar da existência de cultivares adaptadas a regiões de clima subtropical, o estabelecimento de uma produção satisfatória é desafiador, devido à falta de estudos a respeito do sistema reprodutivo das mesmas (CURI et al., 2017).

A baixa frutificação efetiva é um dos principais fatores limitantes para a expansão dos cultivos de pereiras em regiões subtropicais (BETTIOL NETO et al., 2014). A polinização cruzada para a cultura é imprescindível para produção satisfatória de frutos, porém, não existem recomendações de cultivares polinizadoras para as regiões subtropicais, sendo este, outro importante gargalo para a baixa frutificação efetiva observada (BETTIOL NETO et al., 2014).

## **2.4 Cultivares de Pereira**

### **2.4.1 ‘Cascatense’**

Cultivar híbrida, obtida pelo cruzamento entre as cultivares ‘Packham’s Triumph’ e ‘Le Conte’ pela Embrapa Clima Temperado. Apresentam vigor médio, com copas semiabertas, frutos de tamanho médio (120g a 220g), com formato piriforme e epiderme fina, de coloração amarela-esverdeada a amarela, com pouco *russeting* na região peduncular. Polpa branca, suculenta, e com aroma moderado (BETTIOL NETO; PIO, 2014).

### **2.4.2 ‘Centenária’**

Cultivar originada do cruzamento entre as cultivares ‘Hood’ x ‘Packham’s Triumph’ pelo Instituto Agrônomo (IAC). Apresenta exigência moderada ao frio (cerca de 150 horas), com plantas de alto vigor, enfolhamento abundante de folhas pequenas e bem distribuídas. Os frutos são médios (220 a 250 g), de formato oblongo piriforme a piriforme-achatados, com película lisa e resistente, de coloração verde-clara a amarela e nuances rosadas em frutos maduros (BETTIOL NETO; PIO, 2014).

### **2.4.3 ‘D’água’**

Constituída de diferentes materiais clonais selecionados de diferentes origens. As denominações variam em função da região onde esses clones apresentaram características

desejáveis de produção e qualidade dos frutos, despertando atenção dos produtores que os multiplicaram, ao longo dos anos. De forma geral, são plantas com hábito de crescimento ereto, vigorosas e com ramificação e folhagem abundante. Apresentam elevada produção de frutos de tamanho médio, com formato oblongos-piriforme, polpa firme de coloração esbranquiçada, crocante e sucosa, com tendência a farinar no decorrer da maturação. Possuem pedúnculos compridos, grossos e com inserção saliente no ápice (BETTIOL NETO; PIO, 2014).

#### **2.4.4 ‘Le Conte’**

A cultivar foi selecionada nos Estados Unidos, apresentando bom desenvolvimento e ótima produtividade. Possui frutos de tamanho médio, coloração verde-amarelada com pontuações marrons, e pedúnculo comprido conferindo um formato de trompa. Apresentam película grossa, resistente e unida ao mesocarpo, com polpa branca, macia e de sabor agradável (BETTIOL NETO; PIO, 2014).

#### **2.4.5 ‘Packham’s Triumph’**

Cultivar pertencente ao grupo das pereiras europeias (*Pyrus communis*), resultante do cruzamento entre ‘Uvedale St. German’ x ‘William’s’. Trata-se da cultivar com maior desempenho produtivo na região Sul do Brasil nos últimos anos. Apresenta vigor e porte ereto, com folhas pequenas e escassas. Os frutos são considerados médios a grandes (massa média de 250g), de formato piriforme e com contornos irregulares, epiderme delgada e de coloração verde-amarelada, com *russeting* de intensidade média, polpa de coloração creme-clara, succulenta e adocicada, com aroma moderado e alta qualidade (EMBRAPA, 2007). A ocorrência acentuada de *russeting* deprecia a epiderme e desvaloriza o produto no momento da comercialização, sendo considerado um dos maiores problemas observados no cultivo das pereiras ‘Packham’s Triumph’ no Sul do Brasil (PERAZZOLO, 2008).

É uma cultivar que se adapta bem em regiões de inverno ameno, com uma necessidade de acúmulo de 150h de frio para um bom florescimento e frutificação, sendo a principal cultivar utilizada nos programas de melhoramento no Brasil para obtenção de cultivares híbridas (BETTIOL NETO; PIO, 2014). Além disso, é a cultivar que tem apresentado a maior e mais estável produtividade nos últimos anos em cultivo no Sul do Brasil (BRIGHENTI, 2010), apesar das perdas significativas por abortamento de gemas florais (PERAZZOLO, 2008).

#### **2.4.6 ‘Primorosa’**

Resultante do cruzamento entre ‘Hood’ x ‘Packham’s Triumph’, realizado pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), a cultivar apresenta razoável adaptação às condições subtropicais, necessitando de aproximadamente 80 horas de frio para seu florescimento e frutificação. Apresenta bom vigor e produtividade, frutos de tamanho médio (180 a 220g), com formato ovoide piriforme e pedúnculo longo. A película é lisa, resistente e de coloração variando do verde-clara a amarelada, com pequenas pontuações claras. A polpa é branca, doce, tenra, suculenta, com pequenos grânulos arenosos, e sabor suave (BETTIOL NETO; PIO, 2014).

#### **2.4.7 ‘Seleta’**

Obtida pelo mesmo cruzamento da cultivar ‘Primorosa’ (‘Hood’ x ‘Packham’s Triumph’) pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), a cultivar ‘Seleta’ apresenta excelente adaptação a condições de inverno ameno e alto desempenho em regiões frias, com exigência de aproximadamente 80 horas de frio. A cultivar apresenta produção precoce, com frutos de tamanho médio (150 a 200 g) e formato oblongo-piriforme, com película fina e lisa de coloração verde-clara e pontuações esparsas. A polpa é delicada, aromática e tenra, com sabor doce acidulado (BETTIOL NETO; PIO, 2014).

#### **2.4.8 ‘Shinseiki’**

Cultivar asiática, originária do Japão, e proveniente do cruzamento entre ‘Nijisseiki’ x ‘Chojuro’. Trata-se de uma planta com alto vigor, que possui frutos de tamanho médio a grande, formato globular a oblata e epiderme de coloração amarela. A polpa apresenta cor branca, com textura crocante e suculenta (NAKASU; FAORO, 2003).

#### **2.4.9 ‘Tenra’**

Cultivar desenvolvida pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC), resultante do cruzamento entre ‘Madame Sieboldt’ e ‘Packham’s Thiumph’. Possui adaptação em condições de inverno ameno, exigindo cerca de 80 horas de frio. As plantas apresentam vigor médio, são rústicas e com produtividade regular. Os frutos são considerados pequenos a médios (150 a

180g), de formato globoso-piriforme e muito irregulares, com epiderme de coloração verde-escura, espessa e resistente, com pontuações salientes. A polpa é caracterizada como firme, pouco succulenta e doce (BETTIOL NETO; PIO, 2014).

#### **2.4.10 ‘Triunfo’**

Originada através do cruzamento entre ‘Hood’ x ‘Packham’s Triumph’, a cultivar foi lançada pelo Instituto Agrônomo (IAC), em 1972. Trata-se de uma cultivar de hábito ereto, exigente no manejo cultural e fitossanitário, devido ao alto vigor e crescimento acelerado. Os frutos são médios (180 a 250g), de formato oblongo piriforme, com película espessa, e de coloração verde-escura com pontuações nítidas e salientes. A polpa é firme, granulada e de sabor doce-acidulado. (BETTIOL NETO; PIO, 2014).

#### **2.4.11 ‘William’s’**

Trata-se da cultivar mais produzida para consumo *in natura* e processamento nos Estados Unidos (MACHADO et al., 2012) e na Argentina, correspondendo à 35% da produção de peras (BENÍTEZ, 2001) e a mais consumida no Brasil.

É uma cultivar bastante precoce em relação à sua entrada em produção, sem alternância de produção e que apresenta altas produtividades, sendo necessárias de 900 a 1000 horas de frio (HF) para uma produção satisfatória (BRIGHENTI, 2012). Apresenta vigor médio, crescimento ereto e moderada resistência à entomosporiose (EMBRAPA, 2007).

Na região Sul do Brasil, em pomares de pereiras ‘William’s’, a cultivar ‘Packham’s Triumph’ tem sido recomendada como polinizadora (LUZ et al., 2012). Entretanto, em regiões de maior altitude, a época de floração das cultivares não coincide, sendo a cultivar ‘Packham’s Triumph’ mais precoce (WREGGE et al., 2006).

Seus frutos são piriformes, de tamanho intermediário a grande, com massa média de 230 g a 235 g. A epiderme é fina e lisa, com coloração verde a amarela, podendo apresentar tonalidade avermelhada na face exposta ao sol. A polpa é branca, fina, succulenta e doce. O pedúnculo apresenta comprimento e espessura medianos, consistência parcialmente lenhosa e inserção oblíqua sobre o fruto. (EMBRAPA, 2007; MACHADO et al., 2012).

## **2.5 Superação da dormência das gemas**

As frutíferas naturalmente adaptadas a clima temperado possuem um mecanismo de resistência ao frio, denominado dormência, no qual a planta suspende temporariamente seu crescimento vegetal. A dormência é o mecanismo que as plantas de clima temperado utilizam para proteger o tecido vegetal, que é sensível a condições de baixas temperaturas, principalmente as negativas (CAMPOY et al., 2011). Assim, a superação da dormência é o maior desafio para o cultivo de frutíferas de clima temperado em regiões com invernos amenos (EREZ, 2003), sendo a temperatura o principal fator que controla a entrada e saída da dormência. Quando cultivares de pereiras europeias são cultivadas em regiões com invernos amenos, estas plantas tendem a apresentarem maiores períodos para a brotação, floração e crescimento vegetativo comparadas às estabelecidas em locais com quantidade adequada de horas de frio para a superação de dormência (DUSSI, 2010).

Por pertencer ao grupo das frutíferas de clima temperado, as pereiras (*Pyrus* spp.) necessitam de um número adequado de horas de frio (HF) com temperaturas iguais ou inferiores a 7,2°C para que as plantas atinjam bom desenvolvimento vegetativo e produtivo (RUFATO et al., 2011), e quando esse requerimento não é satisfeito, as plantas exibem elevada heterogeneidade na brotação e no florescimento, manifestada temporalmente e espacialmente (HAWERROTH, 2010). A indução floral é influenciada por diversos fatores, sendo o genótipo, a temperatura, o comprimento do dia, as condições fisiológicas da planta e a ação endógena e exógena de fitorreguladores, as mais importantes (LUZ et al., 2012).

As pereiras europeias necessitam de um acúmulo entre 1.200 e 1.800 HF para indução da brotação e produção uniforme (EMBRAPA, 2007), enquanto a maioria das cultivares híbridas, desenvolvidas no Brasil necessitam de 300 a 1100 HF (BRIGHENTI, 2012). Sendo assim, a expansão do cultivo das pereiras em regiões subtropicais só foi possível devido a obtenção de cultivares híbridas, a partir do cruzamento entre *P. communis* x *P. pyrifolia* (CURI et al., 2017). Apesar disso, a baixa frutificação efetiva atrelada a desuniformidade da brotação das gemas é um dos fatores limitantes para a expansão dos cultivos de pereiras em regiões com invernos amenos (BETTIOL NETO et al., 2014).

A adoção do uso de fitorreguladores visando uma brotação satisfatória e uniforme das gemas tem sido realizada em diversas frutíferas temperadas cultivadas em regiões que não atendem o acúmulo de horas de frio exigido para a saída da dormência. O conhecimento da necessidade de horas de frio de cada cultivar para a superação da dormência auxilia na tomada de decisão quanto à necessidade de aplicação de produtos indutores de brotação (ANZANELLO et al., 2018).

Os produtos indutores de brotação são utilizados com a finalidade de compensar a ausência de acúmulo de horas de frio, mas apresentam resposta para a superação da dormência somente se um percentual mínimo de frio necessário for atendido previamente (PIO et al., 2018). A utilização de óleo mineral (3,00% a 4,00%) e cianamida hidrogenada (0,25% a 0,50%) é o mais recomendado (PETRI et al., 2003). A técnica é consolidada para atenuar a escassez de horas de frio e proporcionar a quebra de dormência das gemas e uma brotação uniforme (CHEN & BECKMAN, 2019). No entanto, as respostas das frutíferas de clima temperado são variáveis entre as cultivares e regiões de cultivo e dependem da concentração química dos indutores e do tempo de aplicação (KUROKI et al., 2013).

## **2.6 Viabilidade de grãos de pólen**

A análise da viabilidade dos grãos de pólen dos progenitores coletados em campo é condição preliminar indispensável para se iniciar os cruzamentos (CHAGAS et al., 2010), com aumento das chances de sucesso, uma vez que a viabilidade dos grãos de pólen é um fator crucial para a frutificação efetiva, com influência direta na produtividade (IRENAEUS; MITRA, 2014).

A avaliação da viabilidade dos grãos de pólen é de suma importância para a realização das hibridações, devendo apresentar taxas de 50% a 70% de germinação para as cultivares serem recomendadas como polinizadoras (GONÇALVES, 2008), com pólen viável em quantidade e qualidade adequadas para garantir uma produção satisfatória de frutos (BETTIOL NETO et al., 2014).

O sucesso durante o período de formação das sementes depende da viabilidade polínica (HE et al., 2017), e, portanto, processos de polinização e/ou qualidade de pólen deficientes, prejudicam a fertilização do óvulo, provocando aborto ou malformação das sementes, resultando em um maior número de lóculos vazios no pericarpo (NAVA et al., 2009), com efeitos diretos na formação dos frutos.

Em condições de campo, os grãos de pólen apresentam baixa longevidade, permanecendo viáveis por um curto período de tempo, pois são pouco resistentes a condições adversas, como: temperaturas elevadas, alta umidade e alta intensidade luminosa (IRENAEUS & MITRA, 2014). Sendo assim, avaliações da viabilidade polínica anteriormente às hibridações se tornam importantes.

A avaliação dos grãos de pólen pode ser realizada por vários métodos, sendo os com a utilização de corantes, germinação *in vitro* e germinação *in vivo*, os principais (DE PAULA et

al., 2015). A avaliação da germinação de pólen *in vivo* é um processo demorado e de maior custo, que envolve a realização de cruzamentos em campo e, com posterior monitoramento das taxas de frutificação (NOGUEIRA et al., 2015). Sendo assim, métodos como a avaliação da viabilidade polínica por meio de coloração ou germinação *in vitro* são alternativas interessantes na tentativa de reduzir custos e tempo, além de auxiliar na tomada de decisões (SILVA et al., 2020).

## **2.7 Receptividade estigmática**

A receptividade estigmática é fundamental na determinação do melhor período para transferência dos grãos de pólen para a flor (BRITO et al., 2010).

As pereiras apresentam estigmas úmidos (SANZOL et al., 2003) e a receptividade estigmática implica na produção de exsudatos ricos em proteínas, aminoácidos livres, lipídios e carboidratos, que estabelecem um ambiente adequado para a hidratação do pólen, com consequente germinação e crescimento inicial do tubo polínico (EDLUND et al., 2004).

O período de receptividade estigmática é individual em cada carpelo, ocorrendo de forma sequencial, fenômeno denominado receptividade assíncrona. Sendo assim, apesar da duração da receptividade estigmática individual de cada carpelo ser muito curta, em conjunto, as flores apresentam um longo período de receptividade (SANZOL et al., 2003).

A receptividade estigmática em vários estágios de desenvolvimento reprodutivo favorece as hibridações controladas nos programas de melhoramento, uma vez que, flores receptivas em estágio de pré-antese, permitem que as hibridações controladas sejam realizadas com a garantia de que não houve contaminação de grãos de pólen diferentes dos materiais selecionados (ZAMBON et al., 2018). Todavia, é recomendada a escolha de botões florais mais próximos à antese, visto que, embora o estigma esteja receptivo, somente próximo à fase de antese das flores, a transmissão do estilete começará a quebrar o amido e, fornecer, consequentemente, nutrientes para o desenvolvimento do tubo polínico (SUÀREZ et al., 2012).

## **2.8 Hibridações e desenvolvimento de tubo polínico**

A exploração de pereiras em condições de inverno ameno vem aumentando (BETTIOL NETO et al., 2014; OLIVEIRA et al., 2015), requisitando a obtenção de cultivares adaptadas e que apresentem alto desempenho produtivo.

Entre os métodos de melhoramento utilizados para obtenção de novos genótipos adaptados às diferentes condições edafoclimáticas está a hibridação. A principal finalidade é a obtenção de populações segregantes, que permitirá a seleção de indivíduos superiores. As hibridações podem ser intraespecíficas (entre grupos de uma mesma espécie) ou interespecíficas (entre espécies diferentes), objetivando introduzir genes ausentes na espécie de interesse (SCHIFINO-WITTMANN; DALL'AGNOL, 2002).

O conhecimento das características morfológicas, anatômicas e fisiológicas das flores das cultivares disponíveis, são imprescindíveis na seleção dos progenitores superiores escolhidos para serem manipulados nas hibridações, assim como a viabilidade dos grãos de pólen e a receptividade estigmática (CHAGAS et al., 2010).

Para que a hibridação seja bem sucedida, estudos de compatibilidade entre os genótipos são necessários (ZHANG et al., 2009), consistindo em uma das principais barreiras para os programas de melhoramento genético na obtenção de novas cultivares de frutíferas (BANDEIRA et al., 2011).

As pereiras possuem autoincompatibilidade gametofítica, decorrente da presença do mesmo alelo-*S* nos grãos de pólen e nos estigmas, (SCHIFINO-WITTMANN; DALL'AGNOL, 2002), ou seja, suas flores possuem a capacidade de rejeitar o seu próprio pólen e de promover o cruzamento. Esta autoincompatibilidade observada, torna a cultura dependente da polinização cruzada para uma frutificação efetiva, sendo recomendado o plantio intercalar de duas a três cultivares de pereira, para que ocorra a transferência de grãos de pólen e consequente polinização, atentando-se para que as cultivares apresentem compatibilidade gametofítica, sincronia floral e qualidade de frutos (GOLDWAY et al., 2012; GARRATT et al., 2014). Além disso, a cultivar polinizadora deve produzir pólen viável em quantidade e qualidade adequadas (BETTIOL NETO et al., 2014).

Visto isso, a identificação da compatibilidade entre cultivares é de grande importância econômica, visando altas produtividades (TATARI et al., 2017). As avaliações de compatibilidade requerem hibridações controladas a campo, combinadas com análises laboratoriais com o intuito de avaliar a viabilidade dos grãos de pólen e a receptividade estigmática *in vivo* (DE PAULA et al., 2015). Em concomitância, técnicas de microscopia permitem analisar a taxa de crescimento do tubo polínico (germinação dos grãos de pólen), tornando possível avaliar possíveis hibridações efetivas, e as características referentes a compatibilidades e/ou incompatibilidades existentes (BANDEIRA et al., 2011).

O desenvolvimento do tubo polínico depende da receptividade estigmática. No momento em que ocorre receptividade estigmática, os estigmas se tornam úmidos promovendo

a hidratação polínica, essencial para a germinação dos grãos de pólen e o desenvolvimento do tubo polínico (EDLUND et al., 2004). Entretanto, quando a fertilização é deficiente, o tecido do receptáculo adjacente ao lóculo onde não ocorreu o desenvolvimento de sementes viáveis se deforma, comprometendo o volume e a qualidade do fruto produzido (LUZ et al., 2012).

Além da compatibilidade, os fatores ambientais e a nutrição também podem influenciar no sucesso da frutificação efetiva e na germinação *in vivo*. O fornecimento inadequado de nutrientes pode provocar redução de produtividade, devido à menor fixação dos frutos, principalmente em relação aos nutrientes cálcio e boro, que estão diretamente relacionados com o desenvolvimento do tubo polínico (LAVIOLA; DIAS, 2008).

## REFERÊNCIAS

ANZANELLO, R.; FIALHO, F. B.; SANTOS, H. P. Chilling requirements and dormancy evolution in grapevine buds. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 42, n. 4, p. 364-371, 2018.

BANDEIRA, J. M.; THUROW, L. B.; PETERS J. A.; RASEIRA, M. C. B.; BIANCHI, V. J. Caracterização fisiológica da compatibilidade reprodutiva de ameixeira japonesa. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v.46, p. 860-867, 2011.

BARBOSA, C. M. A.; PIO, R.; SOUZA, F. B. M.; BISI, R. B.; BETTIOL NETO, J. E.; FARIAS, D. H. Phenological evaluation for determination of pruning strategies on pear trees in the tropics. **Scientia Horticulturae**, v. 240, p.326-332, 2018.

BENÍTEZ, C. E. **Cosecha y poscosecha de peras y manzanas en los valles irrigados de la Patagonia**. General Roca: Instituto Nacional de Tecnología Agropecuaria (INTA), 2001. 126 p.

BETTIOL NETO, J. E.; PIO, R. Cultivo da pereira. *In*: PIO, R. **Cultivo de fruteiras de clima temperado em regiões subtropicais e tropicais**. Lavras: UFLA, 2014. p. 123-157.

BETTIOL, NETO J. E.; CHAGAS, E. A. C.; SANCHES, J.; PIO, R.; ANTONIALI, S.; CIA, P. Produção e qualidade pós-colheita de cultivares de pereira nas condições subtropicais da região leste paulista. **Ciência Rural**. v. 44, n. 10, 2014.

BRASIL. Ministério do Desenvolvimento, Indústria e Comércio Exterior. Secretaria de Comércio Exterior. **Balança comercial brasileira**. Brasília, 2018.

BRIGHENTI, A. F. et al. Reguladores de crescimento e o aumento da frutificação efetiva da pereira Packham's Triumph no Sul do Brasil. *In*: REUNIÃO TÉCNICA DA CULTURA DA PEREIRA, 3, 2010, Lages. **Anais [...]** Lages: CAV-UDESC, 2010. p. 63-69.

BRIGHENTI, A. F.; LUZ, A. R.; RUFATO, L. Reguladores de crescimento. *In*: RUFATO, L.; KRETZCHMAR, A. A.; BOGO, A. (Coord.). **A Cultura da pereira**. Florianópolis: DIOESC, 2012. p. 54-69.

BRITO, A. C.; SOUZA, J. D.; REBOUCAS, T. N. H.; AMARAL, C. L. F. Propriedades do pólen e do estigma de *Ocimum basilicum* L. (cultivar Maria Bonita) para aumentar a eficiência de cruzamentos em programas de melhoramento. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, v. 12, n. 2, p. 208-214, 2010.

CAMPOY, J. A.; RUIZ, D.; EGEEA, J. Dormancy in temperate fruit trees in a global warming context: A review. **Scientia Horticulturae**, v. 130, n. 2, p. 357-372, 2011.

CHAGAS, E. A.; PIO, R.; CHAGAS, P. C.; PASQUAL, M.; BETTIOL NETO, J. E. Composição do meio de cultura e condições ambientais para germinação de grãos de pólen de porta-enxertos de pereira. **Ciência Rural**, v. 40, n. 2, p. 261- 266, 2010.

CHEN, C.; BECKMAN, T. G. Effect of a late spring application of hydrogen cyanamide on high-chill peaches. **Agronomy**, v. 9, n. 726, p. 1-10, 2019.

CURI, P. N.; BISI, R. B.; SALGADO, D. L.; BARBOSA, C. M. A.; PIO, R.; SOUZA, V. R. Hybrid cultivars of pear in subtropics regions: processing ability in the form of jelly. **Ciência Rural**, v. 47, n.11, p. 1-7, 2017.

DE OLIVEIRA P. R. D.; RITSCHER, P. S.; RUFATO, A. D. R.; FIORAVANÇO, J. C. The Brazilian Pear Breeding Program. **Acta Horticultural**, v. 11, p. 145-151, 2011.

DE PAULA, L. A.; RUFATO, A. D. R.; OLIVEIRA, P. R. D. D. O.; TALLAMINI, M. R. Híbridaciones controladas inter e intraespecíficas para o melhoramento genético de porta-enxertos de pereira. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, p. 811-818, 2015.

DUSSI, M. C. Fitorreguladores utilizados en el cultivo del peral: experiencia en el Norte de la Patagonia. *In*: REUNIÃO TÉCNICA DA CULTURA DA PEREIRA, 3., 2010, Lages. **Anais [...]** Lages: CAV-UDESC, 2010. p. 107-131.

EDLUND, A. F.; SWANSON, R.; PREUSS, D. Pollen and stigma structure and function: the role of diversity in pollination. **The plant cell**, v. 16, p. 84-97, 2004.

EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA (EMBRAPA). **A cultura da pera**. Brasília: Embrapa Clima Temperado, 2007.

EREZ, A. Bud dormancy; phenomenon, problems and solutions in the tropics and subtropics. *In*: EREZ, A. **Temperate Fruit Crops in Warm Climates**. Dordrecht: Kluwer Academic, 2003. p. 17-48.

FACHINELLO, J. C.; PASA, M. DA S.; SCHMTIZ, J. D.; BETEMPS, D. L. Situação e perspectivas da fruticultura de clima temperado no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, p. 109-120, 2011.

FAORO, I. D.; ORTH, A. I. Parthenocarpy in Japanese Pear Tree Cultivars in South Brazil. **Acta Horticultural**, v. 11, p. 415-422, 2011.

FOOD AND AGRICULTURE ORGANIZATION. **FAOSTAT**: production-crops 2020. Disponível em: <<http://www.fao.org/faostat/en/#data/QC>>. Acesso em: 13 out. 2021.

GARRATT, M. P. D.; TRUSLOVE, C. L.; COSTON, D. J.; EVANS, R. L.; MOSS, E. D.; DODSON, C.; POTTS, S. G. Pollination deficits in UK apple orchards. **Journal of Pollination Ecology**, v. 12, n. 2, p. 9-14, 2014.

GOLDWAY, M.; STERN, R.; ZISOVICH, A.; RAZ, A.; SAPIR, G.; SCHNIEDER, D.; NYSKA, R. The self-incompatibility fertilization system in Rosaceae: agricultural and genetic aspects. **Acta Horticulturae**, v. 967, p. 77-82, 2012.

GONÇALVES, C. X. **Viabilidade e compatibilidade de pólen de diferentes genótipos de pereira no Rio Grande do Sul**. Dissertação (Mestrado em Agronomia) - Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2008.

HAWERROTH, F. J.; HERTER, F. G.; PETRI, J. L.; LEITE, G. B.; PEREIRA, J. F. M. **Dormência em frutíferas de clima temperado. Documento 310**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2010.

HE, G.; HU, F.; MING, J.; LIU, C.; YUAN, S. Pollen viability and stigma receptivity in *Lilium* during anthesis. **Euphytica**, v. 213, n. 10, p. 231, 2017.

HOFFMANN, A. P. *In*: CASTRO, P.R.C.; KLUGE, R.A. **Ecofisiologia de fruteiras: abacateiro, aceroleira, macieira, pereira e videira**. Piracicaba: Ceres, p. 65-92, 2003.

INSTITUTO BRASILEIRO DE GEOGRAFIA E ESTATÍSTICA. **Produção Agrícola Municipal - PAM 2020**. Disponível em: <<https://sidra.ibge.gov.br/pesquisa/pam/tabelas>>. Acesso em: 13 out. 2021.

IRENAEUS, T.; MITRA, S. K. Understanding the pollen and ovule characters and fruit set of fruit crops in relation to temperature and genotype—a review. **Journal of Applied Botany and Food Quality**, v. 87, p. 157-167, 2014.

JACKSON, J. E. Flowers and fruits. *In*: JACKSON, J. E. **Biology of apples and pears**, Cambridge: Cambridge University Press, p. 268-340, 2003.

JACKSON, J. E. **Biology of apples and pears**. Cambridge: Cambridge University Press, 2005.

KUROKI, K.; TAKEMURA, Y.; MATSUMOTO, K. Effect of hydrogen cyanamide on breaking flower bud endodormancy and flowering period of major Japanese Pear cultivars. **Horticultural Research Japan**, v. 12, n. 2, p. 179-185, 2013.

LAVIOLA, B. G.; DIAS, L. A. D. S. Teor e acúmulo de nutrientes em folhas e frutos de pinhão-manso. **Revista Brasileira de Ciência do Solo**, v. 32, p. 1969-1975, 2008.

LORENZI, H.; BACHER, L.; LACERDA, M.; SARTORI, S. **Frutas brasileiras e exóticas cultivadas: (de consumo *in natura*)**. São Paulo: Instituto Plantarum de Estudos da Flora, 2006.

LUZ, A. R. et al. Floração e polinização. *In*: RUFATO, L.; KRETZCHMAR, A. A.; BOGO, A. (Coord.). **A Cultura da pereira**. Florianópolis: DIOESC, 2012. p. 38-53.

MACHADO, B. D.; HIPÓLITO, J. S.; RUFATO, L. Cultivares de pereiras europeias. *In*: RUFATO, L.; KRETZCHMAR, A. A.; BOGO, A. **A Cultura da pereira**. Florianópolis: DIOESC, 2012. p. 150-171.

MARCON FILHO, J. L. et al. Poda e condução da pereira. *In*: RUFATO, L.; KRETZCHMAR, A. A.; BOGO, A. (Coord.). **A Cultura da pereira**. Florianópolis: DIOESC, 2012. p. 123-169.

MUNIZ, J. N.; KRETZCHMAR, A. A.; HIPÓLITO, J. S. Classificação botânica, origem e evolução. *In*: RUFATO, L.; KRETZCHMAR, A. A.; BOGO, A. (Coord.). **A Cultura da pereira**. Florianópolis: DIOESC, 2012. p. 30-37.

NAKASU, B. H.; FAORO, I. D. Cultivares. *In*: NAKASU, B. H.; QUEZADA, A. C.; HERTER, F. G. **Pera: produção**. Brasília: Embrapa Informação Tecnológica, 2003. p. 29-36.

NAVA, G. A.; DALMAGO, G. A.; BERGAMASCHI, H.; PAINZ, R.; SANTOS, R. P.; MARODIN, G. A. B. Effect of high temperatures in the pre-blooming and blooming periods on ovule formation, pollen grains and yield of 'Granada' peach. **Scientia Horticulturae**, v. 122, n. 1, p. 37-44, 2009.

NOGUEIRA, P. V.; SILVA, D. F.; PIO, R.; SILVA, P. A. O.; BISI, R. B.; BALBI, R. V. Germinação de pólen e aplicação de ácido bórico em botões florais de nespereiras. **Bragantia**, v. 74, p. 9-15, 2015.

OLIVEIRA, I. V. M.; MATOS, S.; SALUSTRIANO R. R.; LOPES, P. R. C. Avaliação fenológica da pereira "Triunfo" cultivada em clima semiárido no Nordeste do Brasil na safra de 2012. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 37, n. 1, p. 261-266, 2015.

PERAZZOLO, G. Problemática da cultura da pereira no Rio Grande do Sul. *In*: REUNIÃO TÉCNICA DA CULTURA DA PEREIRA, 2, 2008, Lages. **Anais [...]** Lages: CAV-UDESC, 2008. p. 28-32.

PETRI, J. L.; CARMELATTO, D.; HERTER, F. Quebra de dormência. *In*: QUEZADA, A. C.; NAKASU, B. H.; HERTER, F. G. (Ed.). **Pera: produção**. Brasília: Embrapa Clima Temperado, 2003. p. 52-54.

PIO, R.; SOUZA, F. B. M.; KALCSITS, L.; BISI, R. B.; FARIAS, D. H. Advances in the production of temperate fruits in the tropics. **Acta Scientiarum. Agronomy**, v. 41, p. 1-10, 2018.

RUFATO, L.; KRETZSCHMAR, A. A.; BOGO, A.; MACHADO, B. D.; MARCON FILHO, J. L.; LUZ, A. R.; MARCHI, T. Vegetative aspects of european pear scions cultivars in combination with quince roots-tocks in Urupema Santa Catarina State, Brazil. **Acta Horticulturae**, n. 909, p. 207-213, 2011.

SANZOL, J.; RALLO, P.; HERRERO, M. Asynchronous development of stigmatic receptivity in the pear (*Pyrus communis*; *Rosaceae*) flower. **American Journal of Botany**, v. 90, n. 1, p. 78-84, 2003.

SCHIFINO-WITTMANN, M. T.; DALLAGNOL, M. Self-incompatibility in plants. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 6, p. 1083-1090, 2002.

SILVA, D. M.; ZAMBON, C. R.; TECHIO, V. H.; PIO, R. Floral characterization and pollen germination protocol for *Castanea crenata* Siebold & Zucc. **South African Journal of Botany**, v. 130, p. 389-395, 2020.

SOARES, J. D. R.; RODRIGUES, F. A.; PASQUAL, M.; NUNES, C. F.; DE ARAUJO, A. G. Germinação de embriões e crescimento inicial *in vitro* de macaúba. **Ciência Rural**, v. 41, n. 5, p. 1-6, 2010.

SUÀREZ, C.; CASTRO, A. J.; RAPOPORT, H. F. Morphological, histological and ultrastructural changes in the olive pistil during flowering. **Sexual Plant Reproduction**, v. 25, n. 2, p. 133-146, 2012.

TATARI, M.; GHASEMI, A.; MOUSAVI, A.; BAHRAMI, H. Study on pollination and selection of the most suitable pollinizers for commercial pear cultivars (*Pyrus communis* L.) in Iran. **Journal of Horticultural Research**, v. 25, n. 2, p. 49-57, 2017.

VAVILOV, N. I. The origin, variation, immunity and breeding of cultivated plants. **Soil Science**, v. 72, p. 482, 1951.

VERISSIMO, V.; HERTER, F. G.; RODRIGUES, A. C.; GARDIN, J. P.; SILVA, J. B. da. Caracterização de gemas florais de pereira (*Pyrus* sp.) relacionada ao abortamento floral. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 26, n. 2, p. 193-197, 2004.

WREGGE, M. S. et al. **Zoneamento agroclimático para a pereira no Rio Grande do Sul**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2006. 29 p. (Documentos, 182).

ZAMBON, C. R.; DA SILVA, L. F. de O.; PIO, R.; BIANCHINI, F. G.; de OLIVEIRA, A. F. Storage of pollen and properties of olive stigma for breeding purposes. **Revista Ciência Agronômica**, v. 49, n. 2, p. 291-297, 2018.

ZHANG, Y.; ZHAO, Z.; XUE, Y. Roles of proteolysis in plant self-incompatibility. **Annual Review of Plant Biology**, v. 60, p. 21-42, 2009.

## SEGUNDA PARTE – ARTIGOS

### ARTIGO 1

#### **Diversidade genética de cultivares de pereira cultivadas em clima subtropical**

Artigo formatado de acordo com a revista *Scientia Horticulturae*

**Resumo:** O cultivo da pereira em regiões subtropicais é possível quando se utiliza cultivares híbridas, obtidas pelo cruzamento entre pereiras europeias (*Pyrus communis*) e asiáticas (*Pyrus pyrifolia*). Mas são necessárias maiores informações sobre estas pereiras híbridas para avanços nos programas de melhoramento genético e nas estratégias de manejo cultural. A caracterização da diversidade entre as cultivares de pereiras híbridas pode ser realizada com base em parâmetros agronômicos e morfológicos. Objetivou-se com este trabalho avaliar a diversidade genética e a filogenia entre cultivares de pereiras. Foram avaliadas um total de 11 cultivares de pereira (europeias, asiáticas e híbridas). Para a caracterização morfológica foram utilizados 66 descritores da União Internacional para a Proteção de Novas Variedades de Plantas (UPOV), sendo 43 variáveis multicategóricas qualitativas e 23 quantitativas. Todas as matrizes de dissimilaridade foram obtidas com base no índice de Gower. A correlação das matrizes foi realizada com base no coeficiente de correlação de Pearson e a significância feita pelo teste Mantel com 1.000 permutações. Foi aplicada a técnica de análise agrupamento UPGMA e a análise multivariada de componentes principais. As técnicas multivariadas para estudo de diversidade genética demonstraram ter grande potencial de uso na caracterização de germoplasma de pereira. O agrupamento UPGMA indicou a existência de variabilidade genética entre as cultivares avaliadas, sugerindo grupos com cultivares mais dissimilares com potencial a serem utilizados em futuras hibridações. A utilização de variáveis qualitativas e

quantitativas permite a caracterização eficiente de cultivares de pereiras visando variabilidade suficiente nos ciclos de seleção.

**Palavras-chave:** *Pyrus communis* x *Pyrus pyrifolia*, região subtropical, diversidade genética, filogenia.

**Abstract:** Pear cultivation in subtropical regions is possible when using hybrid cultivars, obtained by crossing European (*Pyrus communis*) and Asian (*Pyrus pyrifolia*) pear trees. Nevertheless, more information about these hybrid pear trees is needed for advances in genetic improvement programs and cultural management strategies. The diversity characterization among hybrid pear cultivars can be performed based on agronomic and morphological parameters. The objective of this work was to evaluate the genetic diversity and phylogeny among pear cultivars. A total of 11 pear cultivars, European, Asian and Hybrid were evaluated. For the morphological characterization, 66 descriptors from the International Union for the Protection of New Varieties of Plants (UPOV) were used, with 43 qualitative and 23 quantitative multicategorical variables. All dissimilarity matrices were obtained based on the Gower index. The matrices correlation was performed based on the Pearson correlation coefficient and the significance made by the Mantel test with 1,000 permutations. The cluster analysis technique unweighted pair-group method using arithmetic averages (UPGMA), and the multivariate principal component analysis were applied. Multivariate techniques for the genetic diversity study have shown great potential potential for use in the pear germplasm characterization. The UPGMA grouping indicated genetic variability existence among the evaluated cultivars, indicating groups with more dissimilar cultivars with potential to be used in future hybridizations. The use of qualitative and quantitative variables allows the efficient characterization of pear cultivars aiming at enough variability in the selection cycles.

**Keywords:** *Pyrus communis* x *Pyrus pyrifolia*, subtropical region, genetic diversity, phylogeny.

## 1. INTRODUÇÃO

As pereiras são tradicionalmente cultivadas em regiões frias e o cultivo dessas plantas em regiões subtropicais é possível devido a obtenção de cultivares híbridas, através de cruzamentos entre pereiras asiáticas (*Pyrus pyrifolia*) e europeias (*P. communis*) (Bettiol Neto et al., 2014). Essa combinação permite reunir em uma cultivar, a qualidade dos frutos da pereira europeia e a baixa necessidade em frio das pereiras asiáticas (Chagas et al., 2008; Nogueira et al., 2016). A produção das pereiras híbridas em regiões subtropicais é um desafio, pois poucos são os conhecimentos sobre o sistema reprodutivo dessas cultivares e isto dificulta os avanços nos programas de melhoramento genético (Bisi et al., 2021).

Nas últimas décadas, vários estudos têm se dedicado a avaliar a diversidade genética em diferentes espécies de *Pyrus* spp., através de descritores morfológicos, bioquímicos e marcadores moleculares. A avaliação de diferentes cultivares de pereiras é de grande importância para a exploração da variabilidade genética e a identificação de genótipos superiores para ações de conservação e em programas de melhoramento genético (Assefa et al., 2007; Weiguo et al., 2007).

A caracterização de genótipos através de descritores morfoagronômicos são imprescindíveis, desde que os caracteres apresentem alta herdabilidade, sofram pouca influência de fatores abióticos e não apresentem dificuldades na identificação e avaliação das características (Costa et al., 2009).

Os descritores qualitativos são mais interessantes por possuírem natureza genética simples, além de apresentarem baixa influência ambiental e alta herdabilidade (Paiva et al., 2014). Por outro lado, os descritores quantitativos, são importantes na avaliação do potencial agrônomo das cultivares, mas apresentam natureza genética complexa e sofrem elevada influência ambiental.

Vários estudos têm sido realizados em pereiras com o objetivo de avaliar a diversidade genética, através de avaliações morfológica, principalmente de pereiras europeias (Asanidze et al., 2011; Santiago-Pereira et al., 2012; Trivedi et al., 2012; Bhat et al., 2013; Said et al., 2013).

As pereiras híbridas são diferentes entre si, quanto a capacidade de formação de estruturas reprodutivas (Barbosa et al., 2018). A descrição morfométrica de cultivares híbridas desenvolvidas para o cultivo em regiões subtropicais promoveria avanços, principalmente no estabelecimento de estratégias de manejo cultural.

Objetivou-se com este estudo avaliar a diversidade genética e a filogenia entre diferentes cultivares pereiras em clima subtropical baseado em análises morfométricas.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

O estudo de caracterização englobou 11 cultivares de pereiras: ‘Shinseiki’ (*Pyrus pyrifolia*); ‘Packham’s Triumph’ e ‘William’s’ (*P. communis*); e as híbridas ‘Cascatense’, ‘Centenária’, ‘D’água’, ‘Le Conte’, ‘Primorosa’, ‘Seleta’, ‘Tenra’ e ‘Triunfo’ (*P. communis* x *P. pyrifolia*) (Tabela 1).

**Tabela 1.** Lista de identificação, genealogia e origem das cultivares híbridas (Bisi et al., 2019a).

Identificação	Cultivar	Genealogia	Origem
1	Cascatense	‘Packham’s Thiumph’ x ‘Le Conte’	IAC - Brasil
2	Centenária	‘Hood’ x ‘Packham’s Triumph’	IAC - Brasil
3	D’água	‘Unknown’	‘Unknown’
4	Le Conte	‘Unknown’	‘Unknown’
5	Primorosa	‘Hood’ x ‘Packham’s Triumph’	Embrapa-Brasil
6	Seleta	‘Hood’ x ‘Packham’s Triumph’	IAC - Brasil
7	Tenra	‘Madame Sieboldt’ x ‘Packham’s Triumph’	IAC - Brasil
8	Triunfo	‘Hood’ x ‘Packham’s Triumph’	IAC - Brasil

O experimento foi realizado entre os anos de 2019 e 2020, em Lavras, estado de Minas Gerais, Brasil (21°14’S, 45°00’W e 918 m de altitude). A classificação climática de Köppen

para essa região é Cwa - clima subtropical, com inverno frio e seco e verão quente e úmido (Alvares et al., 2013).

As mudas foram enxertadas em porta-enxerto de *Pyrus calleryana* e levadas a campo em outubro de 2010, sob espaçamento de plantio de 3,0 x 4,0 metros (833 plantas ha<sup>-1</sup>). As plantas foram conduzidas em sistema de líder central modificado. As práticas de manejo do pomar foram padronizadas, principalmente no que se refere a adubação e ao controle fitossanitário, utilizando produtos químicos recomendados para o cultivo (Bisi et al., 2019a).

Para cada característica avaliada foram observadas três estruturas de cada planta, com a utilização de um total de cinco plantas, conforme definido pelo protocolo da International Union for the protection of new varieties of plants (UPOV, 2000).

De acordo com recomendação de UPOV (2000), todas as observações na planta e no rebento de um ano de idade foram realizadas durante o inverno em plantas que já haviam frutificado pelo menos uma vez. Além disso, todas as observações a respeito da descrição das folhas foram realizadas no terço médio de um ramo bem desenvolvido, durante o verão. As avaliações sobre as flores foram realizadas quando as mesmas apresentavam início da deiscência da antera. Com relação aos frutos, as observações foram realizadas quando os mesmos estavam no ponto de maturação. Os descritores utilizados encontram-se abaixo (Tabelas 2 e 3).

**Tabela 2.** Descritores morfológicos qualitativos utilizados para caracterização de pereiras.

<b>Código</b>	<b>Descritores avaliados</b>	<b>Classes dos descritores</b>
<b>Descritores de ramos</b>		
RVIR	01. Planta: vigor	3. Baixo; 5. Médio; 7. Alto.
RAM	02. Planta: ramificação	1. Ausente ou muito baixa; 3. Baixa; 5. Média; 7. Alta; 9. Muito alta.
RCRES	03. Ramo de um ano: crescimento	1. Reto; 2. Ondulado; 3. Em zig zag.
RCSOL	04. Ramo de um ano: cor predominante lado exposto ao sol	1. verde acinzentado; 2. Marrom acinzentado; 3. Marrom médio; 4. Marrom alaranjado; 5. Marrom avermelhado; 6. Marrom arroxeado; 7. Marrom escuro.
RFGE	05. Ramo de um ano: formato do ápice da	1. Aguda; 2. Obtusa; 3. Arredondada.

RGR	gema 06. Ramo de um ano: posição da gema em relação ao ramo	1. Alinhada; 2. Ligeiramente divergente; 3. Claramente divergente.
RTG	07. Ramo de um ano: tamanho do suporte da gema	3. Pequeno; 5. Médio; 7. Grande.
RANTO	08. Ápice de crescimento: pigmentação antocianina do ápice de crescimento (durante o crescimento rápido)	1. Ausente ou muito pouca; 3. Pouca; 5. Média; 7. Forte; 9. Muito forte.
RAPUB	09. Ápice de crescimento: intensidade de pubescência	3. Pouca; 5. Média; 7. Muita.

---

**Descritores de folhas**


---

FP	10. Limbo: posição em relação ao ramo	1. Ascendente; 2. Perpendicular; 3. Descendente.
FF	11. Limbo: forma da base	1. Aguda; 2. Em ângulo reto; 3. Obtusa; 4. Truncada; 5. Cordiforme.
FFA	12. Limbo: forma do ápice (excluindo a ponta)	1. Aguda; 2. Em ângulo reto; 3. Obtusa; 4. Arredondada.
FIB	13. Limbo: incisão das bordas (metade superior)	1. Ausente; 2. Crenadas; 3. Serrilhado obtuso; 4. Fortemente serrilhado.
FPI	14. Limbo: profundidade das incisões da borda	3. Pouco profunda; 5. Média; 7. Profunda.
FCE	15. Limbo: curvatura eixo longitudinal	3. Baixa; 5. Média; 7. Alta.
FPE	16. Pecíolo: presença de estípula	1. Ausentes; 9. Presentes.
FPDE	17. Pecíolo: distância entre as estípulas e a inserção basal do pecíolo	3. Pequena; 5. Média; 7. Grande.

---

**Descritores de flores**


---

FLGF	18. Tipo de ramo das gemas florais	1. Principalmente esporões; 2. Principalmente brindilas.
FLSC	19. Posição das sépalas em relação à corola	1. Alinhada; 2. Reta; 3. Recurvado.
FLBP	20. Posição das bordas das pétalas	1. Livres; 2. Tocando-se; 3. Sobrepondo-se.
FLEE	21. Posição dos estigmas em relação aos estames	1. Abaixo; 2. No mesmo nível; 3. Acima.
FLFP	22. Formato das pétalas (excluída a garra)	1. Circular; 2. Ovaladas largas; 3. Ovaladas.
FLFBP	23. Formato da base das pétalas	1. Cuneiforme; 2. Arredondada; 3. Truncada; 4. Cordiforme.

---

**Descritores de frutos**


---

FRI	24. Frutos imaturos: cor das sépalas (início do verão)	1. Verde; 2. Verde amarronzado; 3. Marrom; 4. Marrom avermelhado; 5. Vermelho.
FRDM	25. Posição do diâmetro máximo	1. No meio; 2. Ligeiramente em direção ao cálice; 3. Claramente em

FRS	26. Simetria (na seção longitudinal)	direção ao cálice. 1. Simétrico; 2. Ligeiramente assimétrico; 3. Claramente assimétrico.
FRPL	27. Perfil lateral	1. Côncavo; 2. Reto; 3. Convexo.
FRCE	28. Cor de fundo epiderme	1. Não visível; 2. Verde; 3. Verde amarelado; 4. Amarelo.
FRZC	29. Zona relativa de cor superficial	1. Ausente ou muito pequena; 3. Pequena; 5. Média; 7. Grande; 9. Muito grande.
FRZRO	30. Zona relativa de <i>russeting</i> na cavidade do olho	1. Ausente ou muito pequena; 3. Pequena; 5. Média; 7. Grande; 9. Muito grande.
FRZRM	31. Zona relativa de <i>russeting</i> no meio	1. Ausente ou muito pequena; 3. Pequena; 5. Média; 7. Grande; 9. Muito grande.
FRZRB	32. Zona relativa de <i>russeting</i> no entorno da base peduncular	1. Ausente ou muito pequena; 3. Pequena; 5. Média; 7. Grande; 9. Muito grande.
FRCP	33. Curvatura do pedúnculo	1. Ausente ou muito pequena; 3. Pequena; 5. Média; 7. Grande.
FRPP	34. Posição do pedúnculo em relação ao eixo do fruto	1. Reto; 2. Obliquo; 3. Em ângulo reto.
FRPC	35. Profundidade da cavidade peduncular	1. Ausente; 3. Pouco profunda; 5. Média; 7. Profunda; 9. Muito profunda.
FRPS	36. Posição das sépalas (frutos maduros)	1. Convergentes; 2. Eretas; 3. Divergentes.
FRCO	37. Cavidade do olho	1. Ausente; 9. Presente.
FRPCO	38. Profundidade da cavidade do olho	3. Pouco profunda; 5. Média; 7. Profunda.
FRLO	39. Largura da cavidade do olho	3. Estreita; 5. Média; 7. Larga.
FRRO	40. Relevo da zona em torno do olho	1. Liso; 2. Ligeiramente irregular; 3. Com protuberâncias irregulares.
FRTTP	41. Textura da polpa	3. Fina; 5. Média; 7. Grossa.
FRSP	42. Suculência da polpa	3. Seca; 5. Média; 7. Suculenta; 9. Muito suculenta.
FRFS	43. Formato das sementes	1. Redonda; 2. Ovalada; 3. Elíptica; 4. Elíptica estreita.

**Tabela 3.** Descritores morfológicos quantitativos utilizados para caracterização de pereiras.

<b>Código</b>	<b>Descritores avaliados</b>	<b>Classes dos descritores</b>
<b>Descritores de ramos</b>		
RC	44. Ramo de um ano: comprimento do entrenó	3. Curto; 5. Médio; 7. Longo. (cm)

RCN	45. Ramo de um ano: comprimento entre nó	Cm
RL	46. Ramo de um ano: nº lenticelas	
RLCE	47. Ramo de um ano: nº lenticelas (nº de lenticelas/comprimento entrenó)	3. Poucas; 5. Médias; 7. Muitas.
RG	48. Ramo de um ano: tamanho do suporte da gema	Mm
<b>Descritores de folhas</b>		
FLC	49. Limbo: comprimento	3. Pequeno; 5. Médio; 7. Grande (mm).
FLL	50. Limbo: largura	3. Estreito; 5. Médio; 7. Largo (mm).
FCL	51. Limbo: relação comprimento/largura	1. Muito pequena; 3. Pequena; 5. Média; 7. Grande; 9. Muito grande.
FLCP	52. Limbo: comprimento da ponta	1. Ausente ou muito pequena; 3. Pequena; 5. Média; 7. Grande; 9. Muito grande (mm).
FPC	53. Pecíolo: comprimento	3. Pequeno; 5. Médio; 7. Grande (mm).
FPDEP	54. Pecíolo: distância entre as estípulas e a inserção basal do pecíolo	3. Pequena; 5. Média; 7. Grande (mm).
<b>Descritores de flores</b>		
FLCG	55. Comprimento da gema floral	3. Pequena; 5. Média; 7. Longa (mm).
FLCS	56. Comprimento das sépalas	3. Pequena; 5. Média; 7. Grande (mm).
FLTS	57. Tamanho das pétalas	3. Pequena; 5. Média; 7. Grande (mm).
FLCG	58. Comprimento da garra da pétala	3. Pequena; 5. Média; 7. Grande (mm).
FRDAP	59. Época do início da floração (ano 2019)	1. Muito precoce; 3. Precoce; 5. Média; 7. Tardia; 9. Muito tardia.
<b>Descritores de frutos</b>		
FRC	60. Comprimento	3. Pequeno; 5. Médio; 7. Grande (mm).
FRD	61. Diâmetro máximo	3. Estreito; 5. Médio; 7. Largo (mm).
FRCD	62. Relação comprimento/diâmetro	1. Muito pequena; 3. Pequena; 5. Média; 7. Grande; 9. Muito grande.
FRP	63. Tamanho	1. Muito pequeno; 3. Pequeno; 5. Médio; 7. Grande; 9. Muito grande (Kg).
FRCOP	64. Comprimento do pedúnculo	3. Pequeno; 5. Médio; 7. Grande (mm).
FREP	65. Espessura pedúnculo	3. Fino; 5. Médio; 7. Grosso (mm).
FRM	66. Tempo maturação dos frutos para o consumo	1. Muito precoce; 3. Precoce; 5. Média; 7. Tardia; 9. Muito tardia.

Para cada classe de descritor, foram obtidas matrizes de dissimilaridade e posteriormente as matrizes dos dados qualitativos, quantitativos e a soma (qualitativos e

quantitativos) foram correlacionadas. A matriz soma foi obtida através da soma das matrizes isoladas dos dados qualitativos e quantitativos. Todas as matrizes de dissimilaridade foram obtidas com base no índice de Gower (Gower, 1971). A correlação das matrizes foi realizada com base no coeficiente de correlação de Pearson e a significância feita pelo teste Mantel com 1.000 permutações.

A partir das medidas de dissimilaridade foi realizada a análise de agrupamento pelo Método Hierárquico *Unweighted Pair-Group Method Using an Arithmetic Average* (UPGMA) e a definição do ponto de corte do dendrograma formado pelo método de UPGMA foi realizada conforme o proposto por Mojena (1977). Para testar a eficiência do método de agrupamento hierárquico, estimou-se o coeficiente de correlação cofenética (CCC).

Em acréscimo aos demais métodos multivariados, foi realizada a análise dos componentes principais, para detalhar as informações de diversidade entre os acessos. Este método caracteriza-se por apresentar a importância das funções de forma decrescente, sendo que a função inicial expressa o máximo da variância entre os grupos de cultivares formadas (Cruz et al., 2004). A importância relativa dos caracteres foi avaliada para discriminar os acessos segundo o critério de peso das variáveis nos autovetores e autovalores estimados a partir da matriz de correlação dos dados padronizados

O programa estatístico GENES (Cruz, 2013) foi utilizado para as análises multivariadas. Os agrupamentos hierárquicos foram feitos com o auxílio do programa MEGA versão 5 (Kumar et al., 2009).

### **3. RESULTADOS E DISCUSSÃO**

As correlações entre a matriz de dissimilaridade qualitativa e matriz soma ( $r = 0,864$ ) e a matriz quantitativa e matriz soma ( $r = 0,864$ ) apresentaram alta significância pelos testes t e pelo teste Z de Mantel. Apesar de significativa a correlação entre a matriz de dissimilaridade qualitativa e matriz quantitativa, verificou-se baixa correlação comparada às demais (Tabela 4).

**Tabela 4.** Correlações entre as matrizes de distância genética, em acessos de pereiras com base nos descritores morfológicos.

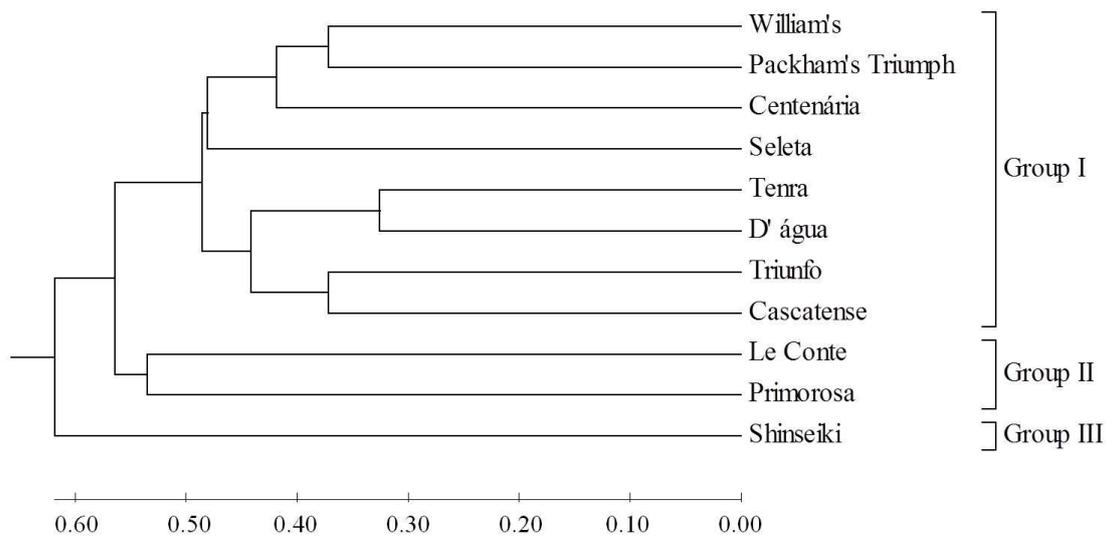
	Qualitativa	Quantitativa
Quantitativa	0,495**	-
Matriz Soma	0,864**	0,864**

\*\* Significância a 1% de probabilidade de erro, pelo teste de Mantel com 1000 permutações.

Além da diversidade genética, as estimativas de correlações permitem prever o desempenho de uma característica quando se realiza a seleção em outra correlacionada (Oliveira et al., 2011). As estimativas de correlações devem ser consideradas satisfatórias para explicar as relações entre os caracteres de importância econômica (Greco et al., 2014). Rocha et al. (2010) relataram que os dados individuais qualitativos e quantitativos podem dificultar a interpretação dos resultados de caracterização do germoplasma, demonstrando a importância da análise conjunta dos dados.

Os descritores quantitativos e qualitativos analisados individualmente, apesar de eficientes na discriminação das cultivares de pereiras, apresentaram menor correlação cofenética quando comparados à matriz soma. Segundo Martinello et al. (2002), a classificação incorreta das cultivares pode ocorrer devido aos caracteres quantitativos serem controlados por um conjunto de genes, sendo extremamente afetados pelo ambiente. Assim, a análise conjunta de dados, de natureza qualitativa e quantitativa, permite inferir com maior precisão nas características consideradas e a associação genética entre as cultivares estudadas.

A análise de agrupamento, com base no índice de Gower, subdividiu as 11 cultivares de pereira com base nos caracteres qualitativos, em três grupos de dissimilaridade genética com coeficiente de correlação cofenética alta (0,79), indicando precisão na tomada de decisão, já que indica ajuste entre a matriz de dissimilaridade e a representação gráfica (Figura 1). O ponto do corte foi considerado próximo a 0,65 de distância, com base no método de Mojena (1977).



**Figura 1.** Dendrograma de dissimilaridade genética das cultivares de pereira, com base nos caracteres qualitativos utilizando-se a distância de Gower e obtida pelo método de agrupamento UPGMA.

Na matriz qualitativa, a dissimilaridade variou de 0,326 para as cultivares menos dissimilares ('D' água' e 'Tenra') até 0,721 para as cultivares mais dissimilares ('Triunfo' e 'Primorosa') (Tabela 5).

**Tabela 5.** Matriz de dissimilaridade qualitativa

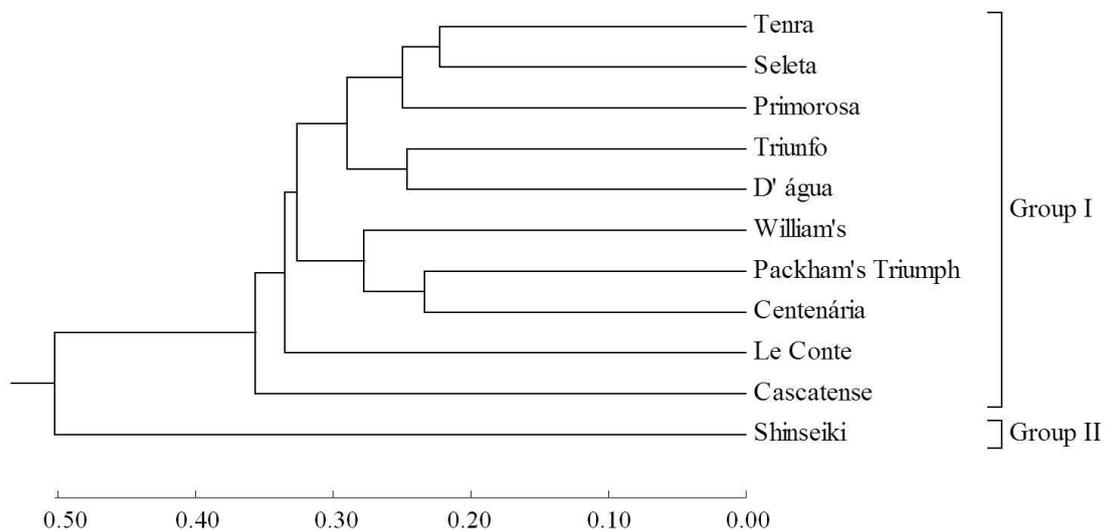
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
I	0										
II	0,651	0									
III	0,558	0,372	0								
IV	0,605	0,442	0,535	0							
V	0,558	0,419	0,581	0,395	0						
VI	0,558	0,395	0,442	0,442	0,442	0					
VII	0,628	0,442	0,558	0,442	0,558	0,442	0				
VIII	0,698	0,442	0,465	0,465	0,372	0,465	0,395	0			
IX	0,698	0,488	0,558	0,512	0,535	0,535	0,628	0,628	0		
X	0,674	0,628	0,605	0,535	<b>0,721</b>	0,512	0,605	0,674	0,535	0	
XI	0,581	0,512	0,605	<b>0,326</b>	0,419	0,488	0,535	0,488	0,535	0,512	0

Nota: I ('Shinseiki'), II ('William's'), III ('Packham's Triumph'), IV ('Tenra'), V ('Triunfo'), VI ('Centenária'), VII ('Seleta'), VIII ('Cascatense'), IX ('Le Conte'), X ('Primorosa'), XI ('D' água').

As cultivares 'Tenra' e 'D' água' são as mais similares considerando os caracteres qualitativos. Segundo Gonçalves et al. (2014), o agrupamento UPGMA permite identificar

acessos mais similares dentro dos grupos, quando comparado a outros métodos como o de Tocher. Entretanto, vários trabalhos observaram semelhança no agrupamento dos acessos entre os métodos de Tocher e o UPGMA (Leão et al., 2011; Preisigke et al., 2013).

A análise de agrupamento, com base no índice de Gower, subdividiu as 11 cultivares de pereira com base nos caracteres quantitativos, em dois grupos de dissimilaridade genética com coeficiente de correlação cofenética de 0,80, indicando também, precisão na tomada de decisão com base no dendrograma (Figura 2). O ponto do corte foi considerado próximo a 0,50 de distância, com base no método de Mojena (1977).



**Figura 2.** Dendrograma de dissimilaridade genética das cultivares de pereira, com base nos caracteres quantitativos utilizando-se a distância de Gower e obtida pelo método de agrupamento UPGMA.

Na matriz quantitativa, a dissimilaridade variou de 0,223 para as cultivares menos dissimilares ('Seleta' e 'Tenra') até 0,654 para as cultivares mais dissimilares ('Shinseiki' e 'Cascatense') (Tabela 6).

**Tabela 6.** Matriz de dissimilaridade quantitativa.

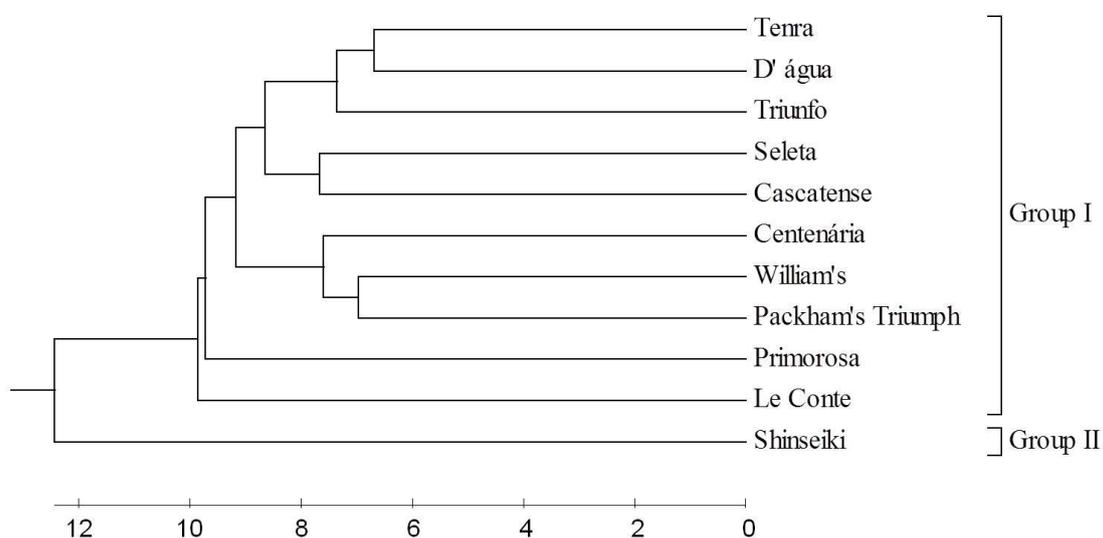
	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
I	0										
II	0,519	0									
III	0,556	0,256	0								
IV	0,423	0,411	0,392	0							

V	0,423	0,306	0,281	0,266	0						
VI	0,478	0,299	0,234	0,329	0,286	0					
VII	0,457	0,352	0,352	<b>0,223</b>	0,258	0,293	0				
VIII	<b>0,654</b>	0,382	0,364	0,387	0,356	0,401	0,296	0			
IX	0,472	0,338	0,325	0,391	0,280	0,324	0,337	0,366	0		
X	0,579	0,289	0,354	0,275	0,336	0,264	0,225	0,335	0,385	0	
XI	0,465	0,365	0,333	0,278	0,246	0,290	0,277	0,322	0,305	0,328	0

Nota: I ('Shinseiki'), II ('William's'), III ('Packham's Triumph'), IV ('Tenra'), V ('Triunfo'), VI ('Centenária'), VII ('Seleta'), VIII ('Cascatense'), IX ('Le Conte'), X ('Primorosa'), XI ('D'água').

Heidari et al. (2019), estudando a variabilidade fenotípica de *Pyrus boissieriana* Buhse, identificou que maioria dos acessos analisados (66 acessos) tinham formato de fruto redondo, enquanto o formato de fruto nos 36 acessos restantes foi elíptico. Rana et al. (2015), relatam que a forma dos frutos de acessos de *P. communis* e *P. pyrifolia* eram majoritariamente ovais-oblongos e piriformes, enquanto das espécies selvagens eram redondos e globosos, incluindo *P. pashia*, *P. serotina* e *P. jacquemontiana*.

A análise de agrupamento, com base no índice de Gower, subdividiu as 11 cultivares de pereira com base na soma dos caracteres qualitativos e quantitativos, em dois grupos de dissimilaridade genética com coeficiente de correlação cofenética de 0,87, indicando maior precisão na tomada de decisão com base no dendrograma (Figura 3). O ponto do corte foi considerado próximo a 12,3 de distância, com base no método de Mojena (1977).



**Figura 3.** Dendrograma de dissimilaridade genética das cultivares de pereira, com base na soma dos caracteres quantitativos e qualitativos utilizando-se a distância de Gower e obtida pelo método de agrupamento UPGMA.

Na matriz soma, a dissimilaridade variou de 6,571 para as cultivares menos dissimilares ('D'água' e 'Tenra') até 14,735 para as cultivares mais dissimilares ('Shinseiki' e 'Cascatense') (Tabela 7).

**Tabela 7.** Matriz de dissimilaridade soma.

	I	II	III	IV	V	VI	VII	VIII	IX	X	XI
I	0										
II	12,742	0									
III	12,151	6,830	0								
IV	11,178	9,302	10,084	0							
V	10,675	7,880	9,352	7,194	0						
VI	11,291	7,561	7,332	8,385	7,905	0					
VII	11,801	8,648	9,892	7,209	8,842	7,985	0				
VIII	<b>14,735</b>	8,972	9,028	9,285	7,935	9,435	7,525	0			
IX	12,712	8,987	9,589	9,818	8,837	9,333	10,467	10,797	0		
X	13,655	9,940	10,413	8,788	11,455	8,418	8,977	10,951	10,003	0	
XI	11,395	9,537	10,175	<b>6,571</b>	7,222	8,449	8,805	8,809	9,117	9,119	0

Nota: I ('Shinseiki'), II ('William's'), III ('Packham's Triumph'), IV ('Tenra'), V ('Triunfo'), VI ('Centenária'), VII ('Seleta'), VIII ('Cascatense'), IX ('Le Conte'), X ('Primorosa'), XI ('D'água').

As cultivares europeias ('William's' e 'Packham's Triumph') e as híbridas foram agrupadas no mesmo grupo, indicando similaridade. Este fato pode estar associado a cultivar 'Packham's Triumph' ser parental de todas as cultivares híbridas, que se conhece a genealogia, utilizadas no presente estudo. As cultivares híbridas, resultantes de cruzamentos entre pereiras asiáticas e europeias (*P. communis* x *P. pyrifolia*), aliam a qualidade de frutos das peras europeias, com a menor necessidade de horas-frio das peras asiáticas (Chagas et al., 2008; Barbosa et al., 2018).

Com relação à contribuição relativa das características fenotípicas para a diversidade genética, as variáveis quantitativas mais importantes, foram: número de lenticelas/comprimento do entrenó (RLCE), comprimento do limbo (FCL), comprimento do pecíolo (FPC),

comprimento das sépalas (FLCS), e época do início da floração (FRDAP) (Tabela 8), sendo esse último, relacionado à dormência da planta, uma característica importante para escolha de genótipos em programas de melhoramento genético.

**Tabela 8.** S. j. Valor estimado da estatística de Singh (1981).

Caráter	S. j.	Valor %
RC	9,414	3,953
RCN	8,075	3,391
RL	8,514	3,575
RLCE	14,400	<b>6,047</b>
RG	9,308	3,908
FLC	9,623	4,041
FLL	11,530	4,842
FCL	12,833	<b>5,389</b>
FLCP	11,267	4,731
FPC	13,502	<b>5,670</b>
FPDEP	11,205	4,705
FLCG	9,796	4,113
FLCS	15,818	<b>6,642</b>
FLTS	10,935	4,591
FLCG	5,849	2,456
FRC	10,062	4,225
FRD	7,128	2,993
FRCD	9,601	4,031
FRP	9,388	3,942
FRCOP	7,866	3,303
FREP	9,040	3,796
FRM	10,751	4,514
FRDAP	12,228	<b>5,135</b>

No contexto das plantas perenes de clima temperado, a dormência das gemas é uma etapa crucial no ciclo fenológico, pois sua progressão ao longo do inverno determina a qualidade da abertura dos botões, floração e frutificação. Quando as horas de frio forem suficientes, as pereiras mudam gradualmente para o estágio de ecodormência, e os botões germinam rapidamente se estiverem em um ambiente favorável (Li et al., 2018).

Houve uma interação diretamente proporcional e agronomicamente relevante, entre as características: diâmetro máximo dos frutos (FRD) e época do início da floração (FRDAP), à 1% de probabilidade (Tabela 9).

**Tabela 9.** Correlação de Pearson de 22 variáveis quantitativos utilizados para caracterização de pereiras.

Variáveis	RC	RCN	RL	RLCE	RG	FLC	FLL	FCL	FLCP	FPC	FPDEP	FLCG	FLCS	FLTS	FLCG	FRC	FRD	FRC D	FRP	FRC OP	FREP	FRM
<b>RCN</b>	<b>0,866**</b>	0																				
<b>RL</b>	0,552	<b>0,691*</b>	0																			
<b>RLCE</b>	-0,105	0,004	<b>0,715*</b>	0																		
<b>RG</b>	<b>0,747**</b>	<b>0,676*</b>	<b>0,809**</b>	0,407	0																	
<b>FLC</b>	0,517	0,233	0,377	0,245	0,510	0																
<b>FLL</b>	<b>0,611*</b>	0,262	0,283	0,036	0,558	<b>0,884**</b>	0															
<b>FCL</b>	-0,507	-0,174	-0,046	0,242	-0,435	-0,440	-	0														
<b>FLCP</b>	0,440	0,243	0,347	0,190	0,409	<b>0,639*</b>	0,596	-0,356	0													
<b>FPC</b>	-0,202	-0,057	-0,302	-0,290	-0,594	0,013	-0,146	0,342	0,176	0												
<b>FPDEP</b>	0,246	0,211	-0,006	-0,239	-0,011	0,060	0,029	-0,038	-0,088	-0,067	0											
<b>FLCG</b>	0,264	0,416	0,193	-0,130	0,040	0,220	0,314	-0,247	-0,057	0,448	-0,110	0										
<b>FLCS</b>	-0,296	-0,390	-0,190	0,074	-0,094	-0,290	-0,212	-0,008	0,152	-0,324	-0,100	-	0									
<b>FLTS</b>	0,293	0,162	0,353	0,319	0,511	0,593	0,458	-0,129	<b>0,621*</b>	-0,097	-0,338	-0,154	0,124	0								
<b>FLCG</b>	-0,154	-0,254	<b>-0,625*</b>	-0,589	-0,304	-0,318	-0,298	0,149	-0,470	-0,089	-0,042	-0,289	-0,036	-0,314	0							
<b>FRC</b>	<b>-0,695*</b>	<b>-0,712*</b>	<b>-0,600*</b>	-0,180	-0,499	-0,532	-0,394	0,042	<b>-0,648*</b>	-0,307	0,161	-0,342	0,322	-0,423	0,287	0						
<b>FRD</b>	-0,466	<b>-0,606*</b>	-0,481	-0,145	-0,234	-0,103	-0,055	-0,092	-0,478	-0,409	0,309	-0,330	0,230	-0,261	0,396	<b>0,819**</b>	0					
<b>FRC D</b>	<b>-0,723*</b>	<b>-0,652*</b>	-0,585	-0,190	-0,594	-	-0,564	0,137	<b>-0,640*</b>	-0,164	0,000	-0,286	0,324	-0,457	0,197	<b>0,920**</b>	0,531	0				
<b>FRP</b>	-0,308	-0,422	-0,273	-0,044	-0,090	-0,075	0,033	-0,214	-0,491	-0,497	0,445	-0,210	0,019	-0,255	0,128	<b>0,814**</b>	<b>0,872**</b>	0,592	0			
<b>FRCOP</b>	-0,090	-0,061	0,027	0,170	0,034	0,296	-0,037	0,454	0,152	0,196	-0,332	-0,140	0,118	<b>0,602*</b>	0,164	-0,304	-0,047	-0,400	-0,350	0		
<b>FREP</b>	-0,246	-0,281	<b>-0,636*</b>	<b>-0,647*</b>	-0,505	-0,311	-0,004	-0,355	-0,509	0,184	0,022	0,464	-0,203	-0,542	0,270	0,527	0,347	0,551	0,393	-0,472	0	
<b>FRM</b>	-0,117	0,092	-0,175	-0,212	-0,567	-0,250	-0,474	<b>0,628*</b>	-0,075	<b>0,772**</b>	0,238	0,147	-0,308	-0,309	0,013	-0,252	-0,450	-0,064	-0,431	0,059	-0,028	0
<b>FRDAP</b>	0,535	0,422	0,345	-0,020	<b>0,650*</b>	0,269	0,596	<b>-0,773**</b>	0,181	-0,411	-0,348	0,409	-0,202	0,250	-0,143	-0,212	-0,175	-0,196	-0,004	-0,302	0,226	<b>-0,660*</b>

(\*\*)Significativo a 1% de probabilidade, (\*) Significativo a 5% de probabilidade de erro, pelo teste T.

Normalmente, há uma relação inversa entre o crescimento vegetativo e a floração, portanto, é importante manter um equilíbrio entre o volume da copa e a frutificação (Close and Bound, 2017; Einhorn, 2018). No caso da relação diretamente proporcional entre diâmetro máximo dos frutos (FRD) e época do início da floração (FRDAP), a floração tardia coincide com um período de aumento da precipitação, que pode ter sido a causa de queda de flores, proporcionando um raleio natural e conseqüente aumento do diâmetro de frutos. Condições ambientais adversas durante a floração, como chuvas, geadas ou baixa atividade de insetos polinizadores, muitas vezes limitam a produção, principalmente nas espécies dependentes da polinização cruzada. Sob essas condições, é frequente uma baixa frutificação efetiva na pereira, macieira e ameixeira (Greene, 2003; Petri et al., 2016).

Exclui-se a possibilidade de retração de tamanho do fruto devido demora na colheita, com conseqüente perda de água. Em peras, a divisão celular ocorre no período da antese, determinando o número de células e posterior expansão celular, e o tamanho do fruto aumenta seguindo uma curva sigmóide (Isuzugawa et al., 2014), sem posterior perda de tamanho, como ocorre em espécies com padrão sigmoide duplo. O tamanho do fruto é uma das características mais importantes comercialmente em plantas frutíferas, porque frutos maiores são geralmente comercializados com preços mais elevados (Isuzugawa et al., 2014).

Inversamente proporcional, houveram as seguintes interações agronomicamente relevantes: comprimento do entrenó de um ramo (RC) e comprimento dos frutos (FRC), comprimento do entrenó de um ramo (RC) e relação comprimento/diâmetro dos frutos (FRCD), comprimento do entrenó quantitativo (RCN) e comprimento dos frutos (FRC), comprimento do entrenó quantitativo (RCN) e diâmetro máximo dos frutos (FRD), comprimento do entrenó quantitativo (RCN) e relação comprimento/diâmetro dos frutos (FRCD), à 5% de probabilidade.

A utilização de descritores morfológicos permite a caracterização eficiente de cultivares de pereiras. Sendo assim, estudos sobre a diversidade entre as cultivares de pereira demonstram

ser de grande importância para a exploração da variabilidade genética e a identificação de genótipos superiores para ações de conservação e em programas de melhoramento genético (Assefa et al. 2007; Weiguo et al., 2007).

De acordo com Bisi et al. (2019b), a cultivar ‘Cascatense’ se destaca em relação ao número de anteras por flor, número de pólenes por antera e conseqüentemente, número de pólenes por flor, características importantes para a definição de progenitores masculinos em hibridações. Essa cultivar pertence ao grupo I, neste estudo, apresentando características de interesse agrônômico, como: alta ramificação (vigor), frutos piriformes, e grande zona relativa de cor superficial dos frutos. Entretanto, apesar das vantagens, a cultivar ‘Cascatense’ apresenta efeito negativo na viabilidade das sementes, que pode estar relacionado à incompatibilidade gametofítica desta cultivar com as demais, resultando em menor massa, comprimento e diâmetro de frutos (Bisi et al., 2021).

Bisi et al. (2019b) também encontraram vantagens para utilização das cultivares ‘Seleta’ e ‘Triunfo’ em hibridações controladas, como a alta receptividade estigmática por um período prolongado durante a floração, apresentando potencial para serem utilizadas como progenitores femininos. Ambas as cultivares pertencem ao grupo I para caracteres qualitativos e quantitativos, e somando-se às características positivas do presente trabalho, ocorre aumento no espectro de usos em programas de melhoramento genético. Todas as características observadas em condições de inverno ameno, portanto, indicam que as cultivares ‘Seleta’ e ‘Triunfo’ seriam boas cultivares bases para iniciar um programa de melhoramento genético nestas condições climáticas.

A maioria das cultivares de pereiras são consideradas auto-incompatíveis, ou seja, rejeitam o próprio grão de pólen e dependem da polinização cruzada para a frutificação (Vieira et al., 2019). Portanto, o conhecimento da compatibilidade gametofítica entre cultivares para

recomendação nos programas de melhoramento é crucial, aliado a sincronia de floração e qualidade dos frutos (Bisi et al., 2021).

A seleção de cultivares polinizadoras adequadas pode aumentar o número de sementes, melhorando a qualidade e quantidade de frutos (Stern et al., 2018). Segundo Bisi et al. (2021) a cultivar ‘Centenária’ apresentou efeito positivo para todas as variáveis estudadas, com destaque para porcentagem de frutificação, indicando alto potencial para ser utilizada como polinizadora para utilização em programas de melhoramento genético, uma vez que a cultivar polinizadora influencia na massa, comprimento e diâmetro dos frutos. A cultivar ‘D’água’ utilizada como receptora de grãos de pólen teve efeito positivo na massa, comprimento e diâmetro de frutos quando polinizada por todas as cultivares híbridas (Bisi et al., 2021), sendo recomendada para cruzamento com a cultivar ‘Centenária’.

Bisi et al. (2021) também apontaram como um cruzamento promissor a utilização das cultivares ‘Primorosa’ (receptora) x ‘Centenária’ (doadora), apresentando efeito positivo para todas as variáveis analisadas. Além disso, as cultivares são consideradas semicompatíveis e apresentam mais de 60% da floração em um mesmo período (Bisi et al., 2019a). O cruzamento entre essas cultivares é promissor, visto que foram agrupadas em diferentes grupos, sendo dissimilares entre si, pois os trabalhos de melhoramento visam a obtenção de acessos superiores e que apresentem divergência para maximização da heterose ou para criação de variabilidade suficiente nos ciclos de seleção.

A discriminação das variáveis mais relevantes é de grande importância no melhoramento genético, pois, torna possível a identificação de genótipos com parâmetros de interesse. Dessa forma, cultivares de diferentes grupos, obtidos na caracterização morfológica, podem ser utilizadas para hibridações intraespecíficas visando obtenção de progênes que associem uma ou mais características desejáveis.

#### 4. CONCLUSÕES

O agrupamento UPGMA indicou a existência de variabilidade genética entre as cultivares, com grupos de acessos similares e mais dissimilares. A análise conjunta de dados possibilitou um melhor ordenamento das cultivares com detecção de variabilidade genética intraespecífica. A utilização de variáveis qualitativas e quantitativas permite a caracterização eficiente de cultivares de pereiras visando variabilidade suficiente nos ciclos de seleção. Os cruzamentos ‘D’água’ x ‘Centenária’ e ‘Primorosa’ x ‘Centenária’ são promissores para utilização em programas de melhoramento genético.

#### 5. AGRADECIMENTOS

Este estudo foi parcialmente financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG). Agradecemos também à Universidade Federal de Lavras (UFLA) pelo acesso às cultivares e materiais utilizados na realização do estudo.

#### 6. REFERÊNCIAS

Alvares, C.A., Stape, J. L., Sentelhas, P. C., Gonçalves, J. L. M., Sparovek, G., 2013. Koppen’ climate classification map for Brazil. *Meteorol. Z.* 22, 711–728. <https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>.

Asanidze, Z., Akhalkatsi, M., Gvritishvili, M., 2011. Comparative morphometric study and relationships between the Caucasian species of wild pear (*Pyrus* spp.) and local cultivars in Georgia. *Flora: Morphol. Distrib. Funct. Ecol. Plants.* 206(11), 974-986. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2011.04.010>.

- Assefa, A., Labuschagne, M.T., Viljoen, C.D., 2007. AFLP analysis of genetic relationships between barley (*Hordeum vulgare* L.) landraces from north Shewa in Ethiopia. *Conserv. Genet.* 8, 273-280. <https://doi.org/10.1007/s10592-006-9167-0>.
- Barbosa, C.M.A., Pio, R., Souza, F.B., Bisi, R.B., Bettiol Neto, J.E., Farias, D.H., 2018. Phenological evaluation for determination of pruning strategies on pear trees in the tropics. *Sci. Hortic.* 240(1), 326-332. <https://doi.org/doi:10.1016/j.scienta.2018.06.006>.
- Bettiol Neto, J.E., Chagas, E.A., Sanches, J., Pio, R., Antoniali, S., Cia, P., 2014. Produção e qualidade pós-colheita de cultivares de pereira nas condições subtropicais da região leste paulista. *Cienc. Rural.* 44(10), 1740–1746. <https://doi.org/doi:10.1590/0103-8478cr20131574>.
- Bhat, Z.A., Dhillon, W.S., Singh, K., 2013. Genetic diversity studies on some pear genotypes using simple sequence repeats (SSRs) derived from apple and pear. *Indian J. Hort.* 70(1), 1–6.
- Bisi, R.B., Pio, R., Farias, D.H., Locatelli, G., Barbosa, C.M.A., Pereira, W.A., 2019a. Molecular characterization of the S-alleles and compatibility among hybrid pear tree cultivars for subtropical regions. *HortScience.* 54(12), 2104–2110. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI14261-19>.
- Bisi, R.B., Pio, R., Locatelli, G., Tadeu, M.H., Zambon, C.R., Silva, D.M., 2019b. Determination of Potential Pollinizer Grafted Pear Hybrids (*Pyrus communis* × *Pyrus pyrifolia*) for Subtropical Regions in Brazil. *J. Agric. Sci.* 11(6), 191-198. <https://doi.org/10.5539/jas.v11n6p191>.
- Bisi, R.B., Pio, R., Locatelli, G., Farias, D.H., Botelho, F.B.S., 2021. General and specific combining ability in the selection of polliniser cultivars of hybrid pear trees (*Pyrus communis* x *P. pyrifolia*). *Sci. Hortic.* 277, 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109797>.
- Chagas, E.A., Campo Dall’Orto, F.A., Ojima, M., Barbosa, W., Pio, R., 2008. Pear ‘IAC Princesinha’: new european type cultivar for subtropical climate. *Acta Hortic.* 800, 507-510. <https://doi.org/10.17660/actahortic.2008.800.65>.

- Close, D.C., Bound, S.A., 2017. Advances in understanding apple tree growth: The manipulation of tree growth and development, in: Evans, K., (Ed.) *Achieving Sustainable Cultivation of Apples*. Burleigh Dodds Science Publishing Ltd., Cambridge, UK, pp. 1–32, 2017. <http://dx.doi.org/10.19103/AS.2016.0017.29>.
- Costa, F.R, Santana, T.N, Sudré, C.P, Rodrigues, R., 2009. Marcadores RAPD e caracteres morfoagronômicos na determinação da diversidade genética entre acessos de pimentas e pimentões. *Cienc. Rural*. 39, 696-704. <https://doi.org/10.1590/S0103-84782008005000099>.
- Cruz, C. D., 2013. GENES - A software package for analysis in experimental statistics and quantitative genetics. *Acta Sci.* 35(3), 271-276. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v35i3.21251>.
- Cruz, C.D., Regazzi, A.J., Carneiro, P.C.S., 2004. *Modelos biométricos aplicados ao melhoramento genético*, third ed. Viçosa, UFV.
- Einhorn, T.C., 2018. A review of recent *Pyrus*, *Cydonia* and *Amelanchier* rootstock selections for high-density pear plantings. *Acta Hortic.* 1303, 185–196. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2021.1303.27>
- Gonçalves, D.L., Ambrozio, V.C., Barelli, M.A.A., Neves, L.G., Paiva Sobrinho, S., Luz, P.B., Silva, C.R., 2014. Divergência genética de acessos tradicionais de feijoeiros através de características da semente. *Biosci. J.* 30, 1671-1681. <http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/21958>.
- Gower, J.C., 1971. A general coefficient of similarity and some of its properties. *Biometrics*. 27(4), 857-874. <https://doi.org/10.2307/2528823>.
- Greco, S.M.L., Peixoto, J.R., Ferreira, L.M., 2014. Avaliação física, físico-química e estimativas de parâmetros genéticos de 32 genótipos de maracujazeiro-azedo cultivados no Distrito Federal. *Biosci. J.* 30, 360-370. <http://www.seer.ufu.br/index.php/biosciencejournal/article/view/19858>.

- Greene, D.W., 2003. Endogenous hormones and bioregulators use on apple, in: Ferre, D.C., Warrington, J.J. (Eds.), Apples botany, production use. Cabi Publishing, Wallingford, pp. 660. <https://doi.org/10.1079/9780851995922.0437>.
- Heidari, P., Rezaei, M., Sahebi, M., Khadivi, A., 2019. Phenotypic variability of *Pyrus boissieriana* Buhse: Implications for conservation and breeding. *Sci. Hortic.* 247, 1–8. <https://doi.org/doi:10.1016/j.scienta.2018.11.075>.
- International union for the protection of new varieties of plants (UPOV), 2000. Guidelines for the conduct of tests for distinctness, uniformity and stability/ Pear (*Pyrus communis* L.). Geneva. <https://www.upov.int/edocs/tgdocs/en/tg015.pdf>.
- Isuzugawa, K., Murayama, H., Nishio, T., 2014. Characterization of a giant-fruit mutant exhibiting fruit-limited polyploidization in pear (*Pyrus communis* L.). *Sci. Hortic.* 170, 196–202. <https://doi.org/doi:10.1016/j.scienta.2014.03.009>.
- Kumar, S., Nei, M., Dudley, J., Tamura, K., 2009. Mega: a biologist-centric software for evolutionary analysis of DNA and protein sequences. *Brief Bioinform.* 9(4), 299-306. <https://doi.org/10.1093/bib/bbn017>.
- Leão, P.C. de S., Motoike, S.Y., 2011. Genetic diversity in table grapes based on RAPD and microsatellite markers. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 46, 1035-1044. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2011000900010>.
- Li, J., Xu, Y., Niu, Q., He, L., Teng, Y., Bai, S., 2018. Abscisic Acid (ABA) Promotes the Induction and Maintenance of Pear (*Pyrus pyrifolia* White Pear Group) Flower Bud Endodormancy. *Int. J. Mol. Sci.* 19(1), 310. <https://doi.org/doi:10.3390/ijms19010310>
- Martinello, G.E, Leal, N.R, Amaral Júnior, A.T, Pereira, M.G, Daher, R.F., 2002. Divergência genética em acessos de quiabeiro com base em marcadores morfológicos. *Hort. bras.* 20, 52-58. <https://doi.org/10.1590/S0102-05362002000100010>.

- Mojena, R., 1977. Hierarchical grouping methods and stopping rules: An evaluation. *Comput. J.* 20(4), 359-363. <https://doi.org/10.1093/comjnl/20.4.359>.
- Nogueira, P.V., Coutinho, G., Pio, R., Silva, D.F. da Zambon, C.R., 2016. Establishment of growth medium and quantification of pollen grains and germination of pear tree cultivars. *Cienc Agron.* 47, 380-386. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20160045>.
- Paiva, C.L., Viana, A.P., Santos, E.A., Silva, R.N.O., Oliveira, E.J., 2014. Diversidade genética de espécies do gênero *Passiflora* com o uso da estratégia Ward- MLM. *Rev. Bras. Frutic.* 36(2) 381-390. <https://doi.org/10.1590/0100-2945-156/13>.
- Petri, J.L., Haverroth, F.J., Leite, G.B., Sezerino, A.A., Couto, M., 2016. Reguladores de crescimento para frutíferas de clima temperado. Epagri, Florianópolis.
- Preisigke, S.C., Campos, A.L., Souza, N.S., Neves, L.G., Barelli, M.A.A., Luz, P.B., Araújo, K.L., Sobrinho, S.P., 2013. Genetic divergence in mango and obtaining minimum efficient descriptors. *Am. J. Plant Sci.* 4(12), 2318-2322. <https://doi.org/10.4236/ajps.2013.412287>.
- Rana, J.C., Chahota, R.K., Sharma, V., Rana, M., Verma, N., Verma, B., Sharma, T.R., 2015. Genetic diversity and structure of *Pyrus* accessions of indian Himalayan region based on morphological and SSR markers. *Tree Genet. Genomes.* 11, 821. <https://doi.org/10.1007/s11295-014-0821-2>.
- Rocha, M.C., Gonçalves, L.S.A., Rodrigues, R., Silva, P.R.A., Carmo, M.G.F., Abboud, A.C.S., 2010. Uso do algoritmo de Gower na determinação da divergência genética entre acessos de tomateiro do grupo cereja. *Acta Sci. Agron.* 32(3) 423-431, 2010. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v32i3.4888>.
- Said, A.A., Ahmed, O., Fatima, G., Marie, H.S., Cherkaoui, E.M., 2013. Phenotypic biodiversity of an endemic wild pear, *Pyrus mamorensis* Trab., in North-western Morocco using morphological descriptors. *Genet Resour Crop Evol.* 60, 927-938. <https://doi.org/10.1007/s10722-012-9889-4>.

- Santiago-Pereira, L., Ferreira, A.R., dos Santos, A.M.R.C., Saub, F., Díaz-Hernández, M.B., 2012. Morphological variation in local pears from north-western Spain. *Sci Hortic.* 138, 176–182. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2012.02.007>.
- Singh, D. 1981., The relative importance of characters affecting genetic divergence. *The Indian Journal of Genetics e Plant Breeding.* 41, 237-245.
- Stern, R.A., Sapir, G., Zisovich, A., Goldway, M., 2018. The Japanese pear ‘Hosui’ improves the fertility of European pears ‘Spadona’ and ‘Coscia’. *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus.* 228, 162–166. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.09.050>.
- Trivedi, A.K., Krishna, H., Verma, S.K., Tyagi, R.K., Arya, R.R., 2012. Genetic diversity of pear (*Pyrus* spp.) in Uttarakhand Himalayas. *Indian J Plant Genet Resour.* 26, 32–37.
- Vieira, J., Rocha, S., Vázquez, N., López-Fernández, H., Fdez-Riverola, F., Reboiro- Jato, M., Vieira, C.P., 2019. Predicting specificities under the non-self gametophytic self-incompatibility recognition model. *Front. Plant Sci.* 10, 879. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00879>.
- Weiguo, Z., Zhihua, Z., Xuexia, M., Yong, Z., Sibao, W., Jianhua, H., Hui, X., Yile, P., Yongping, H., 2007. A comparison of genetic variation among wild and cultivated *Morus* species (Moraceae: *Morus*) as revealed by ISSR and SSR markers. *Biodivers. Conserv.* 16(2), 275-290. <https://doi.org/10.1007/s10531-005-6973-5>.

## ARTIGO 2

### Seleção de cultivares polinizadoras para pereiras em clima subtropical

Artigo formatado de acordo com a revista Scientia Horticulturae

**Resumo:** A exploração econômica da pereira nos trópicos é possível quando se utiliza cultivares híbridas (*Pyrus communis* x *P. pyrifolia*), obtidas pelo cruzamento entre cultivares europeias e asiáticas. Os programas de melhoramento genético do Brasil lançaram algumas cultivares em décadas passadas. A pereira necessita de polinização cruzada para melhoria da fixação de frutos em plantios comerciais. E, no caso dessas pereiras híbridas, não se conhece quais as melhores combinações entre cultivares receptoras e doadoras de pólen para o cultivo em regiões subtropicais. Objetivou-se com este estudo selecionar cultivares polinizadoras de pereiras para regiões subtropicais. Foram utilizadas 4 cultivares receptoras de grãos de pólen ('Packham's Triumph', 'Tenra' 'Triunfo' e 'Seleta') e 3 doadoras ('Cascatense', 'Primorosa' e 'Shinseiki'). Foi constatada receptividade estigmática em todas as cultivares avaliadas, durante todos os estágios de desenvolvimento reprodutivo. A viabilidade dos grãos de pólen foi alta para todas as cultivares estudadas. A cultivar 'Seleta' foi a melhor receptora. O cruzamento 'Seleta' x 'Shinseiki' apresentou maiores percentuais de frutificação. Após a germinação dos grãos de pólen, os tubos polínicos apresentaram crescimento no estilete, com redução gradativa das porcentagens até as 72h. As maiores porcentagens de pistilos com tubo polínicos que atingem o ovário foram observadas nas combinações 'Triunfo' x 'Shinseiki' e 'Seleta' x 'Shinseiki', reforçando a aptidão da cultivar 'Shinseiki' como doadora de grãos de pólen e da cultivar 'Seleta' como receptora de grãos de pólen.

**Palavras-chaves:** Polinização, cruzamentos, grão de pólen.

**Abstract:** The pears production in subtropical climate regions is possible when using hybrid cultivars, (*Pyrus communis* x *P. pyrifolia*), obtained by crossing European and Asian cultivars. Brazil's genetic breeding programs launched some cultivars in the past decades. The pear tree needs cross-pollination to improve fruit fixation in commercial plantations, in the case of hybrid pear trees, it is not known which are the best pollen combinations between receiver and donor cultivars for subtropical regions cultivation. The objective of this study was to select pollinator cultivars of pear trees for subtropical regions. Four pollen receiver cultivars ('Packham's Triumph', 'Tenra', 'Triunfo' and 'Seleta') and three donor cultivars ('Cascatense', 'Primorosa' and 'Shinseiki') were used. Stigma receptivity was found in all cultivars evaluated, during all reproductive development stages. The 'Seleta' was the best receiver cultivar. The 'Seleta' x 'Shinseiki' cross showed higher fruiting percentages. After pollen grains germination, the pollen tubes showed growth in the style, with a gradual reduction in percentages until 72h. The highest percentages of pistils with pollen tube reaching the ovary were observed in the 'Triunfo' x 'Shinseiki' and 'Seleta' x 'Shinseiki' combinations, reinforcing the aptitude of the 'Shinseiki' cultivar as a pollen grain donor and the 'Shinseiki' cultivar 'Seleta' as a recipient of pollen grains.

**Keywords:** Pollination, crossings, pollen grain.

## 1. INTRODUÇÃO

As pereiras (*Pyrus* spp.) são originárias de regiões com clima temperado. As cultivares europeias (*Pyrus communis*) possuem maior necessidade em frio, seus frutos são piriformes, macios e de alta qualidade organoléptica. Já as cultivares asiáticas (*Pyrus pyrifolia*) possuem menor necessidade em frio e podem ser exploradas nos trópicos, seus frutos são firmes e de formato redondo (Curi et al., 2017).

A exploração da pereira em regiões subtropicais foi possível graças aos trabalhos de melhoramento genético, na obtenção das pereiras híbridas, resultantes do cruzamento entre

*Pyrus communis* x *Pyrus pyrifolia* (Pio et al., 2019). Essas pereiras híbridas possuem a qualidade das frutas europeias e a baixa necessidade em frio exigidas pelas pereiras asiáticas (Barbosa et al., 2018).

A baixa frutificação é um dos fatores limitantes para a expansão do cultivo de pereira nos trópicos (Bettiol Neto et al., 2014). As pereiras possuem autoincompatibilidade gametofítica, decorrente da presença do mesmo alelo-S nos grãos de pólen e nos estigmas (Matsumoto et al., 2012). Esta autoincompatibilidade torna o cultivo dependente da polinização cruzada para uma frutificação satisfatória (Vieira et al., 2019).

Não há indicações de plantas polinizadoras para as cultivares híbridas em regiões subtropicais e, certamente, é uma das principais razões para a baixa frutificação, relacionada ao processo de polinização. A ausência de fertilização do óvulo em flores da pereira resulta em um menor número de frutos e ocasiona a redução na produção (Bisi et al., 2019b).

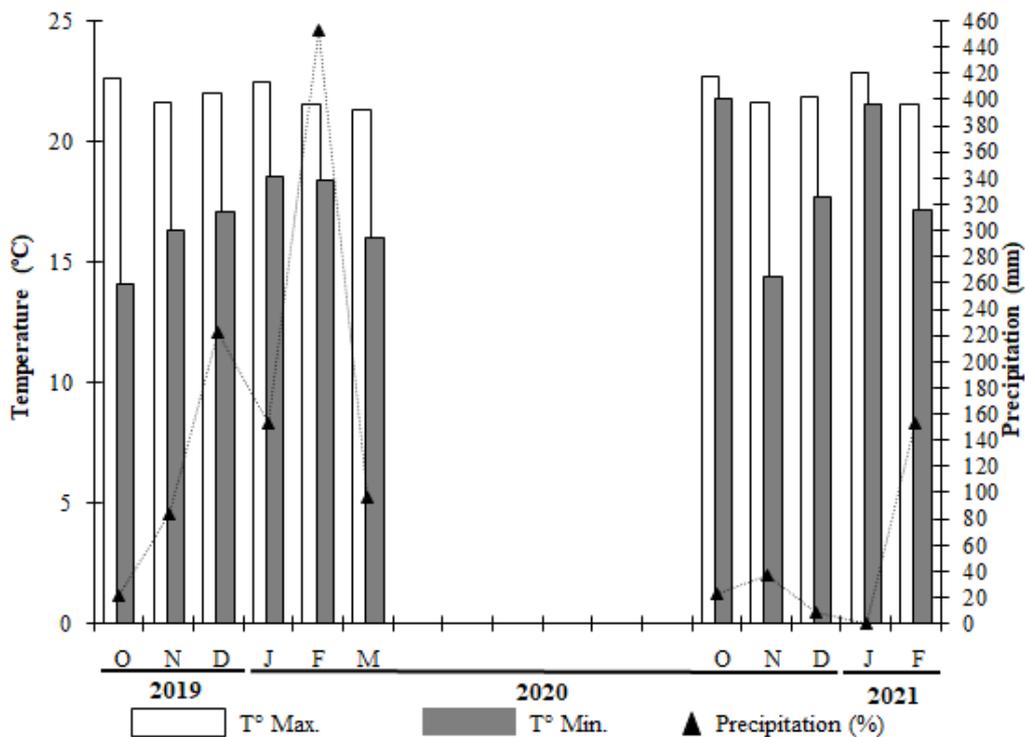
A seleção de cultivares polinizadoras permite aumentar o número de sementes e, conseqüentemente, a melhoria da quantidade e qualidade dos frutos (Stern et al., 2018). Diante da necessidade de polinização cruzada para uma produção satisfatória, o conhecimento da biologia floral dessas cultivares e a identificação da compatibilidade entre elas incluem-se entre os fatores determinantes para o sucesso da produção.

Objetivou-se com este estudo selecionar cultivares polinizadoras para pereiras híbridas em clima subtropical por meio da análise de hibridação e crescimento de tubo polínico.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

O experimento foi realizado entre os anos de 2019 e 2021 no município de Lavras, Minas Gerais, Brasil (21°14'S, 45°00'W e 918 m de altitude). A classificação climática para essa região é Cwa - clima subtropical, com inverno frio e seco, e verão quente e úmido (Alvares et al., 2013).

Durante o período que antecedeu o início do experimento, foram padronizadas coletas diárias da temperatura mais baixa do dia (5h da manhã) e a temperatura mais alta (14h da tarde), além da precipitação acumulada diariamente (Figura 1). Os dados climáticos correspondem aos meses de outubro a março, quando as pereiras estão em fase de floração.



**Figura 1.** Dados climáticos de outubro a março para as safras 2019/2020 e 2020/2021 em Lavras – MG. Source: Estação Climatológica Principal de Lavras – UFLA/INMET.

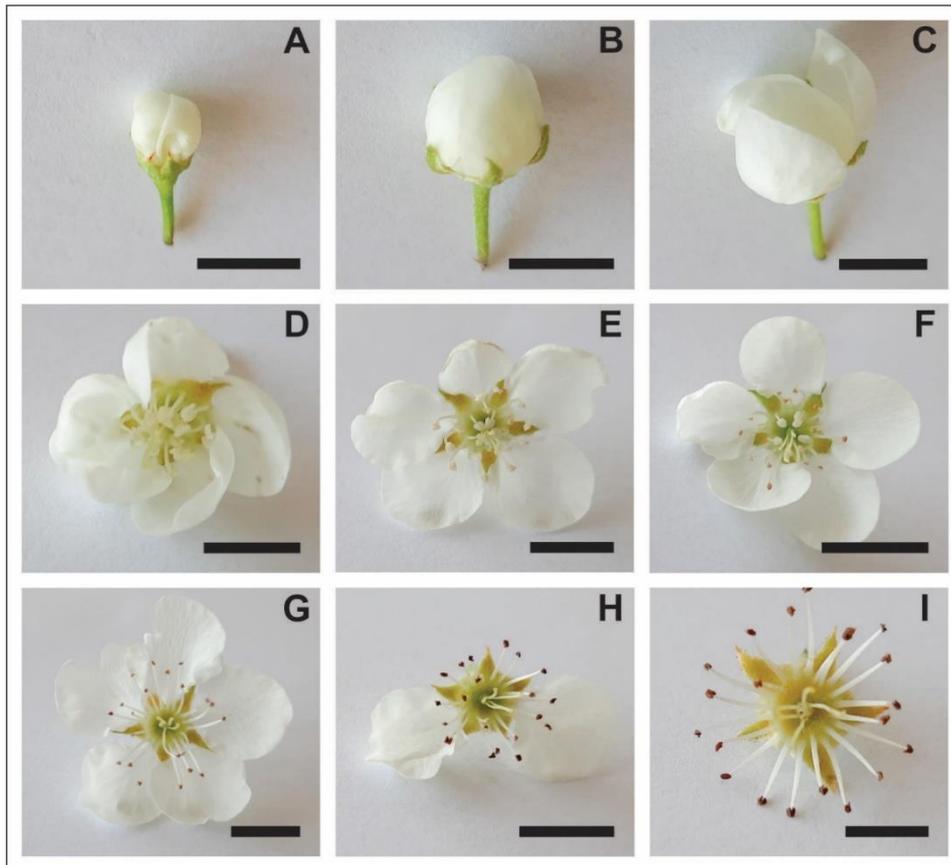
Foram utilizadas cinco cultivares de pereiras híbridas (*P. communis* x *P. pyrifolia*): ‘Cascatense’ (Packham’s Triumph’ x ‘Le Conte’ – Embrapa, Brazil), ‘Primorosa’ (Hood’ x ‘Packham’s Triumph’ – IAC, Brazil), ‘Seleta’ (‘Hood’ x ‘Packham’s Triumph’ – IAC, Brazil), ‘Tenra’ (‘Madame Sieboldt’ x ‘Packham’s Triumph’ – IAC, Brazil) e ‘Triunfo’ (‘Hood’ x ‘Packham’s Triumph’ – IAC, Brazil); uma cultivar europeia: ‘Packham’s Triumph’; e uma cultivar asiática: ‘Shinseiki’. A escolha das cultivares foi baseada na adaptabilidade a condições subtropicais (Bisi et al., 2019a).

As mudas de pereira foram enxertadas em porta-enxerto de *P. calleryana* e levadas a campo em outubro de 2010, no espaçamento 3,0 x 4,0 metros (833 plantas ha<sup>-1</sup>), conduzidas em sistema de líder central modificado. Todos os tratamentos culturais e fitossanitários foram realizados com base nos tratamentos recomendados para a pereira (Bettiol Neto et al., 2014).

Para a caracterização e descrição floral das espécies, foram selecionadas três plantas, em fase reprodutiva, das cultivares utilizadas como receptoras de grãos de pólen: ‘Packham’s Triumph’, ‘Seleta’, ‘Tenra’, ‘Triunfo’. De cada indivíduo foram coletadas inflorescências, em diferentes estágios de desenvolvimento, onde foram realizadas observações morfológicas qualitativas das gemas e dos verticilos florais: cálice, corola, gineceu e androceu. Os resultados foram registrados e ilustrados por meio de fotografias com escala e condições óticas adequadas.

Para avaliação da receptividade estigmática, flores em pré-antese foram protegidas com sacos de material organza. Foram coletadas de cada cultivar 10 flores por estágio, sendo quatro cultivares utilizadas como receptoras de grão de pólen (‘Packham’s Triumph’, ‘Seleta’, ‘Tenra’, ‘Triunfo’), e nove fases fenológicas reprodutivas (3F1, 3F2, 3F3, 3F4, 3F5, 3F6, 3F7, 3F8 e 3F9 - Figura 2), de acordo com Faoro (2009).

A receptividade estigmática foi verificada pelo aspecto viscoso e umectante do estigma (Almeida, 1986) e testada com peróxido de hidrogênio a 3% (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) (Kearns and Inouye, 1993) para detectar a ação da enzima peroxidase, cuja presença foi indicada pela formação de pequenas borbulhas em estigmas receptivos.



**Figura 2.** Fases fenológicas reprodutivas, sendo: **3F1**) botão floral recém emergido da gema (A), **3F2**) botão floral em fase balão (B), **3F3**) botão floral em fase “balão”, imediatamente antes de sua antese (C); **3F4**) flor recém-aberta e as pétalas ainda curvadas (D); **3F5**) flor com pétalas bem estendidas e anteras brancas (E); **3F6**) flor com pétalas bem estendidas com três ou metade das anteras pretas (F); **3F7**) flor com pétalas bem estendidas e com mais da metade ou todas as anteras pretas (G); **3F8**) flor com uma ou algumas pétalas caídas e todas as anteras pretas (H); **3F9**) flor sem pétalas e todas as anteras pretas (I). Barras de escala: 1,00 cm. Fotos: Natália Ferreira Suárez.

Para a viabilidade dos grãos de pólen por coloração, flores das cultivares utilizadas como doadoras de grão de pólen (‘Cascatense’, ‘Primorosa’ e ‘Shinseiki’) foram coletadas, fixadas em álcool etílico: ácido acético: ácido propiônico (6:3:2), e armazenadas a  $-4^{\circ}\text{C}$ . As anteras foram excisadas sob microscópio estereoscópico e posteriormente as lâminas foram preparadas pela técnica de esmagamento e coradas com os corantes Carmim propiônico 2% e Alexander 2% (Alexander, 1980).

Para a coloração com o corante Alexander, foram considerados viáveis os grãos de pólen que exibiam cor roxa sem deformações e considerados inviáveis quando manchados de verde.

Para coloração com a utilização do corante Carmim propiônico, foram considerados viáveis os grãos de pólen que apresentavam citoplasma corados de vermelho, e inviáveis os grãos de pólen incolores (Silva et al., 2020).

Foram avaliadas cinco lâminas para cada método com utilização de corantes, sendo analisados 200 grãos de pólen por lâmina. A porcentagem de pólen viável foi calculada em função do número total de grãos de pólen avaliados. Todas as lâminas foram observadas sob um microscópio de luz (Carl Zeiss, AxioLabA1) equipado com uma microcâmera (AxioCam ICc1) para captura das imagens.

As hibridações em campo foram realizadas entre três cultivares doadoras de grãos de pólen ('Cascatense', 'Primorosa' e 'Shinseiki') e quatro cultivares receptoras ('Packham's Triumph', 'Seleta', 'Tenra', 'Triunfo'), totalizando 12 cruzamentos, realizadas para duas safras produtivas (2019/2020 e 2020/2021).

As anteras dos botões florais das cultivares polinizadoras foram retiradas, acondicionadas em placas de petri, e secas em sílica gel por 24h para liberação dos grãos de pólen. Botões florais em estágio de balão foram emasculados, com posterior toque dos estigmas com pincel fino, de modo a transportar os grãos de pólen das cultivares doadoras. Posteriormente, os ramos foram ensacados com sacos de organza para evitar contaminação, por aproximadamente 40 dias, para posterior avaliação da taxa de frutificação efetiva que foi obtida pela diferença entre o número de flores polinizadas e o número de frutos formados (Paula et al., 2015).

Algumas cultivares de pereiras exibem a partenocarpia como alternativa à incompatibilidade, o que pode tornar a frutificação um parâmetro inadequado de avaliação (Liu et al., 2018). Sendo assim, a avaliação da formação de sementes foi realizada em frutos no ponto de colheita, com o intuito de eliminar os efeitos da partenocarpia.

A avaliação do crescimento/desenvolvimento do tubo polínico foi realizada da mesma forma que as hibridações controladas em campo e nos mesmos 12 cruzamentos. Porém, ao invés de avaliar a frutificação efetiva, as flores foram coletadas 6, 12, 24, 48, 72, 96, 120 horas após as polinizações.

Imediatamente após a coleta das flores, os estiletos foram fixados em Carnoy (Etanol: ácido acético, 3:1): e encaminhados ao laboratório de Citogenética (UFLA). Para avaliação do desenvolvimento dos tubos polínicos foi utilizada a técnica de fluorescência. Os pistilos foram cortados longitudinalmente na base, com os ovários intactos, submersos em placas de relógio com NaOH 8N e, encaminhados para estufa a 25 °C por 10 a 15 minutos. Foram posteriormente lavados com água destilada três vezes e transferidos para uma lâmina com uma gota de solução de azul de anilina 0,1% em K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub> (0,1 M). As observações foram feitas em microscópio invertido Olympus IMT-2, com aparato de epifluorescência, com filtros de 450 nm.

Foram avaliadas cinco lâminas para cada tratamento, determinando-se: presença de grãos de pólen depositados na superfície estigmática; presença de tubos polínicos no tecido de transmissão do estilete; e presença de tubos polínicos nos ovários.

Para a avaliação da i) frutificação efetiva (variável dependente) de cada cultivar entre as épocas (anos 2019/2020 e 2020/2021) e ii) da receptividade estigmática (variável dependente) de cada cultivar entre as fases fenológicas foram utilizadas ANOVAs two-way. Para a frutificação efetiva, foi utilizada a transformação  $\sqrt{x + 0,5}$  para atendimento dos pressupostos de homogeneidade de variâncias e normalidade. Porém, para a avaliação da viabilidade dos grãos de pólen entre as cultivares, os tipos de corantes, e as interações, foram utilizados os Modelos Lineares Generalizados (GLM) que consideram a inexistência de normalidade na distribuição dos resíduos corrigindo falhas de acerto na decisão estatística.

As comparações *a posteriori* foram feitas por meio de intervalos de confiança de 95% (IC95%) nos gráficos apresentados. Quando um IC95% de um tratamento qualquer não se sobrepõe à média de outro tratamento, indica diferenças significativas.

Foi utilizado o modelo de regressão logística (Hosmer and Lemeshow, 1989) para conhecer a relação entre a variável resposta categórica binária (ocorrência de tubos polínicos em cada local dos pistilos assumindo valor 0 para ausência ou 1 para presença) e a variável dependente quantitativa, tempo após as polinizações (6h, 12h, 24h, 48h, 72h, 96h e 120h). O modelo foi descrito pela equação:

$$Y = \frac{1}{1 + e^{-(\alpha + \beta_1 X_1 + \beta_2 X_2 + \dots + \beta_i X_i)}} \quad \text{Equação 1}$$

Onde: Y é a probabilidade de ocorrência de tubos polínicos,  $\alpha$  é análogo ao intercepto na regressão linear e  $\beta_i$  representa o coeficiente da variável explanatória  $X_i$ .

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. Caracterização e descrição da morfologia floral

Durante a descrição floral não se observou diferenças morfológicas nas estruturas reprodutivas entre as cultivares de pereiras utilizadas como receptoras.

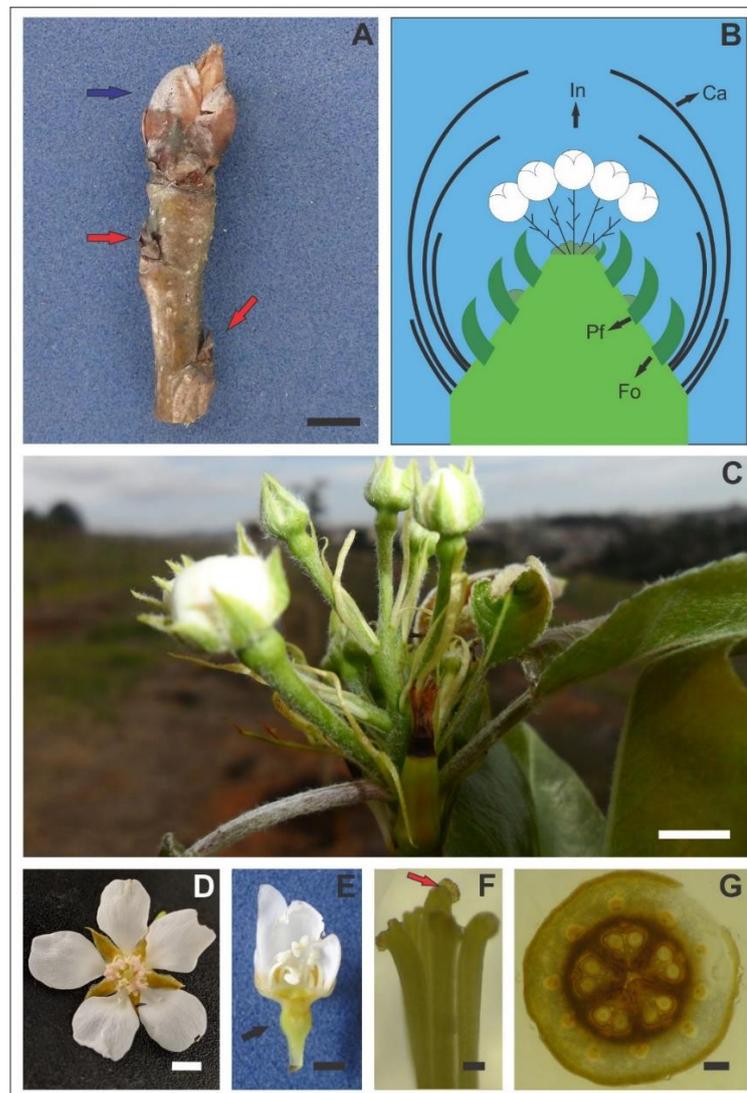
A pereira apresenta gemas vegetativas e mistas. As gemas vegetativas são eixos caulinares dispostos individualmente, ao longo da planta. Tratam-se de ramos embrionários vegetativos, pequenos, de formato acuminado, envoltos por numerosos catáfilos de formato escamiforme e aspecto tomentoso. Sua diferenciação resulta na formação de novas folhas (Figura 3A).

As gemas mistas, tratam-se de ramos embrionários que apresentam, na mesma estrutura, a parte vegetativa e florífera. Morfologicamente, diferem-se das gemas vegetativas devido ao seu maior tamanho e formato arredondado do ápice do ramo. Também se caracterizam pela

presença de numerosos catáfilos de formato escamiforme, tomentosos envolvendo o tecido meristemático (Figura 3A).

A inflorescência da pereira é um racemo (Figura 3B e C), as flores são epígenas, geralmente pentâmeras e dotadas de todos os verticilos florais, e apresentam número variado de estames, livres entre si, com anteras rimosas (Figura 3D, E).

O gineceu é sincárpico e pentacarpelar, o conjunto de estigma e estilete são morfologicamente individualizados entre si na porção apical e média e fundidos na base. O ovário é ínfero constituído de cinco lóculos, contendo dois óvulos cada, de placentação axilar (Figura 3F e G).



**Figura 3.** Gemas e estruturas florais de pereira, cultivar ‘Seleta’. A- Parte de um ramo de pereira evidenciando diferentes tipos de gemas. Gemas vegetativas planas e estreitas (setas vermelhas), gema mista, maior e arredondada (seta azul). B- Esquema ilustrando a organização de um botão floral de pereira, fase final da gema mista, (Ca) catafilos de formato escamiforme, (Fo) folhas de transição, (Pf) primórdios foliares, (In) inflorescência. C- Imagem macroscópica de um botão floral, após abertura, com a inflorescência e folhas completamente desenvolvidas. D- Flor perfeita e pentâmera. E- Corte longitudinal evidenciando flor epígena, detalhe para ovário ínfero (seta). F- Estigmas e estiletos individualizados, detalhe para superfície estigmática papilosa (seta). G- Corte transversal de uma flor de pereira evidenciando o ovário pentacarpelar, contendo dois óvulos por lóculo. Barra de escala: A= 0,5 cm; C=1,00 cm; D= 0,5 cm; E= 0,5 cm; F= 300 µm; G= 200 µm. Fotos: A, B, C e E = Carolina Ruiz Zambon; D, F e G = Natália Ferreira Suárez.

### 3.2. Receptividade estigmática

Não houve diferença estatística entre as cultivares ( $F_{(3,324)}=2,40$ ;  $p=0,067$ ), para as fases fenológicas ( $F_{(8,324)}=0,71$ ;  $p=0,685$ ) ou para a interação cultivar e fase fenológica ( $F_{(24,324)}=1,05$ ;  $p=0,401$ ) com relação a receptividade estigmática.

Todos os estágios de desenvolvimento reprodutivo mostram a formação de bolhas na cavidade do estigma quando submetidos ao teste de peróxido de hidrogênio a 3%, indicando atividade da enzima peroxidase.

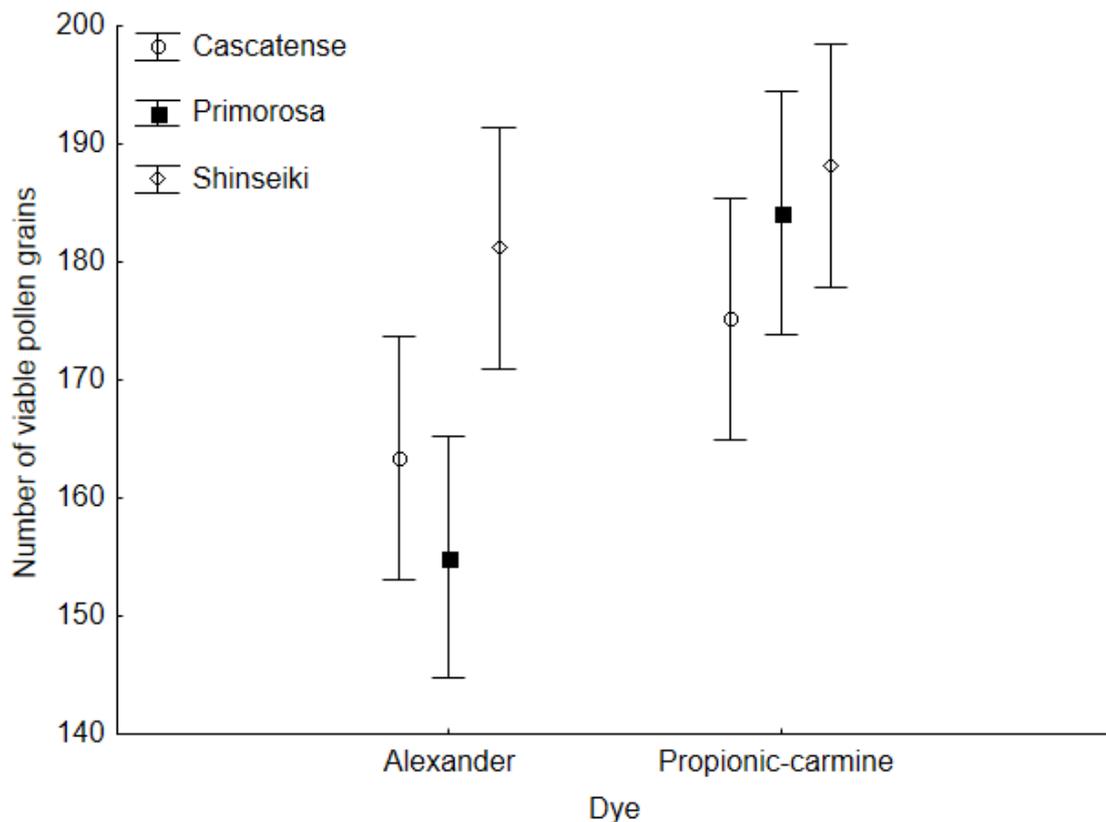
### 3.3. Viabilidade dos grãos de pólen por coloração

Houve efeito significativo entre as cultivares (Wald (g.l.=2)=16,7;  $p<0,001$ ), para os corantes (Wald (g.l.=1)=19,8;  $p<0,001$ ) e para a interação cultivar e corante (Wald (g.l.=2)=7,5;  $p<0,05$ ). Para ambos os corantes, a cultivar ‘Shinseiki’ apresentou maior viabilidade dos grãos de pólen, com 95% e 90% dos grãos de pólen viáveis com a utilização dos corantes Carmin propiônico e Alexander, respectivamente.

A cultivar ‘Cascatense’ apresentou menor viabilidade com a utilização do corante Carmin propiônico (87,5%), entretanto, com a utilização do corante Alexander, a cultivar ‘Primorosa’ foi a que apresentou menor viabilidade dos grãos de pólen (77,5%) (Figura 4). As

cultivares ‘Cascatense’ e ‘Primorosa’ foram estatisticamente iguais para ambos os corantes utilizados.

Com a utilização do corante Carmin propiônico, observou-se maior viabilidade para as cultivares ‘Cascatense’ (87,5%) e ‘Primorosa’ (92,5%), comparadas as avaliações com o corante Alexander (82,5% e 77,5% para as cultivares ‘Cascatense’ e ‘Primorosa’, respectivamente). Não houve diferença estatística entre os corantes para a cultivar ‘Shinseiki’.



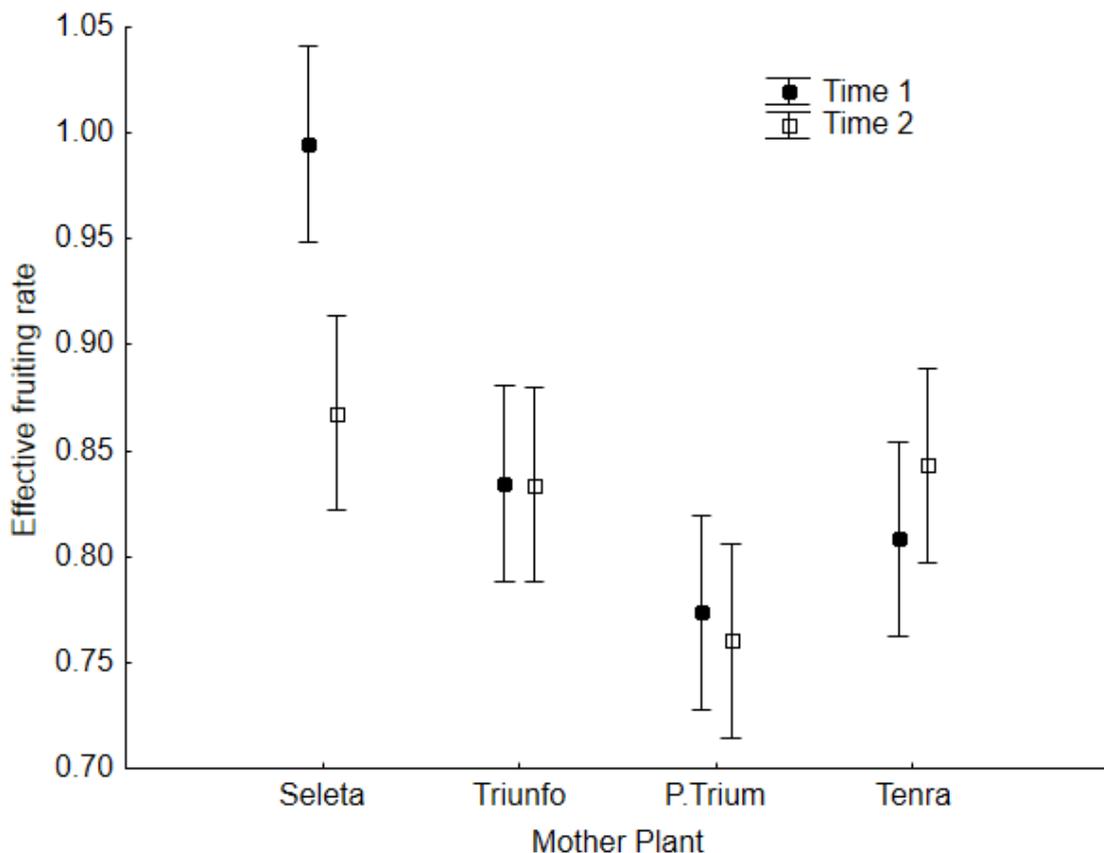
**Figura 4.** Número de grãos de pólen viáveis entre as cultivares (‘Cascatense’, ‘Primorosa’ e ‘Shinseiki’), e entre os corantes (Carmin propiônico e Alexander). As medidas de dispersão representam intervalos de confiança de 95% e a sobreposição de um intervalo de um tratamento sobre a média de outro, indica semelhança estatística.

### 3.4. Frutificação efetiva

Não houve diferença significativa entre as épocas ( $F_{(1,216)}=2,57$ ;  $p=0,110$ ), as cultivares doadoras de grãos de pólen ( $F_{(2,216)}=0,09$ ;  $p=0,916$ ), para a interação entre as épocas e as cultivares doadoras de grãos de pólen ( $F_{(2,216)}=0,15$ ;  $p=0,857$ ), interação entre cultivares

doadoras e receptoras de grãos de pólen ( $F_{(6,216)}=1,26$ ;  $p=0,279$ ), ou para a interação tripla entre as épocas, as cultivares doadoras de grãos de pólen e as cultivares receptoras de grãos de pólen ( $F_{(6,216)}=0,25$ ;  $p=0,958$ ). Houve diferença significativa entre as cultivares receptoras ( $F_{(3,216)}=16,93$ ;  $p<0,001$ ) e para a interação entre as épocas e as cultivares receptoras de grãos de pólen ( $F_{(3,216)}=4,46$ ;  $p<0,05$ ).

Somente a cultivar ‘Seleta’ apresentou diferença entre as épocas, com frutificação efetiva de 50,6% (2019/2020) e 27,2% (2020/2021). A cultivar ‘Seleta’ obteve maior frutificação efetiva (para todas as combinações de cruzamentos) na safra 2019/2020 (50,6%), seguida pelas cultivares ‘Tenra’ (16,8%) e ‘Triunfo’ (21,6%), que não diferiram entre si. A ‘Packham’s Triumph’ foi a que apresentou a menor taxa de frutificação efetiva (11,2%) (Figura 5).



**Figura 5.** Taxa de frutificação efetiva entre as cultivares receptoras de grãos de pólen (‘Seleta’, ‘Triunfo’, ‘Packham’s Triumph’ e ‘Tenra’). As medidas de dispersão representam intervalos

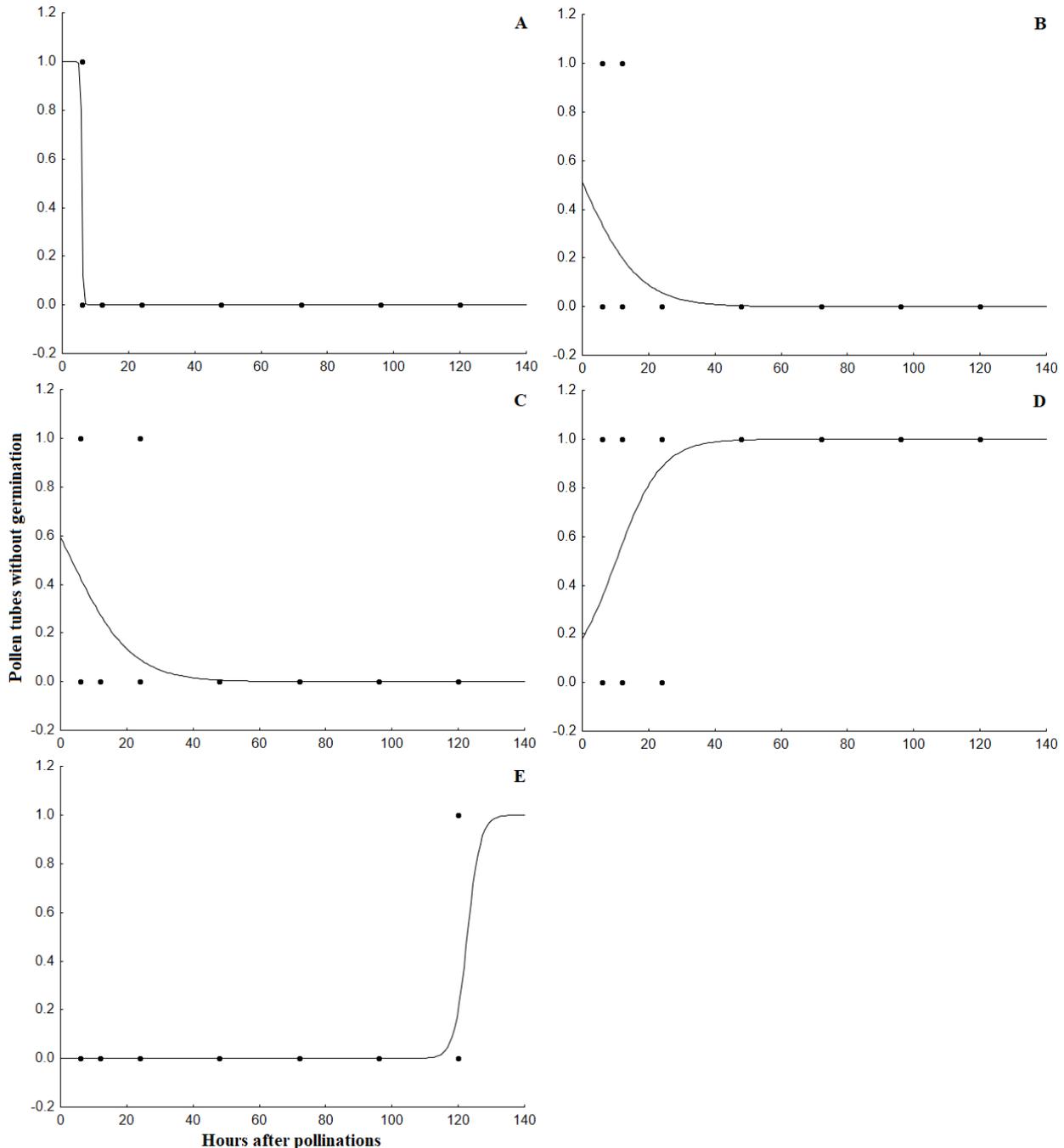
de confiança de 95% e a sobreposição de um intervalo de um tratamento sobre a média de outro, indica semelhança estatística.

Na safra 2020/2021, as maiores taxas de frutificação efetiva foram observadas para as cultivares ‘Seleta’ (27,2%), ‘Tenra’ (22,9%) e ‘Triunfo’ (20,9%), seguidas pela ‘Packham’s Triumph’, que apresentou a menor taxa de frutos fixados (8,5%).

O maior percentual de frutificação foi registrado para a combinação ‘Seleta’ x ‘Shinseiki’ nas safras 2019/2020 (60%), e 2020/2021 (34,1%). Em contrapartida, o cruzamento ‘Packham’s Triumph’ x ‘Shinseiki’ obteve os menores percentuais de frutificação para a safra 2019/2020 (6%), e 2020/2021 (4%).

### **3.5. Crescimento/Desenvolvimento de tubo polínico**

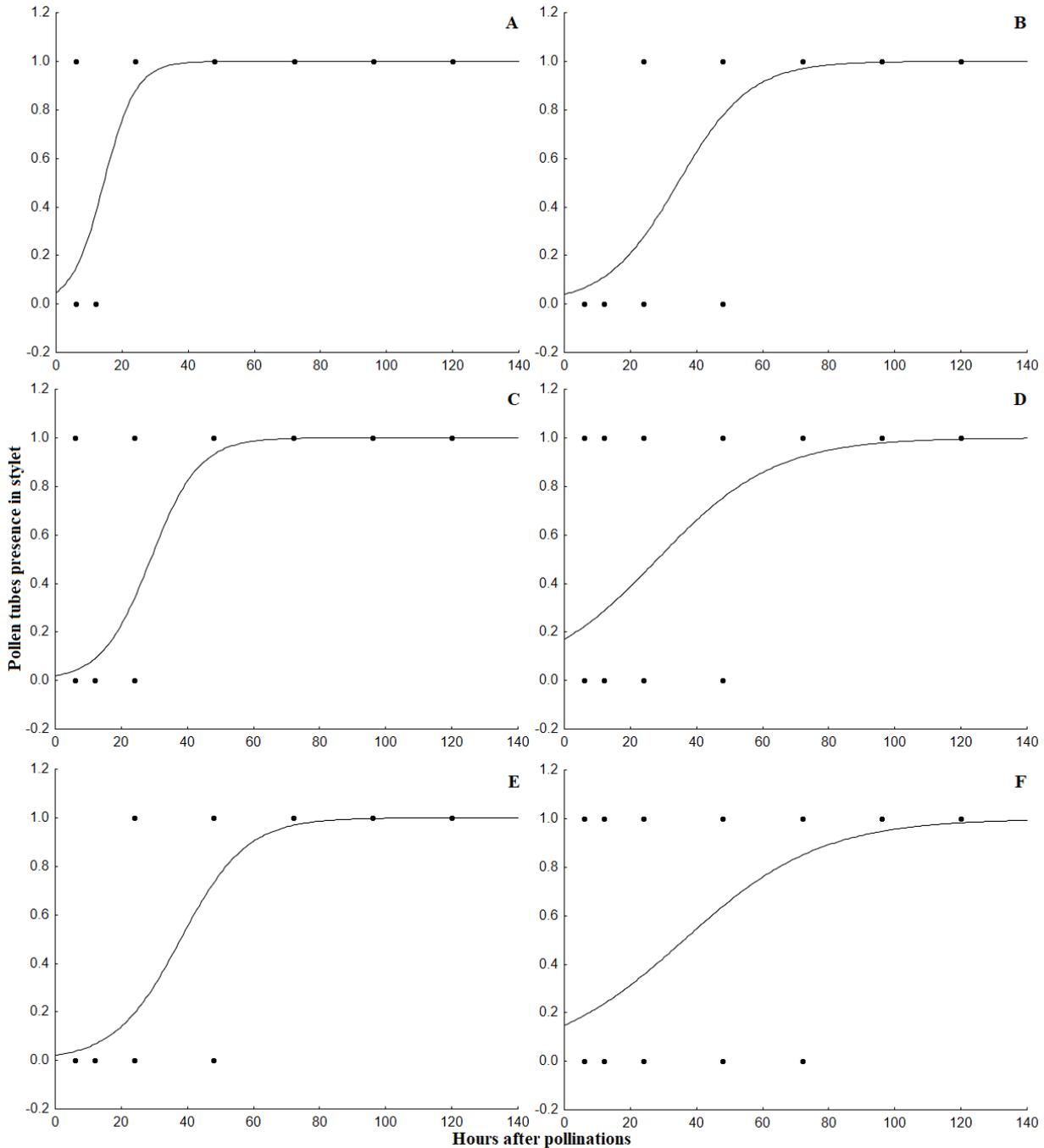
Grãos de pólen sem germinação foram significativos para os cruzamentos ‘Seleta’ x ‘Primorosa’ (Figura 6A), ‘Packham’s Triumph’ x ‘Primorosa’ (Figura 6B) e ‘Triunfo’ x ‘Cascatense’ (Figura 6C), com a ausência de pistilos sem geminação de tubo polínico a partir das 6h, 12h e 24h após as polinizações, respectivamente. Além das combinações ‘Seleta’ x ‘Shinseiki’ (Figura 6D) e ‘Packham’s Triumph’ x ‘Shinseiki’ (Figura 6E), porém, com a presença de pistilos sem germinação de tubo polínico a partir das 24h e 120h após as polinizações, respectivamente.

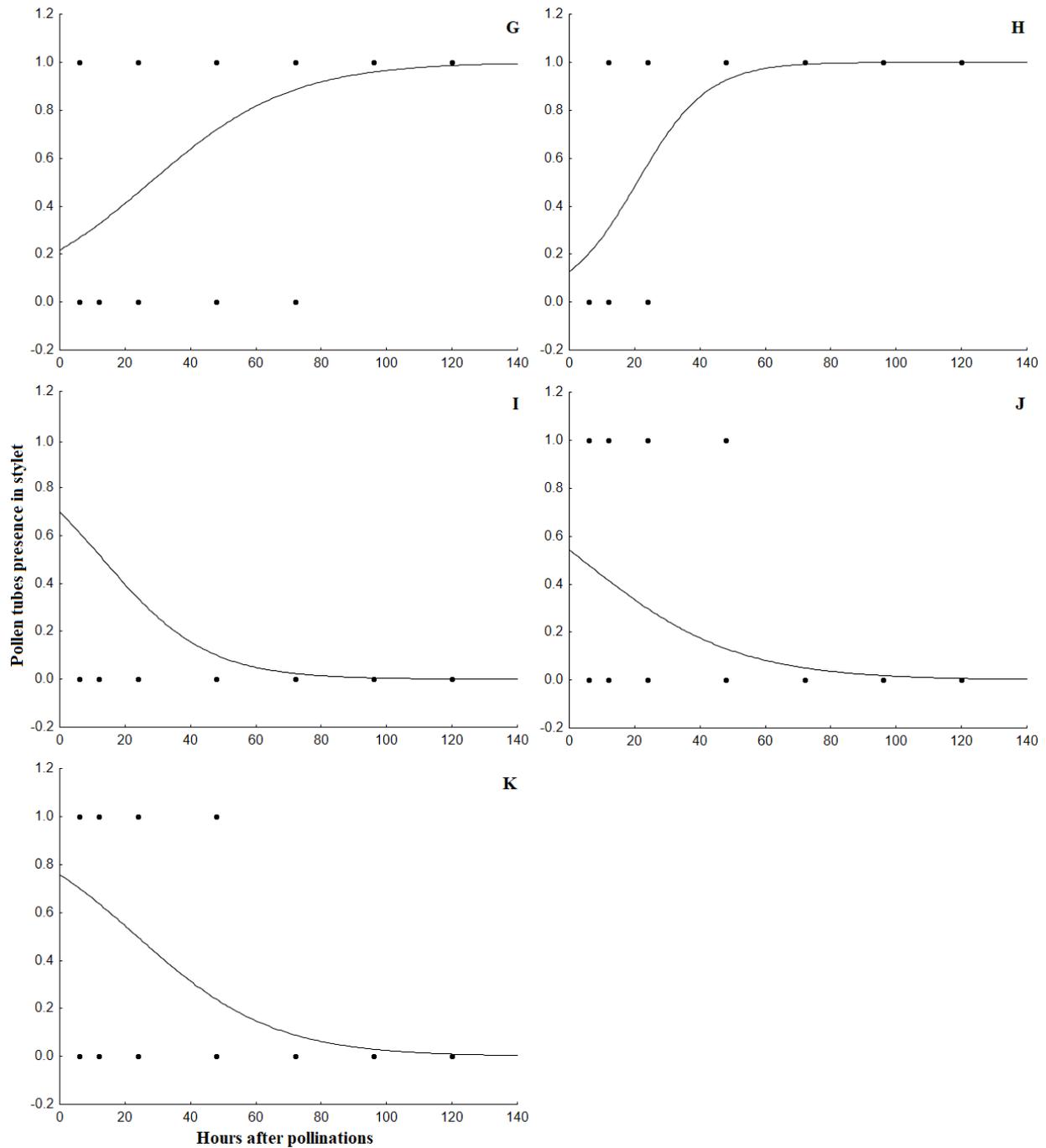


**Figura 6.** Resultados das análises de regressão logística para determinação do horário (6h, 12h, 24h, 48h, 72h, 96h e 120h) em que os pistilos não possuem germinação de grãos de pólen, para as combinações de cruzamento 'Seleta' x 'Primorosa' (A), 'Packham's Triumph' x 'Primorosa' (B), 'Triunfo' x 'Cascatense' (C), 'Seleta' x 'Shinseiki' (D) e 'Packham's Triumph' x 'Shinseiki' (E).

A presença de tubos polínicos no estilete foi significativa para os cruzamentos 'Seleta' x 'Primorosa' (Figura 7A), 'Packham's Triumph' x 'Cascatense' (Figura 7B), 'Packham's Triumph' x 'Shinseiki' (Figura 7C), 'Tenra' x 'Cascatense' (Figura 7D), 'Tenra' x 'Primorosa' (Figura 7E), 'Tenra' x 'Shinseiki' (Figura 7F), 'Triunfo' x 'Cascatense' (Figura 7G), e 'Triunfo'

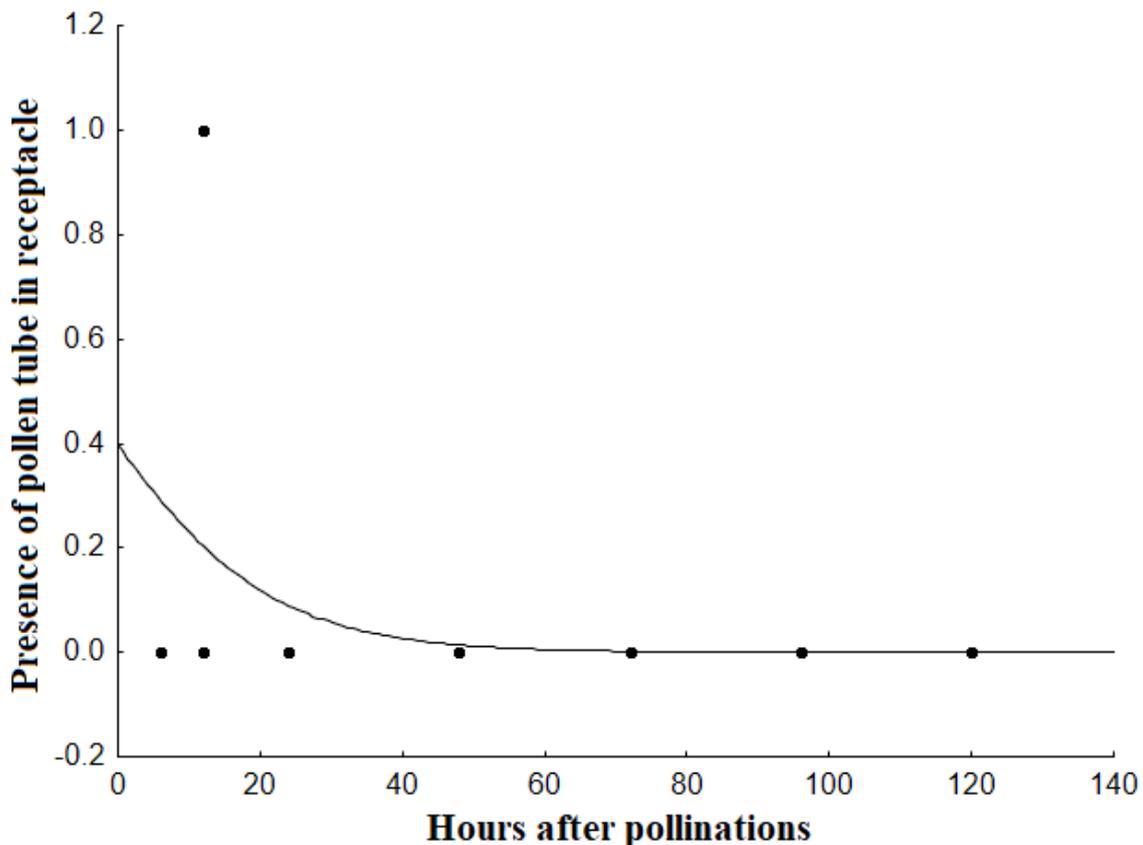
x ‘Shinseiki’ (Figura 7H), com a presença de tubo polínico no estilete a partir das 12h, 48h, 24h, 48h, 48h, 72h, 72h e 24h após as polinizações, respectivamente. Também houve relação significativa para os cruzamentos ‘Seleta’ x ‘Shinseiki’ (Figura 7I), ‘Packham’s Triumph’ x ‘Primorosa’ (Figura 7J) e ‘Triunfo’ x ‘Primorosa’ (Figura 7K), porém, com ausência de tubos polínicos nos estiletos a partir das 24h, 48h e 48h, respectivamente.





**Figura 7.** Resultados das análises de regressão logística para determinação do horário (6h, 12h, 24h, 48h, 72h, 96h e 120h) em que os pistilos possuem germinação de grãos de pólen até o estilete, para as combinações de cruzamento ‘Seleta’ x ‘Primorosa’ (A), ‘Packham’s Triumph’ x ‘Cascatense’ (B), ‘Packham’s Triumph’ x ‘Shinseiki’ (C), ‘Tenra’ x ‘Cascatense’ (D), ‘Tenra’ x ‘Primorosa’ (E), ‘Tenra’ x ‘Shinseiki’ (F), ‘Triunfo’ x ‘Cascatense’ (G), e ‘Triunfo’ x ‘Shinseiki’ (H), ‘Seleta’ x ‘Shinseiki’ (I), ‘Packham’s Triumph’ x ‘Primorosa’ (J) e ‘Triunfo’ x ‘Primorosa’ (K).

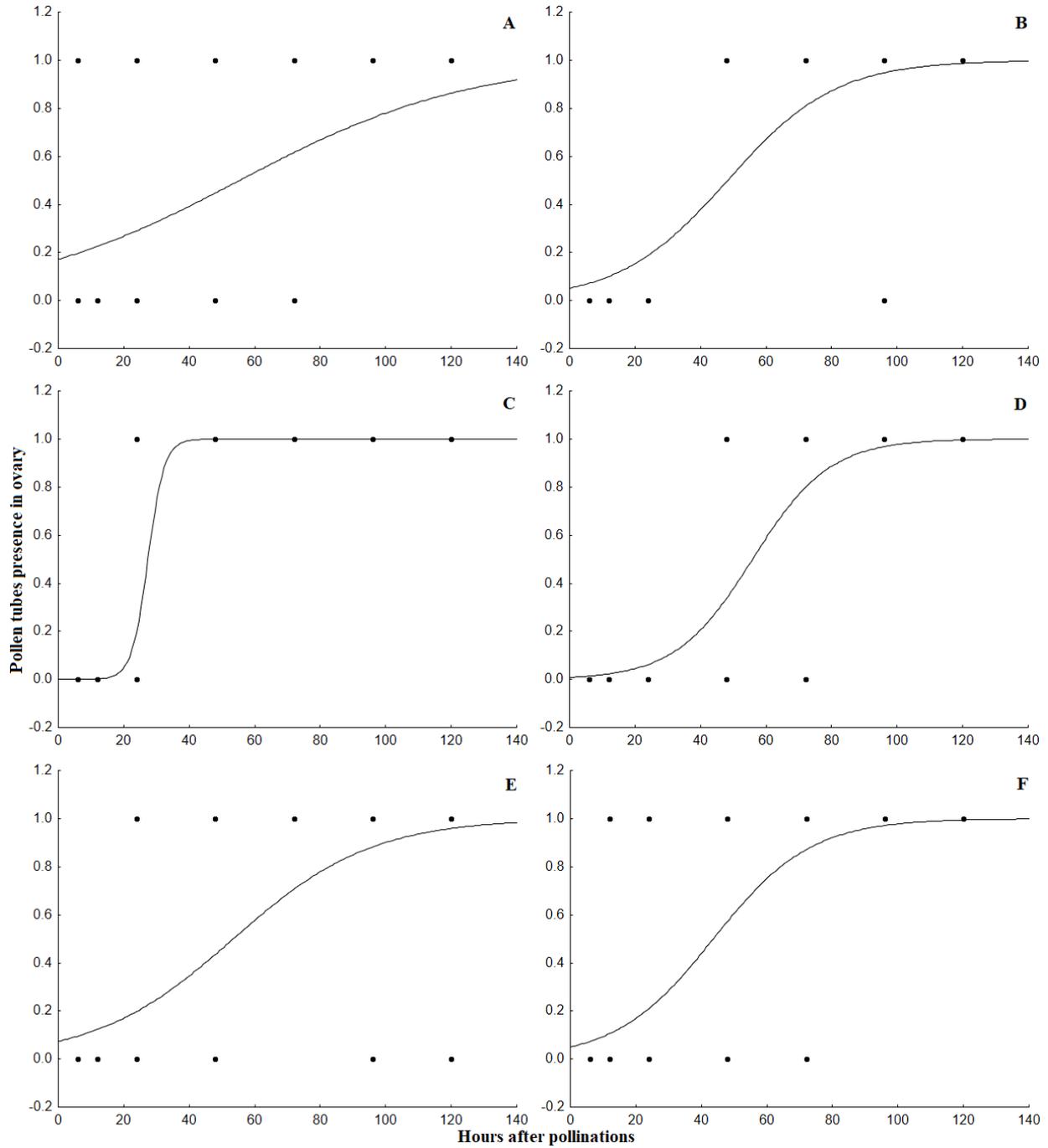
A presença de tubos polínicos no receptáculo foi significativa somente para o cruzamento ‘Seleta’ x ‘Cascatense’ (Figura 8), com ausência de tubos polínicos no receptáculo a partir das 12h.

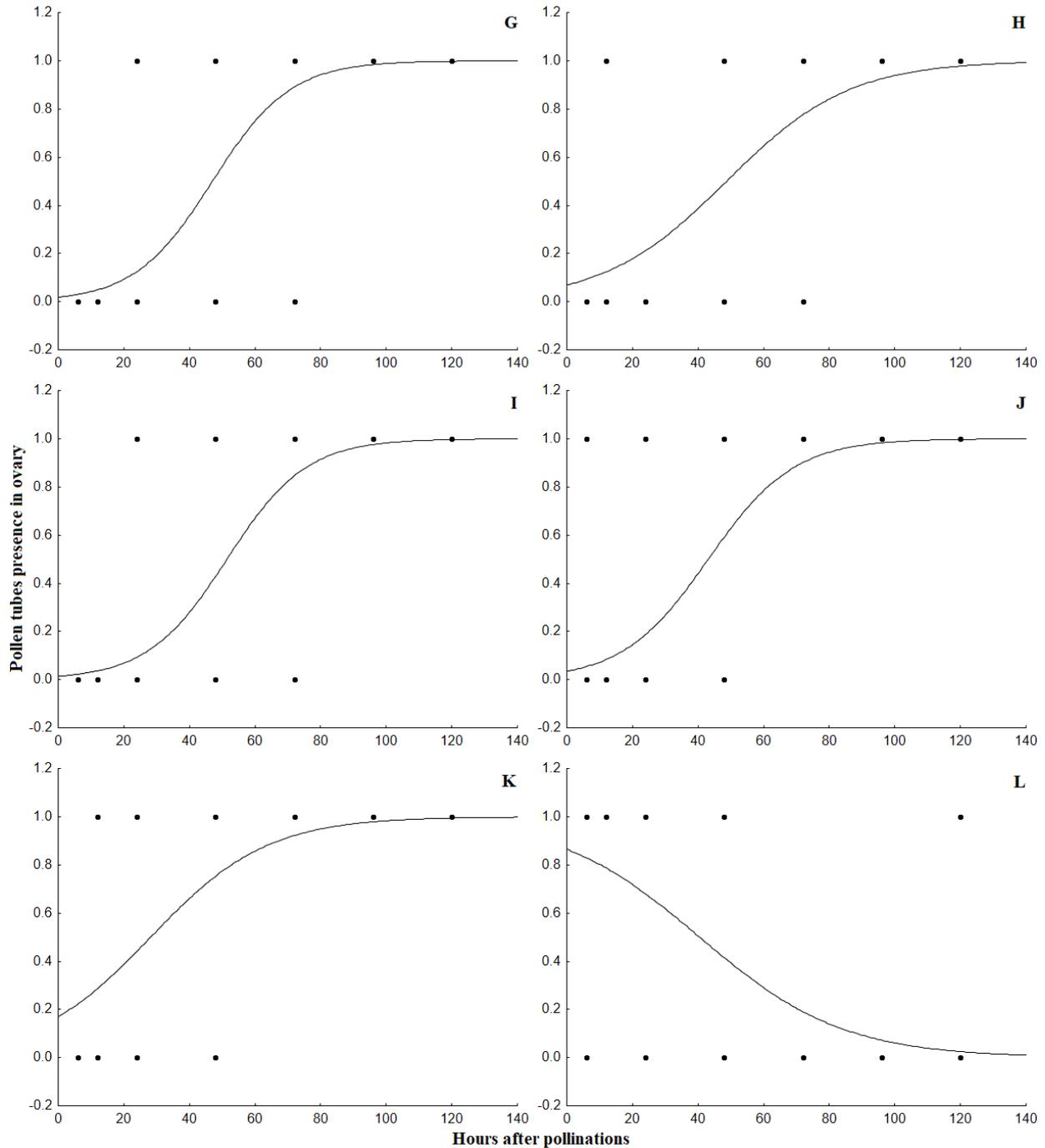


**Figura 8.** Resultado da análise de regressão logística para determinação do horário (6h, 12h, 24h, 48h, 72h, 96h e 120h) em que os pistilos possuem germinação de grãos de pólen até o receptáculo, para a combinação de cruzamento ‘Seleta’ x ‘Cascatense’

A presença de tubos polínicos no ovário foi significativa para os cruzamentos ‘Seleta’ x ‘Cascatense’ (Figura 9A), ‘Seleta’ x ‘Primorosa’ (Figura 9B), ‘Seleta’ x ‘Shinseiki’ (Figura 9C), ‘Packham’s Triumph’ x ‘Cascatense’ (Figura 9D), ‘Packham’s Triumph’ x ‘Shinseiki’ (Figura 9E), ‘Tenra’ x ‘Cascatense’ (Figura 9F), ‘Tenra’ x ‘Primorosa’ (Figura 9G), ‘Tenra’ x ‘Shinseiki’ (Figura 9H), ‘Triunfo’ x ‘Cascatense’ (Figura 9I), ‘Triunfo’ x ‘Primorosa’ (Figura 9J), e ‘Triunfo’ x ‘Shinseiki’ (Figura 9K), com a presença de tubo polínico no ovário a partir de 72h, 24h, 24h, 72h, 48h, 72h, 72h, 72h, 48h, 48h, respectivamente. Também houve

relação significativa para a combinação ‘Packham’s Triumph’ x ‘Primorosa’ (Figura 9L), porém, com ausência de tubos polínicos nos ovários a partir das 48h, respectivamente.





**Figura 9.** Resultados das análises de regressão logística para determinação do horário (6h, 12h, 24h, 48h, 72h, 96h e 120h) em que os pistilos possuem germinação de grãos de pólen até o ovário, para as combinações de cruzamento ‘Seleta’ x ‘Cascatense’ (A), ‘Seleta’ x ‘Primorosa’ (B), ‘Seleta’ x ‘Shinseiki’ (C), ‘Packham’s Triumph’ x ‘Cascatense’ (D), ‘Packham’s Triumph’ x ‘Shinseiki’ (E), ‘Tenra’ x ‘Cascatense’ (F), ‘Tenra’ x ‘Primorosa’ (G), ‘Tenra’ x ‘Shinseiki’ (H), ‘Triunfo’ x ‘Cascatense’ (I), ‘Triunfo’ x ‘Primorosa’ (J), e ‘Triunfo’ x ‘Shinseiki’ (K) e ‘Packham’s Triumph’ x ‘Primorosa’ (L).

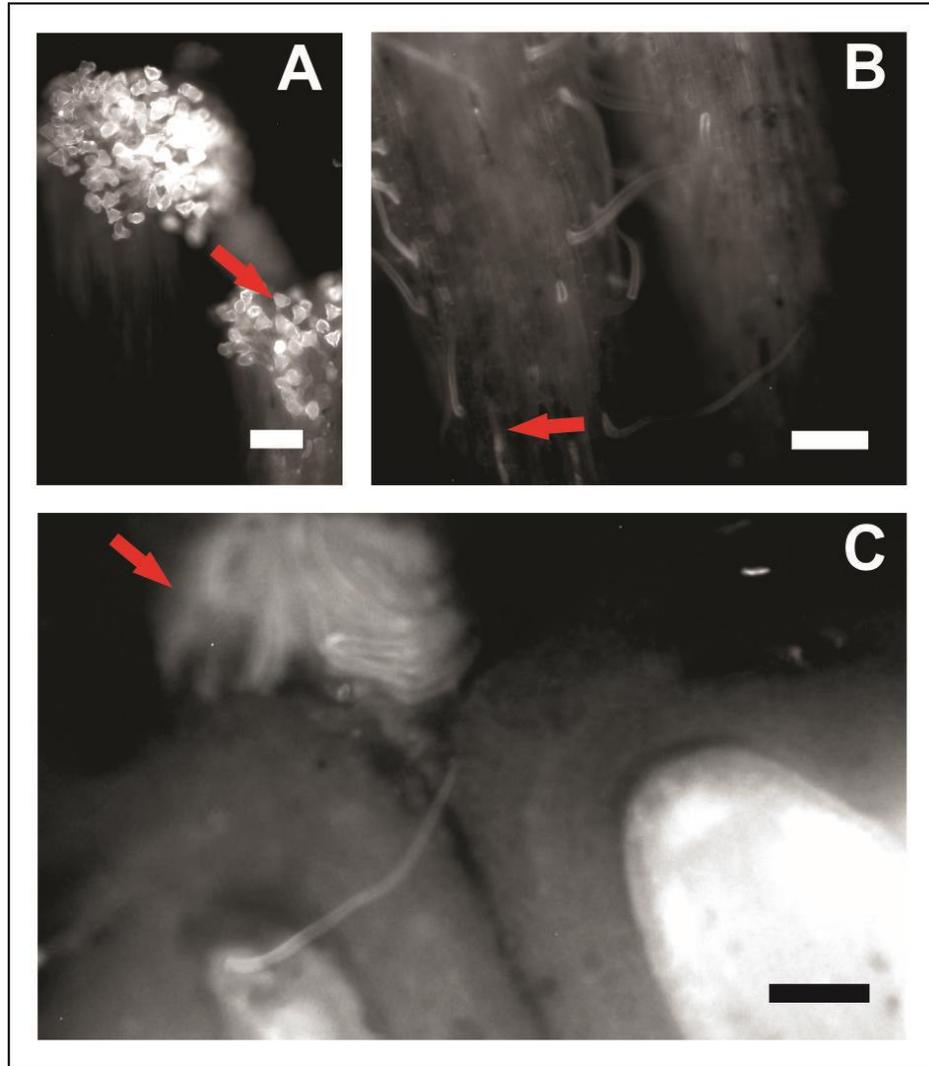
O crescimento do tubo polínico, no pistilo, começou com a germinação dos grãos de pólen na superfície estigmática. Os tubos polínicos penetraram aglomerados no estilete até alcançarem o ovário. Nas primeiras horas após as polinizações, foram observados pistilos sem

germinação dos grãos de pólen, sendo de 20% (6h), 5% (12h), 13,33% (24h), e 3,33% (48h). Nas 72h e 96h após as polinizações, em todos os cruzamentos os grãos de pólen já haviam germinado, porém, 120h após as polinizações, uma pequena porcentagem de grãos de pólen não havia germinado (1,67%) na combinação ‘Packham’s Triumph’ x ‘Shinseiki’.

Após a germinação dos grãos de pólen, os tubos polínicos apresentaram crescimento no estilete (Figura 10A e 10B), com redução gradativa das porcentagens com o passar do tempo, sendo de 61,67% (6h), 76,67% (12h), 55% (24h), 25% (48h), 10% (72h). Após as 72h, os tubos polínicos já demonstravam crescimento em direção ao ovário (Figura 10C). As porcentagens de observações com crescimento de tubo polínico até a região do receptáculo foram mais baixas, com redução nos últimos horários de avaliação, sendo de 10% (6h) e de 1,67% (120h).

A porcentagem de tubos polínicos que alcançaram o ovário foi crescente com o passar do tempo, com 8,33% (6h), 11,67% (12h), 18,33% (24h), 60% (48h), 81,67% (72h), 95% (96h) e 96,67% (120h).

Todos os cruzamentos apresentaram alta porcentagem de grãos de pólen penetrando o ovário (45 a 65%). A menor porcentagem de pistilos (45,71%) com tubos polínicos que penetraram o ovário foi observada no cruzamento ‘Packham’s Triumph’ x ‘Cascatense’, seguindo por ‘Seleta’ x ‘Cascatense’, ‘Triunfo’ x ‘Cascatense’ e ‘Packham’s Triumph’ x ‘Shinseiki’ (48,57% para os três). Em contrapartida, as maiores porcentagens de pistilos com tubos polínicos alcançando o ovário foi observado em ‘Triunfo’ x ‘Shinseiki’ e ‘Seleta’ x ‘Shinseiki’, com 65,71% e 60%, respectivamente.



**Figura 10.** Estigmas com grãos de pólen (A), crescimento de tubos polínicos no estilete – ‘Seleta’ x ‘Shinseiki’ 12 horas após as polinizações (B), tubo polínico alcançando o ovário – ‘Seleta’ x ‘Shinseiki’ 72 horas após as polinizações (C). Barras de escala: 100  $\mu$ m. Fotos: Natália Ferreira Suárez.

## 4. DISCUSSÃO

### 4.1. Caracterização e descrição da morfologia floral

Sanzol et al. (2003) observaram as mesmas características morfológicas dos androceus descritas nesse trabalho. Apesar das semelhanças morfológicas do androceu, vários trabalhos evidenciam que a quantidade e viabilidade do pólen nas flores de pereira podem variar imensamente entre as espécies e cultivares (Nogueira et al., 2016; Ryutaro and Yonemori, 2007). Bisi et al. (2019b) afirmaram que essas variações de quantidade e viabilidade polínica

podem estar relacionadas com características herdadas de seus progenitores e/ou podem estar associadas com a adaptação das cultivares em relação ao ambiente em que ocupam.

Com relação ao gineceu Sanzol et al. (2003) constataram a presença de um estigma úmido e papiloso e um estilete sólido preenchido com tecido de transmissão, além de relatarem um desenvolvimento estigmático assíncrono na mesma flor, o que pode estar relacionado como uma estratégia para modular a competição do pólen na planta durante a florada.

#### **4.2. Receptividade estigmática**

Bisi et al. (2019b) observaram 100% de receptividade nas fases após a antese floral e no estágio de balão (pré-antese) para as cultivares Seleta, Tenra e Triunfo. Esse resultado demonstra que, para essas cultivares, os cruzamentos controlados podem ser realizados antes da abertura da flor nos programas de melhoramento. Entretanto, Bisi et al. (2019b) encontraram menor período de receptividade estigmática comparado ao presente estudo, o que pode ter ocorrido devido às altas temperaturas reportadas pelos autores. Apesar do período de receptividade estigmática ser uma característica hereditária, está sujeita à plasticidade fenotípica (Steinacher and Wagner, 2010), podendo o período ser encurtado em condições de alta temperatura.

A receptividade estigmática é um fator fundamental na avaliação da compatibilidade entre cultivares, já que a aptidão das flores no processo de fertilização está diretamente relacionada à sua receptividade ao grão de pólen (Zambon et al., 2018).

A receptividade estigmática em todos os estágios de desenvolvimento reprodutivo favorece as hibridações controladas em programas de melhoramento. Flores receptivas em estágio de pré-antese, permitem que as hibridações controladas sejam realizadas sem a contaminação de grãos de pólen diferentes dos materiais selecionados (Zambon et al., 2018). É recomendada a escolha de botões florais mais próximos à antese. Embora o estigma esteja

receptivo, somente próximo a fase de antese das flores, o estilete começará para quebrar o amido e, fornecer, conseqüentemente, nutrientes para o desenvolvimento do tubo polínico (Suárez et al., 2012).

### **4.3. Viabilidade dos grãos de pólen por coloração**

Silva et al. (2020) encontraram porcentagens de viabilidade de pólen acima de 80% para os dois corantes testados, Carmim propiônico e Alexander, não havendo diferença estatística entre eles.

Avaliando a qualidade do pólen e da autofertilidade em cultivares selecionadas de pereiras asiáticas e europeias, Bieniasz et al. (2017) encontraram nas 28 cultivares testadas de 80% a 100% de viabilidade polínica, com exceção da cultivar ‘Alexander Lucas’ que apresentou viabilidade acima de 65%. A cultivar ‘Shinseiki’ alcançou viabilidade polínica acima de 90%, bem como no presente trabalho que apresentou 95% e 90% dos grãos de pólen viáveis com a utilização dos corantes Carmin propiônico e Alexander, respectivamente.

Bisi et al. (2019b), observaram maiores percentuais de germinação *in vitro* dos grãos de pólen para as cultivares ‘Cascatense’ (72,75%) e ‘Primorosa’ (59,90%). O presente trabalho obteve maiores taxas de viabilidade polínica, sendo de 87,5% (Carmin propiônico) e 82,5% (Alexander) para a cultivar ‘Cascatense’, e de 92,5% (Carmin propiônico) e 77,5% (Alexander) para a cultivar ‘Primorosa’. As diferenças nas taxas de viabilidade polínica podem estar associadas a influência de fatores ambientais, sendo o estresse térmico considerado o efeito mais severo se ocorrer durante a maturação do pólen (Zinn et al., 2010).

A viabilidade dos grãos de pólen é de suma importância na seleção de genitores para utilização nas hibridizações controladas dos programas de melhoramento, sendo que o polinizador deve produzir pólen viável em quantidade e qualidade adequadas para garantir uma produção satisfatória de frutos (Bettiol Neto et al., 2014).

Para garantia do sucesso nas hibridizações, o pólen deve apresentar alta taxa de viabilidade e germinação (Zambon et al., 2018). O sucesso durante a formação das sementes depende da viabilidade do grão de pólen (He et al., 2017). Processos de polinização e/ou qualidade de pólen deficientes, prejudicam a fertilização do óvulo, provocando aborto ou malformação das sementes, resultando em um maior número de lóculos vazios no pericarpo (Nava et al., 2009).

#### **4.4. Frutificação efetiva**

A produção de grandes quantidades de grãos de pólen é uma característica desejável, pois aumenta a probabilidade de ocorrência da polinização cruzada (Sezerino and Orth, 2015). As cultivares ‘Seleta’ e ‘Tenra’ apresentam pequeno número de grãos de pólen por antera e por flor em regiões subtropicais, sendo consideradas melhores receptoras do que doadoras de grãos de pólen (Bisi et al., 2019b). Está de acordo com os resultados encontrados neste trabalho, nos quais a cultivar receptora ‘Seleta’ obteve maior frutificação efetiva (para todas as combinações de cruzamentos) na safra 2019/2020, seguida pelas cultivares ‘Tenra’ e ‘Triunfo’, que não diferiram entre si.

As maiores taxas de frutificação observadas para a cultivar receptora ‘Seleta’, pode ser devido a maior adaptação desta cultivar em climas com invernos amenos. Barbosa et al. (2018) relataram que a cultivar ‘Seleta’ se destaca das demais cultivares híbridas, com maior rendimento médio de frutos por planta e maior quantidade de bolsas (estrutura de frutificação) durante seu ciclo. As bolsas são consideradas potenciais locais de frutificação, aumentando a capacidade reprodutiva desta cultivar (Reynolds et al., 2012).

A cultivar doadora de grãos de pólen ‘Shinseiki’ foi o parental dos cruzamentos que resultaram em um maior e menor percentual de frutificação, sendo eles ‘Seleta’ x ‘Shinseiki’ e ‘Packham’s Triumph’ x ‘Shinseiki’, respectivamente. Percebe-se, então, que a menor

frutificação está associada a menor compatibilidade entre as cultivares, visto que a cultivar 'Shinseiki' apresentou as maiores porcentagens de grãos de pólen viáveis (95% e 90% com os corantes Carmin propiônico e Alexander, respectivamente).

As cultivares 'Shinseiki' e 'Seleta' mostraram boa adaptação ao cultivo nos trópicos, com elevado parâmetro de produção por planta e número de frutos (Barbosa et al., 2018). Para um melhor desempenho das cultivares, torna-se necessário um equilíbrio entre as estruturas vegetativas e reprodutiva, além de acúmulo adequado de horas de frio (Pasa et al., 2011). Conforme a necessidade, quanto maior o número de horas de frio, mais intensa a floração, com redução das taxas de abortamento dos botões, e conseqüente, maior a produção de frutos (Barbosa et al., 2018).

As cultivares doadoras de grãos de pólen neste estudo, 'Cascatense' e 'Primorosa', apresentam grande quantidade de pólen (Bisi et al., 2019b) o que as tornam excelentes polinizadoras. Além da grande quantidade de pólen, ambas apresentam alta viabilidade polínica (>75%). A medida que se aumenta a quantidade de grãos de pólen viáveis depositados sobre o estigma das flores, aumenta-se também o tamanho dos frutos, o número de sementes e a percentagem de pegamento dos frutos (Martins et al., 2014).

A maioria das cultivares de pera é considerada auto-incompatível, ou seja, rejeitam o próprio pólen, dependendo da polinização cruzada para uma produção satisfatória de frutos (Vieira et al., 2019). Sendo assim, para que as pereiras superem a incompatibilidade gametofítica e garantam uma fertilização adequada, com aumento da taxa de frutificação efetiva, grãos de pólen de genótipos compatíveis com a série de alelos "S" devem ser transferidos por insetos polinizadores (Sezerino and Orth, 2015).

#### 4.5. Crescimento/Desenvolvimento de tubo polínico

Os cruzamentos com a cultivar doadora ‘Cascatense’, tiveram menor porcentagem de grãos de pólen alcançando o ovário, mesmo após 120h, demonstrando uma menor compatibilidade desta cultivar com as demais, ou uma maior duração de tempo para alcançar o ovário. De acordo com Bisi et al. (2021), a cultivar ‘Cascatense’ apresenta efeito negativo na viabilidade das sementes, o que pode estar relacionado à incompatibilidade gametofítica desta cultivar com as demais, provocando conseqüentemente, menor massa, comprimento e diâmetro de frutos (Bisi et al., 2021). Em contrapartida, as maiores porcentagens de pistilos com tubos polínicos alcançando o ovário foram observadas nos cruzamentos com a cultivar doadora ‘Shinseiki’, o que pode ser justificado, pela maior viabilidade polínica da cultivar.

Foi possível observar que, 72h e 96h após as polinizações, para todas as cultivares, os grãos de pólen já haviam germinado. A pequena porcentagem de grãos de pólen não germinados 120h após as polinizações no cruzamento ‘Packham’s Triumph’ x ‘Shinseiki’, pode estar relacionado à menor adaptação da cultivar em regiões de inverno ameno, uma vez que, este cruzamento também foi responsável pelos menores percentuais de frutificação em ambas as épocas avaliadas.

Com o passar do tempo após as polinizações, todos os tubos polínicos já demonstravam crescimento em direção ao ovário, com altas porcentagens de tubos polínicos no ovário nas últimas horas avaliadas (> 95%). Paula et al. (2015), relataram porcentagem muito menor de tubos polínicos no ovário (10,3%), no cruzamento ‘Packham’s Triumph’ x ‘William’s’, apesar de verificarem porcentagens bem maiores no interior do pistilo (>60%), justificando a necessidade de um maior período de avaliação para que o tubo polínico alcançasse o ovário.

## 5. CONCLUSÕES

As maiores porcentagens de pistilos com tubo polínicos alcançando o ovário foram observadas nas combinações ‘Triunfo’ x ‘Shinseiki’ e ‘Seleta’ x ‘Shinseiki’, reforçando a aptidão da cultivar ‘Shinseiki’ como doadora de grãos de pólen e a cultivar ‘Seleta’ como receptora, para ambientes subtropicais.

## 6. AGRADECIMENTOS

Este estudo foi parcialmente financiado pela Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código Financeiro 001, Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG). Agradecemos também à Universidade Federal de Lavras (UFLA) pelo acesso às cultivares e materiais utilizados na realização do estudo.

## 7. REFERÊNCIAS

- Alexander, M.P.A., 1980. A Versatile Stain for Pollen fungi, Yeast and Bacteria. *Stain Technol*, Baltimore. 55(1), 13–18. <https://doi.org/10.3109/10520298009067890>.
- Almeida, E.C., 1986. Biologia floral e mecanismos de reprodução em *Crotaria mucrota*. *Ceres*, 33(190), 528-40.
- Alvares, C.A., Stape, J.L., Sentelhas, P.C., Gonçalves, J.L.M., Sparovek, G., 2013. Köppen' climate classification map for Brazil. *Meteorol. Z.* 22(6), 711–728. <https://doi.org/10.1127/0941-2948/2013/0507>.
- Barbosa, C.M.A., Pio, R., Souza, F.B.M., Bisi, R.B., Bettiol Neto, J.E., Farias, D.H., 2018. Phenological evaluation for determination of pruning strategies on pear trees in the tropics. *Sci. Hortic.* 240, 326-332. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2018.06.006>.

- Bettiol Neto, J.E., Chagas, E.A., Sanches, J., Pio, R., Antoniali, S., Cia, P., 2014. Produção e qualidade pós-colheita de cultivares de pereira nas condições subtropicais da região leste paulista. *Cienc. Rural*. 44, 1740-1746. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20131574>.
- Bieniasz, M. Necas, T., Dziedzic, E., Ondrasek, I., Pawłowska, B., 2017. Evaluation of pollen quality and self-fertility in selected cultivars of Asian and European pears. *Notulae Botanicae Horti Agrobotanici Cluj-Napoca*. 45(2), 375-382. <https://doi.org/doi:10.15835/nbha45210877>.
- Bisi, R.B., Pio, R., Farias, D.H., Locatelli, G., Barbosa, C.M.A., Pereira, W.A., 2019a. Molecular characterization of the S-alleles and compatibility among hybrid pear tree cultivars for subtropical regions. *HortScience*. 54(12), 2104–2110. <https://doi.org/10.21273/HORTSCI14261-19>.
- Bisi, R. B. Pio, R., Locatelli, G., Tadeu, M.H., Zambon, C.R., Silva, D.M., 2019b. Determination of potential pollinizer grafted pear hybrids (*Pyrus communis* x *Pyrus pyrifolia*) for subtropical regions in Brazil. *J. Agric. Sci.* 11(6), 191-198. <https://doi.org/10.5539/jas.v11n6p191>.
- Bisi, R.B., Pio, R., Locatelli, G., Farias, D.H., Botelho, F.B.S., 2021. General and specific combining ability in the selection of polliniser cultivars of hybrid pear trees (*Pyrus communis* x *P. pyrifolia*). *Sci. Hortic.* 277(109797), 1-7. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2020.109797>.
- Curi, P.N., Bisi, R.B., Salgado, D.L., Barbosa, C.M.A., Pio, R., Souza, V.R. de., 2017. Hybrid cultivars of pear in subtropics regions: processing ability in the form of jelly. *Cienc. Rural*. 47(11), 1-7. <https://doi.org/10.1590/0103-8478cr20170331>.
- Faoro, I. D. Biologia reprodutiva da pereira japonesa (*Pyrus pyrifolia* var. *Culta*) sob o efeito do genótipo e do ambiente. 2009. 219 f. Tese (Doutorado em Recursos Genéticos Vegetais) - Faculdade de Agronomia, Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis, 2009.
- He, G., Hu, F., Ming, J., Liu, C., Yuan, S., 2017. Pollen viability and stigma receptivity in *Lilium* during anthesis. *Euphytica*, 213(10), 231. <https://doi.org/10.1007 / s10681-017-2019-9>.

- Hosmer, D.W., Lemeshow, S., 1989. Applied logistic regression. Wiley, New York, Chichester, Brisbane, Toronto, Singapore.
- Kearns, C.A., Inouye, D.W., 1993. Techniques for pollination biologists. Niwot: University Press of Colorado, 579 p.
- Liu, J., Zhai, R., Liu, F., Zhao, Y., Wang, H., Liu, L., Yang, C., Wang, Z., Ma, F., Xu, L., 2018. Melatonin induces parthenocarpy by regulating genes in gibberellin pathways of ‘Starkrimson’pear (*Pyrus communis* L.). *Front. Plant Sci.* 9, 946. <https://doi.org/10.3389/fpls.2018.00946>.
- Martins, M.R., dos Reis, M.C., Araújo, J.R.G., De Lemos, R.N.S., Coelho, F.A.O. 2014. Tipos de polinização e pastejo da abelha *Xylocopa* spp. na frutificação e qualidade dos frutos de maracujazeiro. *Ver. Caatinga.* 27(1), 187-193. <http://www.redalyc.org/articulo.oa?id=237130153023>.
- Matsumoto, D., Yamane, H., Abe, K., Tao, R., 2012. Identification of a Skp1-like protein interacting with SFB, the pollen S determinant of the gametophytic self-incompatibility in *Prunus*. *Plant Physiology*, 159, 1252–1262. <https://doi.org/10.2307/41549937>.
- Nava, G.A., Dalmago, G.A., Bergamaschi, H., Painz, R., Santos, R.P. dos, Marodin, G.A.B., 2009. Effect of high temperatures in the pre-blooming and blooming periods on ovule formation, pollen grains and yield of ‘Granada’peach. *Sci. Hortic.* 122(1), 37-44. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2009.03.021>.
- Nogueira, P.V., Coutinho, G., Pio, R., da Silva, D.F., Zambon, C.R., 2016. Establishment of growth medium and quantification of pollen grains and germination of pear tree cultivars. *Rev. Cienc. Agron.* 47, 380-386. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20160045>.
- Pasa, M.S., Fachinello, J.C., Schmitz, J.D., Souza, A.L.K., Herter, F.G., 2011. Hábito de frutificação e produção de pereiras sobre diferentes porta-enxertos. *Pesqui. Agropecu. Bras.* 46, 998–1005. <https://doi.org/10.1590/S0100-204X2011000900005>.

- Paula, L.A., Rufato, A.D.R., Oliveira, P.R.D.D.O., Tallamini M.R., 2015. Híbridaciones controladas inter e intraespecíficas para o melhoramento genético de porta-enxertos de pereira. *Rev. Bras. Fruticultura.* 37, 811-818. <https://doi.org/10.1590/0100-2945-138/14>.
- Pio, R., Souza, F.B.M., Kalcsits, L., Bisi, R.B., Farias, D.H., 2019. Advances in the production of temperate fruits in the tropics. *Acta Sci. Agron.* 41, 1-10. <https://doi.org/10.4025/actasciagron.v41i1.39549>.
- Reynolds, L.P., Jacobs, G., Theron, K.I., 2012. Reproductive bud development of pears (*Pyrus communis* L.) with emphasis on the bourse shoot. *Acta Hortic.* 1, 165–170. <https://doi.org/10.17660/ActaHortic.2005.671.20>.
- Ryutaro, T.E., Yonemori, K., 2007. Relationship between floral development and transcription levels of leafy and terminal flower homologs in japanese pear (*Pyrus pyrifolia* Nakai). *J JPN SOC HORTIC SCI.* 76(4), 294- 304. <https://doi.org/10.2503/jjshs.76.294>.
- Sanzol, J., Rallo, P., Herrero, M., 2003. Asynchronous development of stigmatic receptivity in the pear (*Pyrus communis*; Rosaceae) flower. *Am. J. Bot.* 90(1), 78-84. <https://doi.org/10.3732/ajb.90.1.78>.
- Sezerino, A.A., Orth, A.I., 2015. Polinização da pereira-portuguesa em bom retiro-SC, Brasil. *Rev Bras Frutic.* 37(4), 943-951. <https://doi.org/10.1590/0100-2945-209/14>.
- Silva, D.M., Zambon, C.R., Techio, V.H., Pio, R., 2020. Floral characterization and pollen germination protocol for *Castanea crenata* Siebold & Zucc. *S. Afr. J. Bot.* 130, 389-395. <https://doi.org/10.1016/j.sajb.2020.01.027>.
- Steinacher, G., Wagner, J., 2010. Flower longevity and of pistil receptivity in high mountain plants. *Flora.* 205(6), 376-387. <https://doi.org/10.1016/j.flora.2009.12.012>.
- Stern, R.A., Sapir, G., Zisovich, A., Goldway, M., 2018. The Japanese pear ‘Hosui’ improves the fertility of European pears ‘Spadona’ and ‘Coscia’. *Acta Sci. Pol. Hortorum Cultus.* 228, 162–166. <https://doi.org/10.1016/j.scienta.2017.09.050>.

Suàrez, C., Castro, A.J., Rapoport, H.F., 2012. Morphological, histological and ultrastructural changes in the olive pistil during flowering. *Sex. Plant Reprod.* 25(2), 133-146. <https://doi.org/10.1007/s00497-012-0186-3>.

Vieira, J., Rocha, S., Vázquez, N., López-Fernández, H., Fdez-Riverola, F., Reboiro- Jato, M., Vieira, C.P., 2019. Predicting specificities under the non-self gametophytic self-incompatibility recognition model. *Front. Plant Sci.* 10, 879. <https://doi.org/10.3389/fpls.2019.00879>

Zambon, C.R., da Silva, L.F. de O., Pio, R., Bianchini, F.G., de Oliveira, A.F., 2018. Storage of pollen and properties of olive stigma for breeding purposes. *Rev. Ciênc. Agron.* 49(2), 291-297. <https://doi.org/10.5935/1806-6690.20180033>.

Zinn, K.E., Tunc-Ozdemir, M., Harper, J.F., 2010. Temperature stress and plant sexual reproduction: uncovering the weakest links. *J. Exp. Bot.* 61, 1959-1968. <https://doi.org/10.1093/jxb/erq053>.

**ARTIGO 3****Hydrogenated cyanamide promotes dormancy breakage in pear grown in a subtropical region**

Artigo formatado de acordo com a revista Scientia Horticulturae

**Resumo:** A pereira (*Pyrus* spp.) é uma frutífera de clima temperado e, portanto, necessita de um número adequado de horas de frio para superação natural da dormência. O cultivo nos trópicos é possível, mas poucas regiões possuem quantidade de frio hibernar suficiente para a superação natural da dormência das pereiras. Nesse caso, há necessidade da seleção de cultivares com menor exigência em frio, aliado ao uso de indutores de brotação. Esse trabalho objetivou selecionar doses de cianamida hidrogenada (Dormex<sup>®</sup>) na superação da dormência e brotação das gemas em diferentes cultivares de pereiras, sob condições subtropicais. Foram pincelados com Dormex<sup>®</sup> (produto comercial que possui 52% de cianamida hidrogenada – CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>) nas dosagens de 1, 2, 3, 4, e 5% do produto comercial, além da testemunha composta apenas por água, ramos de cinco cultivares de pereira: ‘Cascatense’, ‘Primorosa’, ‘Seleta’, ‘Packham’s Triumph’, e ‘William’s’. As avaliações ocorreram 2, 4, 6, 8, 10 e 12 semanas após a aplicação dos tratamentos, realizada em dois anos consecutivos. As pereiras europeias ‘William’s’ e ‘Packham’s Triumph’ apresentaram baixas taxas de brotação comparadas às pereiras híbridas, o que pode ser decorrente da maior exigência por horas de frio. A aplicação de doses maiores de Dormex<sup>®</sup> promoveu maior brotação das gemas em um menor período.

**Palavras-chaves:** *Pyrus communis* L.; Dormex<sup>®</sup>; antecipação da produção.

**Abstract:** The pear (*Pyrus* spp.) tree is a fruit tree of temperate climate, so it needs a certain number of hours under cold temperatures to overcome its natural dormancy. It can be cultivated in the tropics, but few regions have cold enough winters to overcome the natural dormancy of

pear trees. For this purpose, it is necessary to select cultivars with less need for cold conditions combined with the use of bud-inducing products. This study aimed to test doses of hydrogenated cyanamide (Dormex<sup>®</sup>) to break dormancy and induce bud sprouting in different pear cultivars under subtropical conditions. The branches of five pear cultivars, 'Cascatense', 'Primorosa', 'Seleta', 'Packham's Triumph', and 'Williams', were brushed with Dormex<sup>®</sup> (commercial product containing 52% hydrogen cyanamide, CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>) at 1, 2, 3, 4, or 5% or with water (control). The trees were evaluated at 2, 4, 6, 8, 10, and 12 weeks after the application of the treatments in two consecutive years. The European pear trees 'Williams' and 'Packham's Triumph' showed low budding rates compared to hybrid pear trees, which may have been due to their requirement of longer cold periods. The application of higher doses of Dormex<sup>®</sup> promoted greater bud sprouting in a shorter time.

**Keywords:** *Pyrus communis* L.; Dormex<sup>®</sup>; anticipation of production.

## 1. INTRODUCTION

Temperate fruit trees originated in regions with cold winters (Rohde & Bhalerão, 2007). The fruit trees of this group are characterized by the fall of leaves at the end of the productive cycle, stimulated by the lower temperatures and shorter days, and entry into the period known as dormancy (Ruiz et al., 2007). Dormancy is the mechanism that temperate plants use to protect their tissue, which is sensitive to low-temperature conditions (Campoy et al., 2011).

Pear (*Pyrus* spp.) is a temperate fruit tree that requires an adequate number of cold hours (CH) with temperatures equal to or lower than 7.2 °C to achieve good vegetative and productive development (Rufato et al., 2011). The tree needs to accumulate CH in order to eventually overcome bud endodormancy, the state in which the plant temporarily suspends its growth and development (Pio et al., 2018), caused by biochemical and physiological events in the meristem or nearby tissues (Anzanello et al., 2014).

The cultivation of temperate fruit trees has extended to the tropics, where temperatures are mild in winter (Pio et al., 2018). Bud endodormancy lasts until the needed CH are reached and varies in intensity and duration between species and even cultivars (Anzanello et al., 2014). The expansion of pear cultivation to subtropical regions was only made possible by the production of hybrid cultivars obtained from the cross between *P. communis* and *P. pyrifolia* (Curi et al., 2017). This combination is interesting because it combines the quality of European pear trees (*P. communis*) with the low need for winter cold of Asian pear trees (*P. pyrifolia*) (Barbosa et al., 2018). Low fruit fixation, linked to the unevenness of bud sprouting, is one of the limiting factors of the expansion of pear cultivation in subtropical regions, especially of European pear trees (Bettiolo Neto et al., 2014). In the subtropics, there are few regions with periods of winter that are cold enough for long enough for the cultivation of European pear trees (Pio et al., 2018). Temperature fluctuations during winter are one of the problems involved in naturally overcoming endodormancy in temperate fruit species, as high temperatures can reverse the effect of the accumulation of CH (Anzanello et al., 2014). Several problems related to dormancy occur in temperate fruit trees grown in regions with mild winters, which may cause delays in or longer durations of flowering periods as well as low sprouting of vegetative and flowering buds, resulting in reduced yield with nonuniform and low-quality fruits, even in the next production cycle (Petri et al., 2014).

Knowledge of the CH that each cultivar needs in order to overcome dormancy helps in decision-making regarding the need to apply bud-inducing products (Anzanello et al., 2018). In these cases, the use of bud-inducing products is necessary for the artificial breaking of dormancy. The bud-inducing products that are used to compensate for the absence of cold are only able to overcome dormancy if a minimum amount of cold was previously achieved (Pio et al., 2018). The application of hydrogen cyanamide ( $\text{CH}_2\text{N}_2$ ) is a well-established technique to mitigate the shortage of CH, break bud dormancy, and promote uniform budding (Chen &

Beckman, 2019). The responses of temperate fruit trees to this chemical vary between cultivars and cultivation regions and depend on the chemical concentration and application time (Kuroki et al., 2013). In the case of pear cultivation in subtropical regions, of either hybrid or European cultivars, the dosage of hydrogenated cyanamide for the artificial breaking of buds is unknown (Pio et al., 2018).

This study aimed to determine the effects of hydrogenated cyanamide (Dormex<sup>®</sup>) on breaking the dormancy of buds and the uniformity of budding in pear trees grown in a subtropical region.

## 2. MATERIALS AND METHODS

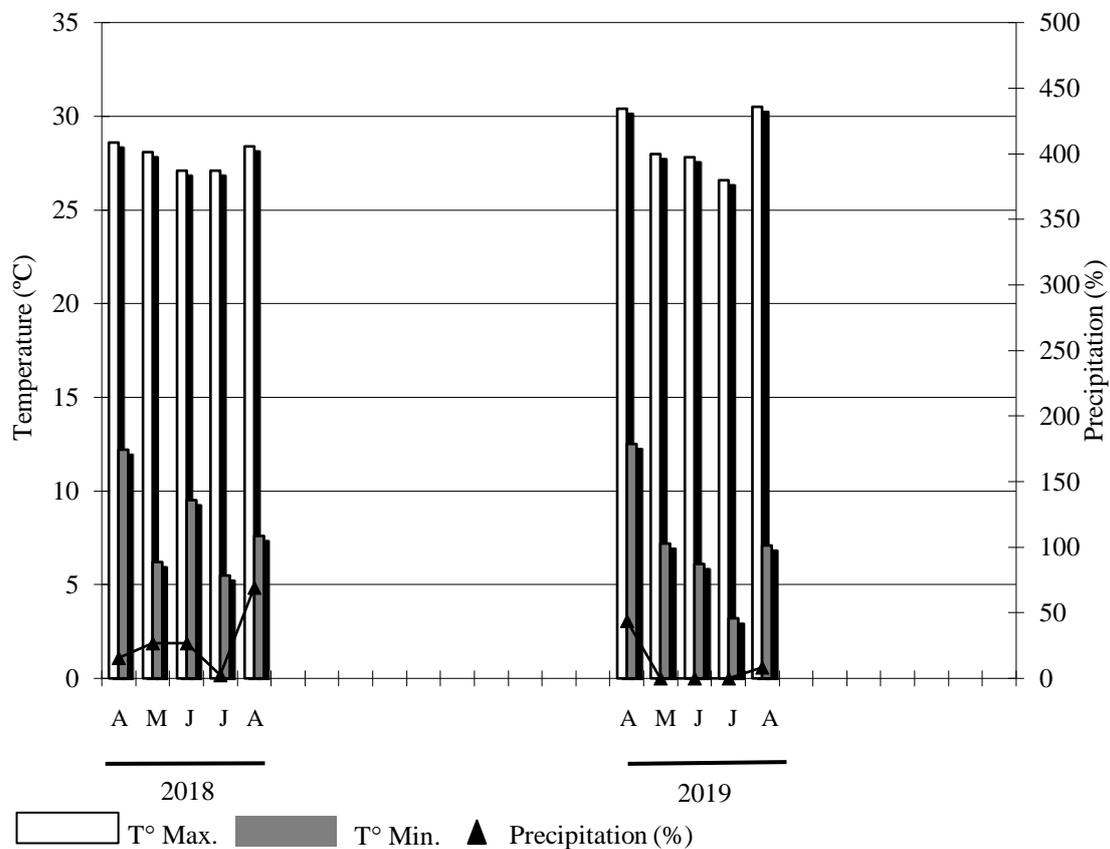
The experiment was conducted at a site located in the south of the state of Minas Gerais, Brazil. The Köppen climate classification for this region is Cwa: subtropical climate, with cold, dry winters and hot, humid summers (Alvares et al., 2013). This region is located at 21°14'S, 45°00'W, and 918 m altitude. The experiment was conducted between August and November of both 2018 and 2019. Before the beginning of the experiment, the lowest (5 a.m.) and the highest temperature (2 p.m.) temperature of the day were recorded daily, as was the daily accumulated precipitation (Graph 1), to verify the amount of CH accumulated by the Utah method (Minuzzi, 2018). The method considers that temperature intervals by time of day are equivalent to a certain number of cold units (Table 1).

**Table 1.** Cold units by the Utah method as a function of the hourly air temperature.

Hourly air temperature (°C)	Cold units
< 1.4	0.0
1.5 to 2.4	0.5
2.5 to 9.1	1.0

9.2 to 12.4	0.5
12.5 to 15.9	0.0
16.0 to 18.0	-0.5
> 18.0	-1.0

These air-temperature data came from April–August, the second half of autumn and the first half of winter, when the temperatures are mild.



**Figure 1.** Climate data from April to August 2018 and 2019 at Lavras, Minas Gerais. Source: Principal Climatological Station of Lavras - UFLA/INMET.

Three hybrid pear cultivars of the *Pyrus communis* × *Pyrus pyrifolia* cross were studied: 'Cascatense', 'Primorosa', and 'Seleta' (Table 2). Two European pear cultivars of *Pyrus communis* were studied: 'Packham's Triumph' and 'Williams'.

Table 2. Cultivars and their genealogy and origin (Bisi et al., 2019).

Cultivar	Genealogy	Origin
Cascatense	'Packham's Triumph' × 'Le Conte'	IAC – Brazil
Primorosa	'Hood' × 'Packham's Triumph'	Embrapa – Brazil
Seleta	'Hood' × 'Packham's Triumph'	IAC – Brazil

The seedlings were grafted onto a *Pyrus calleryana* rootstock and taken to the field in October 2010, with 3.0×4.0-meter spacing between plants (833 plants ha<sup>-1</sup>). The plants were grown in a modified central leader system. The orchard management practices were standardized, especially with regard to fertilization and phytosanitary control using chemicals recommended for cultivation.

The experiment began in August of each year, when the plants were 8 years old. Four plants of each cultivar were used, and on each of them 30 branches were marked, which had the same pattern regarding the number of buds and the dimensions. The branches were brushed with Dormex<sup>®</sup> (commercial product containing 52% CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>) at the dose of 1, 2, 3, 4, or 5% or with water (negative control). The applications were performed early in the morning on days without wind to avoid drift, and no precipitation was recorded in the following 48 hours. Five replicates were applied to each plant, and all Dormex<sup>®</sup> concentrations were given to each plant. The experimental design was completely randomized in a 5×5×6 factorial scheme (five evaluations over time, five cultivars, and six doses) with 20 replicates (five branches × four plants), with bud sprouting as the variable.

The branches were evaluated weekly, from which the percentage of total bud sprouting was estimated. Bud sprouting was estimated at 2, 4, 6, 8, 10, and 12 weeks after treatment application (WATA).

The data were transformed to meet the assumptions of analysis of variance (ANOVA). To achieve data normality, bud sprouting was subjected to square root transformation, after

which normality was again verified by the Shapiro-Wilk test. Data were subjected to ANOVA and significant interactions were subjected to regression. All analyses were performed in R statistical software (R Core Team, 2020) with a significance threshold of 5%.

### 3. RESULTS

The quantification of CH units by the Utah method showed negative values: -1992.5 and -2038 for 2018 and 2019, respectively. These values indicated that there was no accumulation of cold, demonstrating the need for the application of bud inducers in these pear trees grown in a subtropical region.

The triple interaction of cultivar  $\times$  time  $\times$  dose ( $p = 0.9947$ ) and the double interaction of cultivar  $\times$  time ( $p = 0.4747$ ) were not significant. The double interactions cultivar  $\times$  dose ( $p < 0.001$ ) and time  $\times$  dose ( $p < 0.001$ ) were significant for 2018, making it necessary to study the consequences of these interactions.

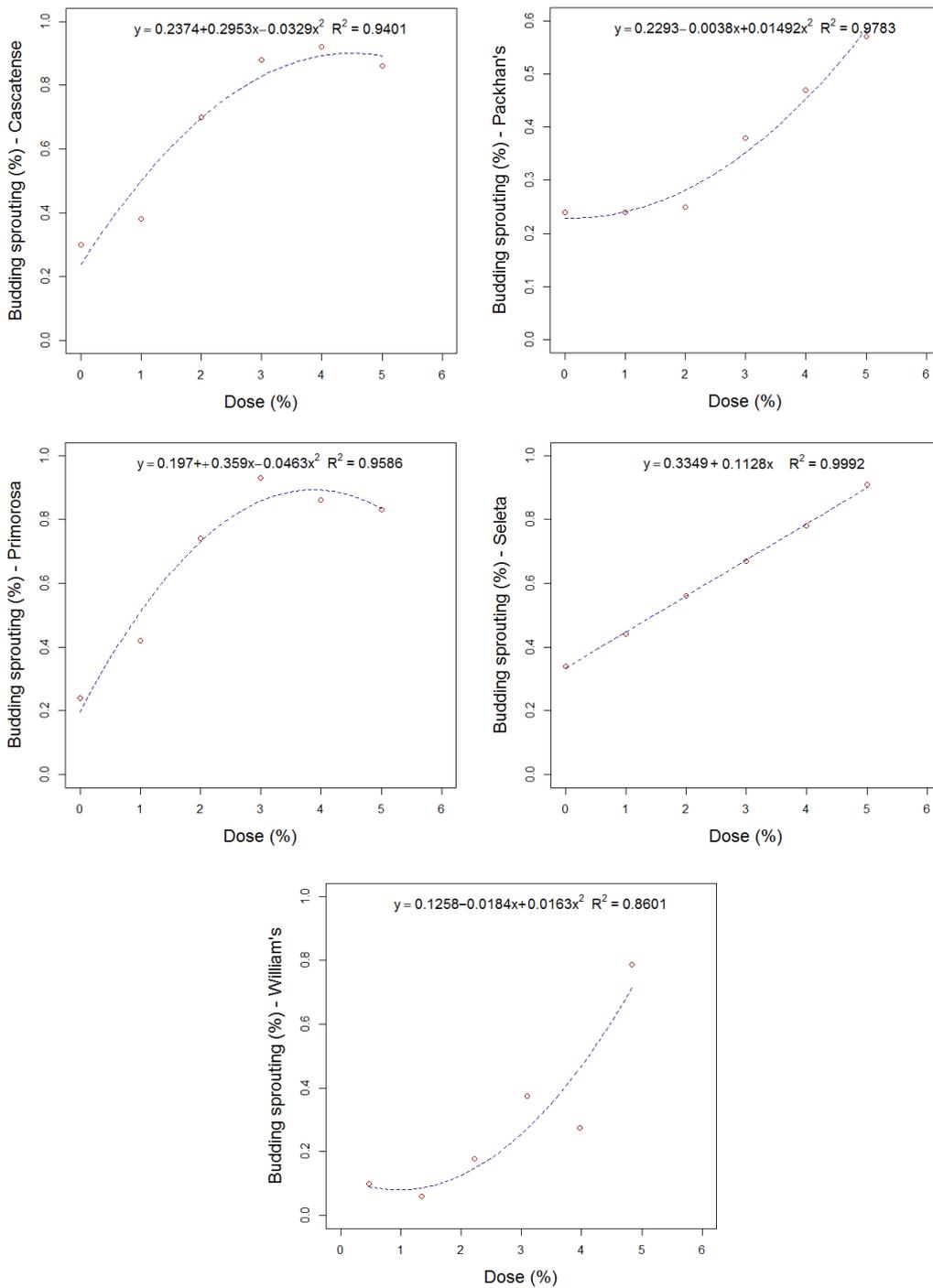
All the comparisons between doses within each cultivar were significant ( $p < 0.001$ ), requiring regression modeling. Quadratic linear regression was the most appropriate to describe the bud sprouting of the cultivars 'Cascatense', 'Primorosa', 'Packham's Triumph', and 'Williams'. The first two cultivars showed an increase in bud sprouting rate up to doses of 4% and 3% of Dormex<sup>®</sup>, respectively, followed by stabilization and a decrease in sprouting at the higher dose(s).

The 'Primorosa' cultivar showed higher bud sprouting with a lower dose of Dormex<sup>®</sup> than the 'Cascatense' cultivar (Figure 2). A dose of 5% to the 'Primorosa' cultivar caused bud abortion, demonstrating an antagonistic effect.

The 'Packham's Triumph' and 'Williams' cultivars showed different behaviors than those above, with low bud sprouting at lower doses and peak budding at doses of 4 and 5%, without budding rate stabilization. They also showed lower budding rates at the end of the evaluations,

with 45% and 60% of buds sprouted, respectively. In contrast, the other cultivars (hybrids) showed high budding rates (~90%).

Bud sprouting of the 'Seleta' cultivar was best described by first-degree linear regression, i.e., its budding increased with the dose of Dormex®.

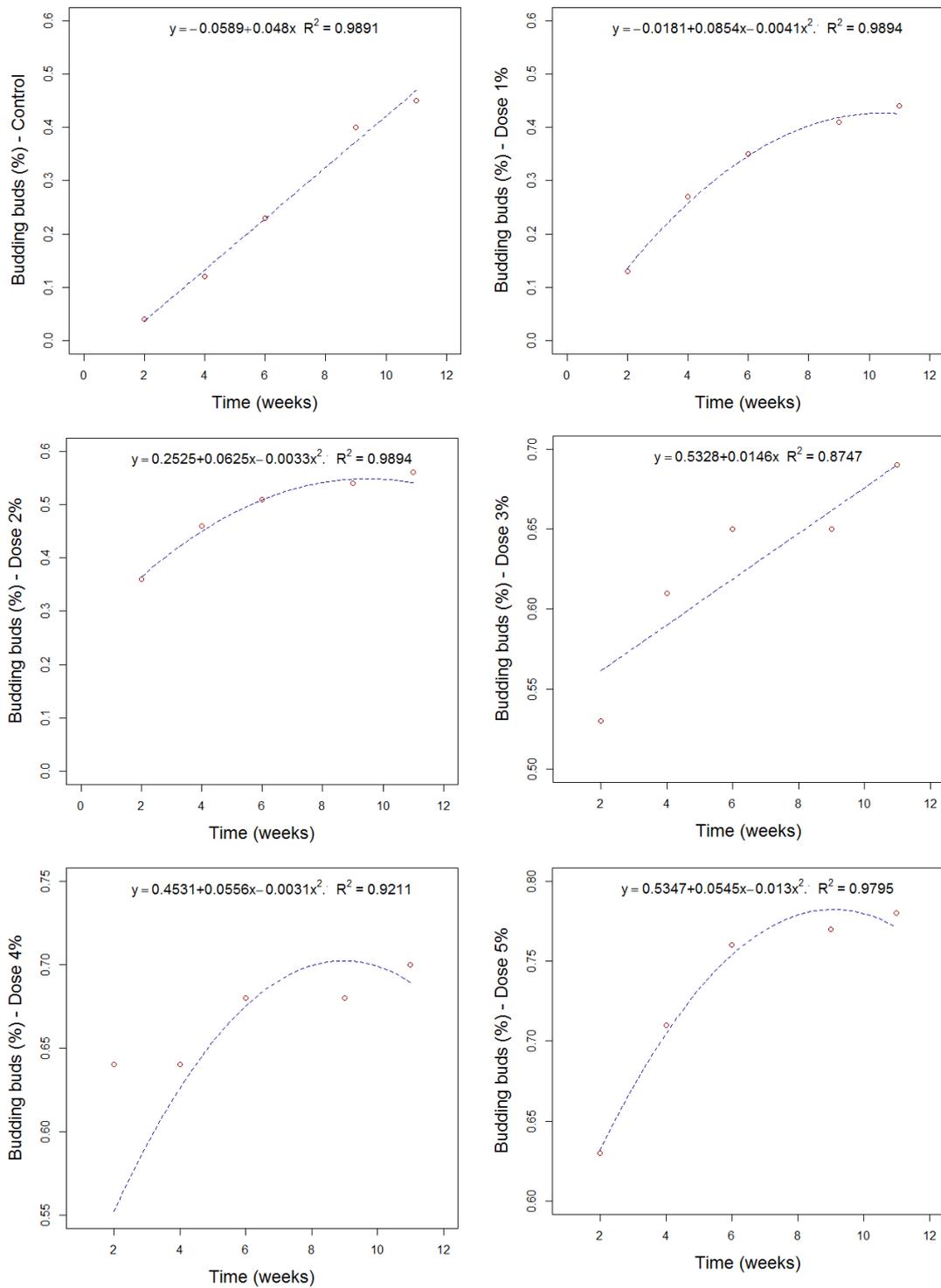


**Figure 2.** Equation for the regression of bud sprouting percentage on Dormex dose (0, 1, 2, 3, 4, and 5%) within each cultivar ('Cascatense', 'Packham's Triumph', 'Primorosa', 'Seleta', 'Williams') for the year 2018.

All time comparisons within each dose were also significant for 2018 ( $p < 0.001$ ), requiring the regression study. Bud sprouting at the 0% and 3% doses was best described by first-degree (linear) regression, i.e., the buds showed linear growth of bud sprouting rates over time. The other doses (1, 2, 4, and 5%) were better described by quadratic linear regressions, demonstrating accelerated sprouting at the beginning of the evaluations, stabilization, and then a decrease in bud sprouting (bud abortion) (Figure 3).

Despite showing similar behavior, with stabilization of budding rates, the 4 and 5% doses showed higher bud sprouting (70-80%) than lower doses (40-50%). The 3% dose also achieved high bud sprouting rates (~70%); however, the 4 and 5% doses anticipated bud sprouting by approximately 4 weeks (stabilization point).

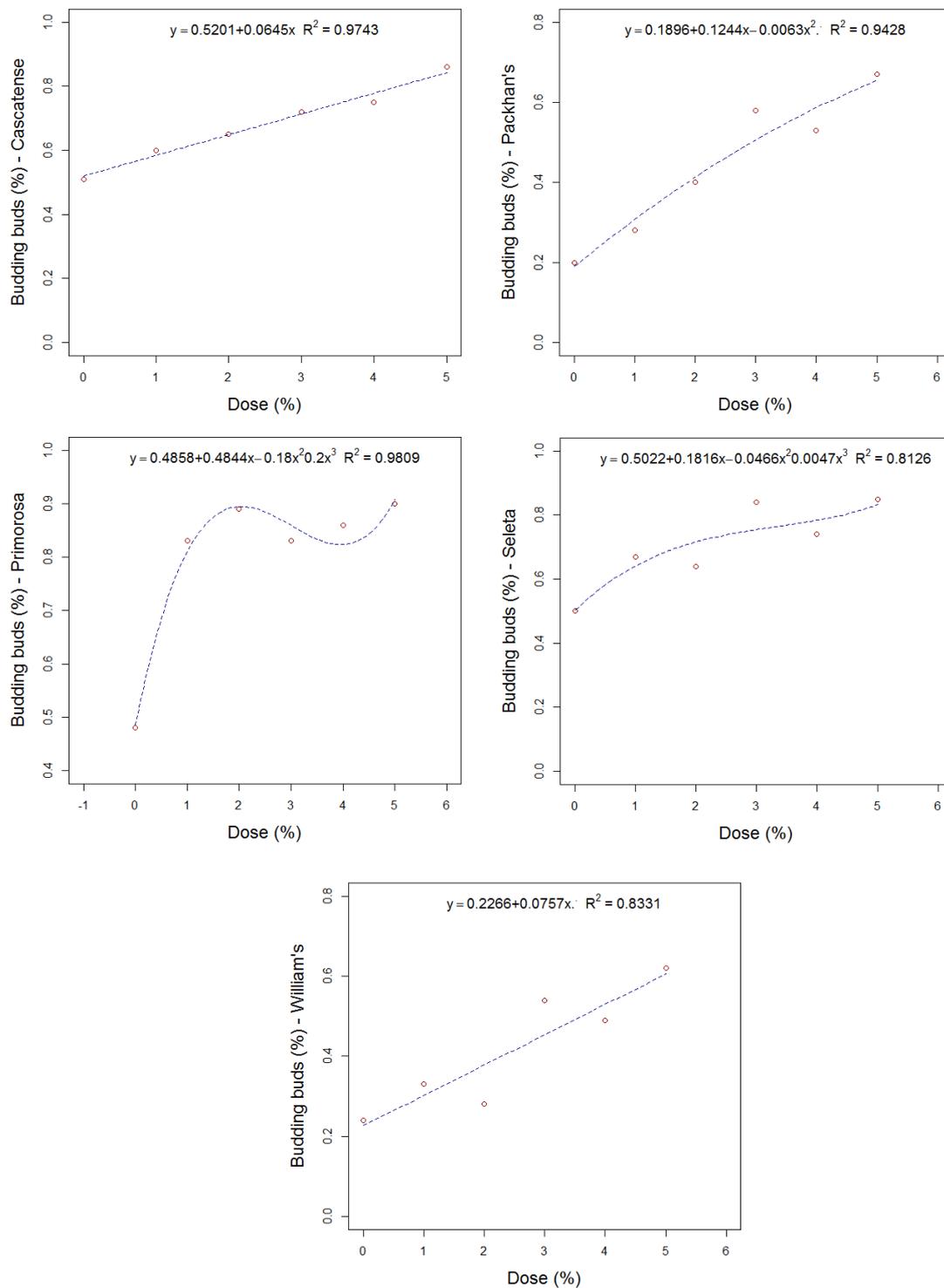
All cultivars already showed budding in the first two weeks, especially at the 5% dose, with a 62% budding rate.



**Figure 3.** Equation for the regression of bud sprouting percentage on time (2, 4, 6, 8, 10, and 12 weeks) within each dose (0, 1, 2, 3, 4, and 5%) for 2018.

In 2019, the triple interaction time  $\times$  dose  $\times$  cultivar ( $p = 0.9606$ ) and the double interaction cultivar  $\times$  time ( $p = 0.0589$ ) were not significant. The double interactions cultivar  $\times$  dose ( $p < 0.001$ ) and time  $\times$  dose ( $p < 0.001$ ) were significant.

All the comparisons of the doses within each cultivar were significant ( $p < 0.001$ ), so regression modeling was necessary. The bud sprouting of the 'Cascatense' and 'Williams' cultivars was best described by first-degree (linear) regressions, i.e., budding increased linearly with the dose of Dormex<sup>®</sup> (Figure 4). The bud sprouting of 'Packham's Triumph' was best modeled by quadratic linear regression, showing increased bud sprouting rates with increasing doses followed by a tendency to stabilize. The 'Primorosa' and 'Seleta' cultivars were best described by cubic linear regressions. The 'Primorosa' cultivar showed high budding rates at 2% Dormex (88%), with a subsequent fall and stabilization at doses of 3-4% (85%), indicating bud abortion, followed by resumption of growth (new shoots) at a dose of 5% (90%). The 'Seleta' cultivar showed a nonlinear increase in budding rates up to the 5% group (83%). The 'Williams' and 'Packham's Triumph' cultivars showed lower budding rates at the end of the evaluations, with 60% and 65% bud sprouting, respectively. The other cultivars (hybrids) showed high budding rates (85-90%).

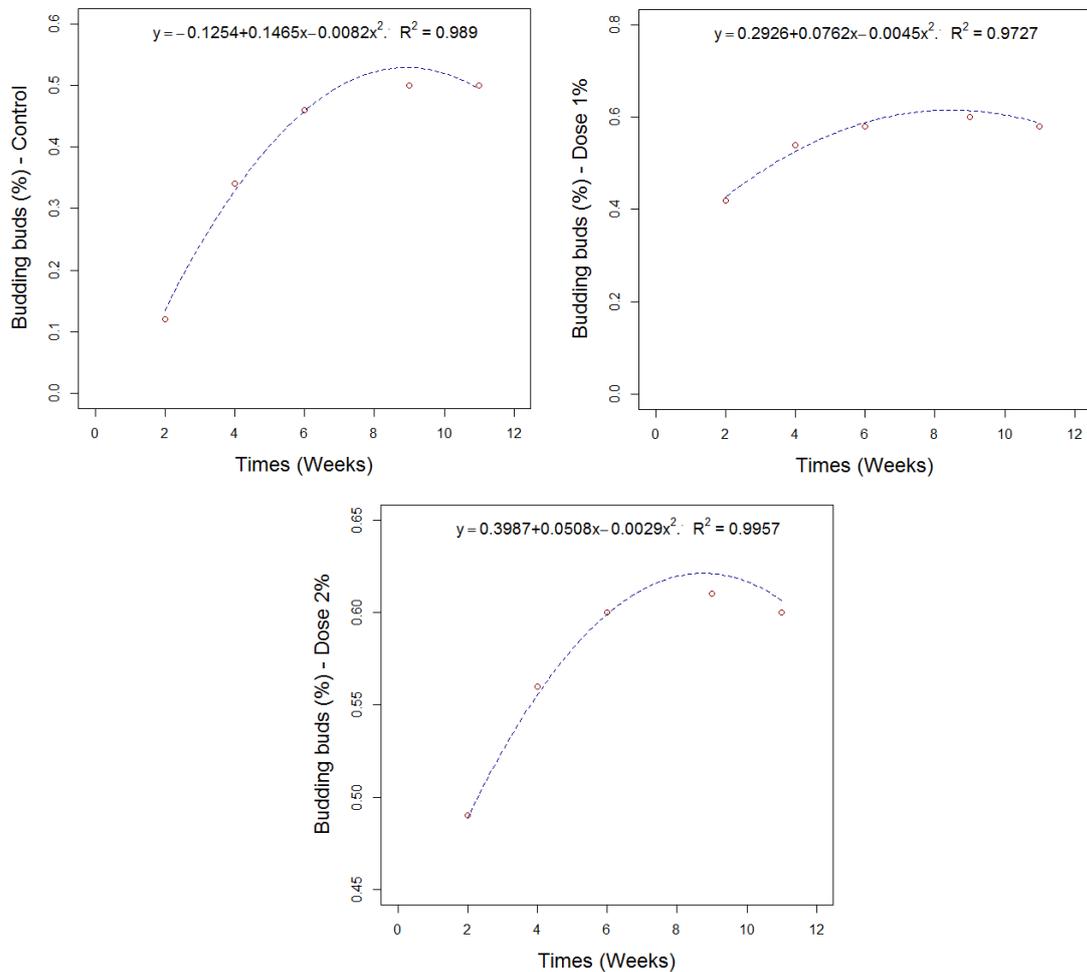


**Figure 4.** Equation for the regression of bud sprouting percentage on the Dormex dose (0, 1, 2, 3, 4, and 5%) within each cultivar ('Cascatense', 'Packham's Triumph', 'Primorosa', 'Seleta', 'Williams') in 2019.

The time comparison was significant only within the 0, 1, and 2% doses ( $p < 0.001$ ) in 2019. Quadratic linear regression was the most appropriate model to describe bud sprouting at

these doses, as there was accelerated sprouting at the beginning of the evaluations, stabilization, and a decrease (bud abortion) (Figure 5).

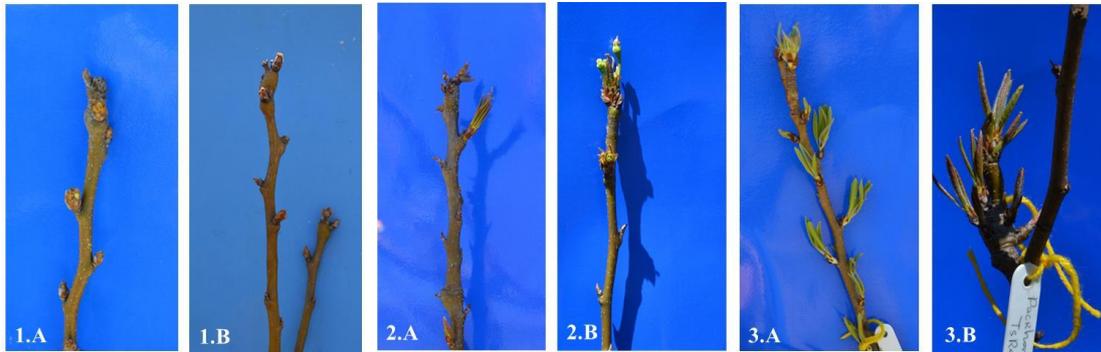
Despite showing similar behavior, with budding stabilization at approximately 8-9 weeks, the 1 and 2% doses showed higher bud sprouting (60%) than the control (50%). This demonstrates the efficiency of the application of Dormex<sup>®</sup> in pear bud sprouting. Despite these low budding rates, they were still higher than the rates at the same doses in 2018.



**Figure 5.** Equation for the regression of bud sprouting percentage on time (2, 4, 6, 8, 10, and 12 weeks) within each dose (0, 1, and 2%) in 2019.

Figure 6 shows the branches of a hybrid cultivar ('Seleta') and a European cultivar ('Packham's Triumph') when only water (1.A and 1.B), 2% (2.A and 2.B), or 5% Dormex<sup>®</sup> was

added (3.A and 3.B), at 6 WATA. The difference in bud sprouting capacity was visible as the dose increased. The bud sprouting capacity of the hybrid cultivar was highest.



**Figure 6.** Pear cultivars that received only water (0%) (1.A 'Seleta' and 1.B 'Packham's Triumph'), 2% Dormex<sup>®</sup> (2.A 'Seleta' and 2.B 'Packham's Triumph'), or 5% Dormex<sup>®</sup> (3.A 'Seleta' and 3.B 'Packham's Triumph'), at 6 WATA.

#### 4. DISCUSSION

The 'Williams' and 'Packham's Triumph' cultivars showed lower budding rates than the other cultivars. This is due to the greater requirement for CH at temperatures equal to or lower than 7.2 °C (> 150 hours) to overcome dormancy (Pio et al., 2018). Figure 1 shows that the minimum average temperatures recorded before the application of Dormex<sup>®</sup> were low but not sufficient, even with the exogenous application of bud-inducing products. Several problems related to dormancy occur in temperate fruit trees grown in regions with mild winters. One way to overcome the limitations imposed by environmental conditions is to use cultivars with low cold requirements that are adapted to the climatic conditions of the region (Rahemi & Pakkish, 2009), in addition to the application of bud-inducing products (Kuroki et al., 2013).

Studies have analyzed the effect of the absence of cold and its impacts on temperate fruit trees since temperature patterns influence budding rates (Maguylo et al., 2012; Malagi et al., 2015). The lack of adequate environmental conditions for the development of temperate fruit trees can cause numerous physiological anomalies in plants, such as low budding rates and low productive potential of orchards (Maguylo et al., 2012). The 'Cascatense', 'Primorosa', and

'Seleta' cultivars, obtained through hybridization between Asian and European pear (*Pyrus communis* × *P. pyrifolia*), are therefore more adapted to mild winter conditions, explaining their higher bud sprouting rates than the European ones had.

Hussain et al. (2016) obtained the beginning of bud sprouting of cv. 'Wonhwang' only one week after submission of the cuttings to treatment with  $\text{CN}_2\text{H}_2$ . This might be because the cuttings were previously subjected to continuous low temperature (5 °C) in a cold chamber to stimulate the accumulation of 650 hours of refrigeration (equivalent to 2/3 of the cultivar's need).

Doses of 1, 2, 4, and 5% showed accelerated budding at the beginning of the evaluations, with subsequent stabilization and a decrease (bud abortion) in 2018, indicating that the evaluated period was long enough to describe the behavior of the doses over time, with the exception of the 0% and 3% doses, which induced a linear behavior. Besides the 0% and 3% doses, no dose showed stabilization and a decrease for 2019. Therefore, bud sprouting could increase even more with a longer evaluation period.

Only the 'Cascatense' and 'Primorosa' cultivars in 2018 showed stabilization of the bud sprouting rate, with doses of 4% and 3% of Dormex<sup>®</sup>, which provided greater sprouting. However, very high doses can cause antagonistic effects, impairing bud sprouting and effective fruiting (Petri et al., 2014), reinforcing the importance of finding an ideal dose.

In 2018, the 3, 4, and 5% doses showed higher bud sprouting (70-80%) than lower doses (40-50%); however, the 4% and 5% doses promoted high budding rates in a shorter time (anticipation of bud sprouting by approximately 4 weeks). Budding indices above 70% are considered satisfactory to end endodormancy in temperate fruit trees (Anzanello et al., 2018).

The effect of  $\text{CH}_2\text{N}_2$  on pear dormancy breaking depends on the concentration (applied dose), accumulated refrigeration, and cultivar (Kuroki et al., 2013). The application of 4-5%  $\text{CH}_2\text{N}_2$  was the most indicated for better pear budding, similar to that found for blackberry cv.

Tupy, in which the 4.5% dose showed greater anticipation, uniformity, budding, and fruit production (Fernández et al., 2011).

Hussain et al. (2016) obtained 82.3% bud sprouting of pear cv. 'Wonhwang' with 3%  $\text{CH}_2\text{N}_2$ , higher than the other treatments with thiourea ( $\text{CH}_4\text{N}_2\text{S}$ ) and control. Although treatment with  $\text{CH}_2\text{N}_2$  showed the best results, a higher dose might achieve even better rates, since the study did not evaluate different doses. Marchi et al. (2017) also observed that, regardless of the cultivar, the location of the bud, and the evaluation period, the highest percentages of budding of apple tree buds were obtained with the use of  $\text{CH}_2\text{N}_2$  (2%) + mineral oil compared to the absence of  $\text{CH}_2\text{N}_2$ ). Although other products, such as vegetable and mineral oil, showed a significant increase in budding percentage, Marchi et al. (2017) observed that the use of oils did not reach half of the gains obtained (bud sprouting) with the use of  $\text{CH}_2\text{N}_2$ . Chen & Beckman (2019) observed budding approximately 4 times higher in peach tree branches sprayed with  $\text{CH}_2\text{N}_2$  than in untreated branches. Thus, the use of hydrogenated cyanamide efficiently induces budding. In addition, the efficacy, anticipation, and uniformity of budding favors its use (Kuroki et al., 2013).

Figure 6 shows the flowering and fruiting of 'Packham's Triumph' pear trees in a subtropical region (Cwa climate, according to the Köppen climate classification). The use of bud-inducing products is essential to break this cultivar out of dormancy in a subtropical region. The photographs prove that it is possible to grow European pears in mild-winter regions, but new crop management techniques should be improved.



**Figure 6.** Flowering (A and B) and fruit production of the 'Packham's Triumph' cultivar (C) in a subtropical region of Brazil (Cwa climate, according to the Köppen climate classification).

## 5. CONCLUSION

$\text{CH}_2\text{N}_2$  efficiently induces bud sprouting of pear, with especially 4% and 5% Dormex<sup>®</sup>. Hybrid pear showed better performance in subtropical regions, with higher budding rates, than European pear.

## 6. ACKNOWLEDGMENT

The authors thank FAPEMIG, CNPq, and Coordination for the Improvement of Higher Education Personnel (CAPES) for financial support. We also thank the Federal University of Lavras (Universidade Federal de Lavras - UFLA) for technological and infrastructural support.

## 7. BIBLIOGRAPHIC REFERENCES

Alvares, C. A., Stape, J. L., Sentelhas, P. C., Gonçalves, J. L. M., Sparovek, G. Köppen' climate classification map for Brazil. *Meteorologische Zeitschrift*, v.22, p.711–728, 2013. doi:10.1127/0941-2948/2013/0507.

Anzanello, R.; Fialho, F. B.; Santos, H. P. Chilling requirements and dormancy evolution in grapevine buds. *Ciência e Agrotecnologia*, v.42, n.4, p.364-371, 2018. doi:10.1590/1413-70542018424014618.

Anzanello, R.; Fialho, F. B.; Santos, H. P.; Bergamashi, R.; Marondin, G. A. B. Bud dormancy in apple trees after thermal fluctuations. *Pesquisa Agropecuária Brasileira*, v.49, n.6, p.457-464, 2014. doi:10.1590/s0100-204x2014000600007.

Barbosa, C. M. A.; Pio, R.; Souza, F. B. M.; Bisi, R. B.; Bettiol Neto, J. E.; Farias, D. H. Phenological evaluation for determination of pruning strategies on pear trees in the tropics. *Scientia Horticulturae*, v.240, p.326-332, 2018. doi:10.1016/j.scienta.2018.06.006.

Bettiol Neto, J. E.; Chagas, E. A.; Sanches, J.; Pio, R.; Antoniali, S.; Cia, P. Production and postharvest quality of pear tree cultivars in subtropical conditions at eastern of São Paulo state, Brazil. *Ciência Rural*, v.44, n.10, p.1740-1746, 2014. doi: 10.1590/0103-8478cr20131574.

Bisi, R. B.; Pio, R.; Farias, D. H.; Locatelli, G.; Barbosa, C. M. A.; Pereira, W. A. Molecular Characterization of the S-alleles and compatibility among hybrid pear tree cultivars for subtropical regions. *Hortscience*, v.54, n.12, p.2104-2110, 2019. doi:10.21273/HORTSCI14261-19.

Campoy, J. A.; Ruiz, D.; Egea, J. Dormancy in temperate fruit trees in a global warming context: A review. *Scientia Horticulturae*, v.130, n.2, p.357-372, 2011. doi:10.1016/j.scienta.2011.07.011.

Chen, C.; Beckman, T. G. Effect of a late spring application of hydrogen cyanamide on high-chill peaches. *Agronomy*, v.9, n.726, p.1-10, 2019. doi:10.3390/agronomy9110726.

Curi P. N.; Bisi R. B.; Salgado D. L.; Barbosa C. M. D. A.; Pio R.; de Souza V. R. Hybrid cultivars of pear in subtropics regions: processing ability in the form of jelly. *Ciência Rural*, v.47, n.11, p.1-7, 2017. doi:10.1590/0103-8478cr20170331.

Fernández, N. B.; Segantini, D. M.; Leonel, S.; Ripardo, A. K. S.; Auricchio, M. G. R. Growth regulators use for dormancy breaking and influence in blackberry. *Revista Brasileira de Fruticultura*, volume especial, p.275-280, 2011. doi: 10.1590/S0100-29452011000500034.

Hussain, S.; Teng, Y.; Hamid, A.; Shah, S. Z. A.; Shah, A. H.; Yaqoob, A.; Ali, T.; Ahmed, M.; Hussain, I.; Arif, U. Carbohydrate changes during dormancy release in floral, vegetative buds and bark tissues of pear cultivar 'Wonhwang' cuttings following dormancy breaking agents treatment. *International Journal of Environmental & Agriculture Research*, v.2, n.3, p.53-64, 2016.

Kuroki, K.; Takemura, Y.; Matsumoto, K. Effect of hydrogen cyanamide on breaking flower bud endodormancy and flowering period of major Japanese Pear cultivars. *Horticultural Research Japan*, v.12, n.2, p.179-185, 2013. doi: 10.2503/hrj.12.179.

Maguylo, K.; Cook, N. C.; Theron, K. I. Environment and position of first bud to break on apple shoots affects lateral outgrowth. *Trees - Structure and Function*, v.26, n.2, p.663-675, 2012. doi:10.1007/s00468-011-0634-y.

Malagi, G.; Sachet, M. R.; Citadin, I.; Herter, F. G.; Bonhomme, M.; Regnard, J. L.; Legave, J. M. The comparison of dormancy dynamics in apple trees grown under temperate and mild winter climates imposes a renewal of classical approaches. *Trees - Structure and Function*, v.29, n.5, p.1365-1380, 2015. doi:10.1007/s00468-015-1214-3.

Marchi, T.; Oliari, I. C. R.; Maia, A. J.; Sato, A. J.; Botelho, R. V. Induction of bud development in apple trees with the application of vegetable and mineral oils. *Revista Ciência Agronômica*, v.48, n.3, p.501-512, 2017. doi: 10.5935/1806-6690.20170059.

- Minuzzi, R. B. Statistical modeling for the monthly estimate of chilling hours and units in Plateau regions of Rio Grande do Sul and Santa Catarina, Brazil. *Revista Ceres*, v.65, n.6, p.474-480, 2018. doi: 10.1590/0034-737x201865060002.
- Petri, J. L. Leite, G. B.; Couto, M.; Gabardo, G. C. Chemical induction of budbreak: new generation products to replace hydrogen cyanamide. *Acta Horticulturae*, v.1042, n.1, p.159-166, 2014. doi:10.17660/actahortic.2014.1042.19.
- Pio, R.; Souza, F. B. M.; Kalcsits, L.; Bisi, R. B.; Farias, D. H. Advances in the production of temperate fruits in the tropics. *Acta Scientiarum. Agronomy*, v.41, p.1-10, 2018. doi:10.4025/actasciagron.v41i1.39549.
- Rahemi, M.; Pakkish, Z. Determination of chilling and heat requirements of Pistachio (*Pistacia vera* L.) cultivars. *Agricultural Sciences in China*, v.8, n.7, p.803-807, 2009.
- Rohde, A.; Bhalerão, R. P. Plant dormancy in the perennial context. *Trends in Plant Science*, v.12, n.5, p.217-223, 2007. doi:10.1016/s1671-2927(08)60281-3.
- Rufato, L.; Kretschmar, A. A.; Bogo, A.; Machado, B. D.; Marcon Filho, J. L.; Luz, A. R.; Marchi, T. Vegetative aspects of european pear scions cultivars in combination with quince roots-tocks in Urupema Santa Catarina State, Brazil. *Acta Horticulturae*, n.909, p.207-213, 2011. doi: 10.17660/ActaHortic.2011.909.22.
- Ruiz, D.; Campoy, J. A.; Egea, J. Chilling and heat requirements of apricot cultivars for flowering. *Environmental and Experimental Botany*, v.61, n.3, p.254-263, 2007. doi:10.1016/j.envexpbot.2007.06.008.