



**MADELEINE ALVES DE FIGUEIREDO**

**DESCRIÇÃO FLORAL, POLÍNICA E  
CARPOMÉTRICA DE CULTIVARES DE  
AMOREIRA-PRETA**

**LAVRAS - MG**

**2013**

**MADELEINE ALVES DE FIGUEIREDO**

**DESCRIÇÃO FLORAL, POLÍNICA E CARPOMÉTRICA DE  
CULTIVARES DE AMOREIRA-PRETA**

Dissertação 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 a obtenção do título de Mestre.

Orientador

Dr. Rafael Pio

**LAVRAS - MG**

**2013**

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Divisão de Processos Técnicos da  
Biblioteca da UFLA**

Figueiredo, Madeleine Alves de.

Descrição floral, polínica e carpométrica de cultivares de  
amoreira-preta / Madeleine Alves de Figueiredo. – Lavras : UFLA,  
2013.

68 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2013.

Orientador: Rafael Pio.

Bibliografia.

1. *Rubus* spp. 2. Cultura de tecidos. 3. Botânica. 4. Emergência  
de plântulas. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 634.7132

**MADELEINE ALVES DE FIGUEIREDO**

**DESCRIÇÃO FLORAL, POLÍNICA E CARPOMÉTRICA DE  
CULTIVARES DE AMOREIRA-PRETA**

Dissertação 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 a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 04 de fevereiro de 2013.

Dr. Adelson Francisco de Oliveira

EPAMIG

Dr. José Darlan Ramos

UFLA

Dr. Rafael Pio  
Orientador

**LAVRAS - MG**

**2013**

A Deus, por sempre me abençoar e iluminar o meu caminho. À Santa Paulina, por sempre olhar por mim e atender minhas orações. Aos meus amados pais, Heider e Marlene, pelo exemplo de dedicação, amor, humildade e carinho, que sempre estiveram ao meu lado, mostrando o caminho certo a seguir. Aos meus lindos irmãos Hedeilson, Milene e Marislaine, pelo amor incondicional e pelo imenso incentivo, que me dá forças pra seguir sempre em frente. Aos meus cunhados pelo apoio, carinho e amizade e aos amores da minha vida, meus sobrinhos lindos, Henrique e Henzo, simplesmente por existirem. As minhas avós queridas, Terezinha e Maria Augusta, pelo amor, ajuda, carinho e pela família linda que tenho. Ao meu amor Daniel, pela paciência, companheirismo, amor e por acrescentar felicidade aos meus dias. Aos meus familiares e amigos por acreditarem na minha vitória.

*Dedico*

## **AGRADECIMENTOS**

Aos meus pais, Heider e Marlene, aos meus irmãos Hedeilson, Milene e Marislaine, aos meus cunhados, Jaqueline, Flavinho e Danilo, as minhas avós Terezinha e Maria Augusta, aos meus sobrinhos Henrique e Henzo e ao meu lindo, Daniel, pela paciência, dedicação, compreensão, amor e incentivo. Sou muito abençoada por ter pessoas tão maravilhosas na minha vida. Amo muito vocês.

Aos meus sogros Helena e Manoel, aos meus cunhados Rafael e Gabriel e as minhas concunhadas Elvira e Marina, pelo carinho, atenção, amizade e por torcerem por mim.

Às amigas Dayana, Noêmia, Raquel, Lara, Melina e Helena pela imensa amizade, carinho e incentivo.

À Universidade Federal de Lavras, em especial ao Departamento de Agricultura, pela oportunidade e apoio durante a realização deste trabalho.

Ao professor Dr. Rafael Pio pela orientação e contribuições para minha formação profissional.

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

Ao apoio financeiro da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG) e do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq).

Aos funcionários do Departamento de Agricultura, setor de Fruticultura, Arnaldo e Danilo, pela ajuda na execução das atividades.

Aos colegas de trabalho do pomar pela amizade, dedicação, ajuda e ensinamentos, que foram de grande valia para a realização deste trabalho.

## RESUMO

Visando dar suporte a trabalhos de melhoramento genético da amoreira-preta, objetivou-se estudar as características florais, carpométricas, meio de cultura, viabilidade dos grãos de pólen e a capacidade germinativa de sementes de oito cultivares ('Brazos', 'Caingangue', 'Cherokee', 'Choctaw', 'Comanche', 'Guarani', 'Tupy' e 'Ébano'). Para a caracterização floral, botões florais de cada cultivar foram coletados para avaliação do número de estames, carpelos, pétalas e sépalas. Com auxílio de uma lâmina de leitura (*Neubauer*) foi possível determinar o número de grãos de pólen por antera e por flor. Em seguida, utilizando-se o políio da cultivar 'Comanche', a composição básica de um meio de cultura para a germinação de grãos de pólen foi estabelecida através dos seguintes testes: A) concentrações de ágar (4, 6, 8 e 10g L<sup>-1</sup>) x valores de pH (3,5; 4,5; 5,5 e 6,5); B) concentrações de sacarose (0, 30, 60, 90g L<sup>-1</sup>); C) concentrações de nitrato de cálcio (0, 200, 400, 800mg L<sup>-1</sup>) x ácido bórico (0, 400, 800, 1200mg L<sup>-1</sup>); D) tempo de emissão do tubo polínico (0, 1, 2, 3, 4, 5 e 6 horas após inoculação), os quais foram montados de forma sequencial. Com o meio de cultura estabelecido, os grãos de pólen de cada cultivar foram submetidos em cultura *in vitro* e a taxa de germinação de grãos de pólen foi determinada. Botões florais de cada cultivar foram marcados no campo e posteriormente avaliados, obtendo-se a porcentagem de frutificação. Para a carpometria, frutos maduros das diferentes cultivares foram colhidos para a determinação da massa fresca e dimensões dos frutos, além da quantidade, massa e dimensões dos drupetes e número de sementes, as quais foram semeadas em bandejas com substrato à base de casca de pinus e mantidas em estufa plástica, para posterior determinação da porcentagem de emergência de plântulas. Todos os experimentos foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, contidos de suas respectivas repetições. A cultivar Brazos se destaca em relação às características florais e carpométricas, bem como a germinação dos grãos de pólen e emergência de suas plântulas. Realizando-se as leituras da porcentagem de germinação após cinco horas de incubação conclui-se que o meio de cultura para a germinação de grãos de pólen da amoreira-preta deve ser acrescido de 90g L<sup>-1</sup> de sacarose e 400mg L<sup>-1</sup> de ácido bórico, sendo o pH aferido para 6,5 e o meio solidificado com 8g L<sup>-1</sup> de ágar.

Palavras-chave: *Rubus* spp. Cultura de tecidos. Botânica. Emergência de plântulas.

## ABSTRACT

Aiming to support blackberry breeding programs, the objective of this research was to study the floral and fruit characteristics, culture medium, pollen grain viability and seeds germination capacity of eight cultivars ('Brazos', 'Caingangue', 'Cherokee', 'Choctaw', 'Comanche', 'Guarani', 'Tupy' e 'Ébano'). For floral and flower buds characteristics of each cultivar were collected to evaluate the stamens number, carpels, petals and sepals. With reading blade aid (Neubauer) was possible to determine the number of pollen grains per anther and flower. Then, using the pollen grains of Comanche cultivar, the basic composition of a culture medium for pollen grains germination was established through the following tests: A) Agar concentrations (4, 6, 8 and 10 g L<sup>-1</sup>) x pH values (3,5; 4,5; 5,5 and 6,5); B) sucrose concentrations (0, 30, 60, 90 g L<sup>-1</sup>); C) calcium nitrate concentrations (0, 200, 400, 800 mg L<sup>-1</sup>) x boric acid (0, 400, 800, 1200 mg L<sup>-1</sup>); D) emission time of the pollen tube (0, 1, 2, 3, 4, 5 and 6 hours after inoculation), which were mounted in sequence. With the culture medium established, the pollen grains of each cultivar were submitted *in vitro* culture and the germination rate of pollen grains was determined. Flower buds of each cultivar were marked in the field and subsequently evaluated, getting the percentage of fruiting. For fruit characteristics, ripe fruits of each cultivar were harvested to the determination of fresh mass and fruits dimensions, beyond the quantity, mass and drupets dimensions and seeds number, which were sown in trays with substrate base of pinus bark and maintained in greenhouse for subsequent determination of the percentage of seedling emergence. For all experiments, the experimental design was completely randomized, contained within their respective replicates. The Brazos cultivar stands out in relation to floral and fruit characteristics, as well as pollen grain germination and seedling emergence. Carrying out the readings germination percentage after five hours of incubation it is concluded that the culture medium to pollen grain germination of blackberry should be added 90g L<sup>-1</sup> sucrose and 400mg L<sup>-1</sup> boric acid, being the pH measured to 6,5 and the medium solidified with 8g L<sup>-1</sup> agar.

Keywords: *Rubus* spp. Tissue culture. Botany. Seedlings emergency.

## LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Botões florais (A), detalhe de pétalas, estames e carpelos da flor (B), grãos de pólen germinados *in vitro* (C), frutificação de frutos (D), fruto maduro (E) e emergência de plântulas (F) de cultivares de amoreira-preta. UFLA, Lavras, MG. 2013 ..... 41
- Figura 2 Porcentagem de germinação *in vitro* de grãos de pólen da amoreira-preta 'Comanche' quando submetidos a diferentes pH e concentrações de ágar ( $\text{g L}^{-1}$ ) no meio de cultura. UFLA, Lavras, MG. 2013..... 45
- Figura 3 Porcentagem de germinação *in vitro* de grãos de pólen da amoreira-preta 'Comanche' quando submetidos a diferentes concentrações de sacarose ( $\text{g L}^{-1}$ ) no meio de cultura. UFLA, Lavras, MG. 2013..... 46
- Figura 4 Porcentagem de germinação *in vitro* de grãos de pólen da amoreira-preta 'Comanche' quando submetidos a diferentes concentrações de ácido bórico ( $\text{mg L}^{-1}$ ) e nitrato de cálcio (NC) ( $\text{mg L}^{-1}$ ) no meio de cultura. UFLA, Lavras, MG. 2013 ..... 47
- Figura 5 Porcentagem de germinação *in vitro* de grãos de pólen da amoreira-preta 'Comanche' quando submetidos a diferentes tempos de incubação (horas). UFLA, Lavras, MG. 2013 ..... 49

## LISTA DE TABELAS

|          |  |    |
|----------|--|----|
| Tabela 1 | Valores médios de número de pétalas (NP), número de sépalas (NS), número de estames (NE) e número de carpelos (NC) de flores de diferentes cultivares de amoreira-preta. UFLA, Lavras, MG. 2013 .....  | 43 |
| Tabela 2 | Valores médios de número de polens por antera e número de polens por flor de diferentes cultivares de amoreira-preta. UFLA, Lavras, MG. 2013 .....   | 44 |
| Tabela 3 | Porcentagem de germinação de grãos de pólen de diferentes cultivares de amoreira-preta. UFLA, Lavras, MG. 2013 .....   | 50 |
| Tabela 4 | Porcentagem de frutificação (PF), valores médios de massa do fruto (MF), comprimento do fruto (CF), diâmetro do fruto (DF), número de drupetes (ND), massa de drupetes (MD), comprimento de drupetes (CD), diâmetro de drupetes (DD), número de sementes de frutos (NS), e porcentagem de emergência (PE) de plântulas de diferentes cultivares de amoreira-preta. UFLA, Lavras, MG. 2013..... | 52 |
| Tabela 5 | Resumo da análise de variância (Quadrados Médios) dos dados referentes ao número de pétalas (NP), número de sépalas (NS), número de estames (NE) e número de carpelos (NC) de flores de diferentes cultivares de amoreira-preta. UFLA, Lavras, MG. 2013.....   | 64 |
| Tabela 6 | Resumo da análise de variância (Quadrados Médios) dos dados referentes ao número de polens por antera e número de polens por flor de diferentes cultivares de amoreira-preta. UFLA, Lavras, MG. 2013.....  | 64 |

|           |  |    |
|-----------|--|----|
| Tabela 7  | Resumo da análise de variância (Quadrados Médios) dos dados referentes à porcentagem de germinação <i>in vitro</i> de grãos de pólen da amoreira-preta ‘Comanche’ quando submetidos a diferentes pH e concentrações de ágar ( $\text{g L}^{-1}$ ) no meio de cultura. UFLA, Lavras, MG. 2013 .....   | 65 |
| Tabela 8  | Resumo da análise de variância (Quadrados Médios) dos dados referentes à porcentagem de germinação <i>in vitro</i> de grãos de pólen da amoreira-preta ‘Comanche’ quando submetidos a diferentes concentrações de sacarose ( $\text{g L}^{-1}$ ) no meio de cultura. UFLA, Lavras, MG. 2013 .....  | 65 |
| Tabela 9  | Resumo da análise de variância (Quadrados Médios) dos dados referentes à porcentagem de germinação <i>in vitro</i> de grãos de pólen da amoreira-preta ‘Comanche’ quando submetidos a diferentes concentrações de ácido bórico (AC) ( $\text{mg L}^{-1}$ ) e nitrato de cálcio (NC) ( $\text{mg L}^{-1}$ ) no meio de cultura. UFLA, Lavras, MG. 2013..... | 66 |
| Tabela 10 | Resumo da análise de variância (Quadrados Médios) dos dados referentes à porcentagem de germinação <i>in vitro</i> de grãos de pólen da amoreira-preta ‘Comanche’ quando submetidos a diferentes tempos de incubação (TI) (horas). UFLA, Lavras, MG. 2013 .....  | 66 |
| Tabela 11 | Resumo da análise de variância (Quadrados Médios) dos dados referentes à porcentagem de germinação de grãos de pólen de diferentes cultivares de amoreira-preta. UFLA, Lavras, MG. 2013.....   | 67 |

|           |  |    |
|-----------|--|----|
| Tabela 12 | Resumo da análise de variância (Quadrados Médios) dos dados referentes à porcentagem de frutificação (PF), massa do fruto (MF), comprimento do fruto (CF), diâmetro do fruto (DF) e número de sementes de frutos (NS) de diferentes cultivares de amoreira-preta. UFLA, Lavras, MG. 2013.....            | 67 |
| Tabela 13 | Resumo da análise de variância (Quadrados Médios) dos dados referentes ao número de drupetes (ND), massa de drupetes (MD), comprimento de drupetes (CD), diâmetro de drupetes (DD) e porcentagem de emergência de plântulas (PE) de diferentes cultivares de amoreira-preta. UFLA, Lavras, MG. 2013..... | 68 |

## SUMÁRIO

|                |  |    |
|----------------|--|----|
| <b>1</b>       | <b>INTRODUÇÃO</b> .....  | 13 |
| <b>2</b>       | <b>REFERENCIAL TEÓRICO</b> .....   | 15 |
| <b>2.1</b>     | <b>Importância da fruticultura no País e o cultivo de amoreira-<br/>preta</b> .....      | 15 |
| <b>2.2</b>     | <b>Amoreira-preta</b> .....  | 16 |
| <b>2.2.1</b>   | <b>Caracterização botânica e aspectos gerais</b> .....                                   | 17 |
| <b>2.2.2</b>   | <b>Caracterização floral e carpometria</b> .....   | 18 |
| <b>2.2.3</b>   | <b>Melhoramento genético</b> .....   | 21 |
| <b>2.2.3.1</b> | <b>Histórico</b> .....   | 21 |
| <b>2.2.3.2</b> | <b>Objetivos</b> .....   | 23 |
| <b>2.2.4</b>   | <b>Cultivares estudadas</b> .....  | 25 |
| <b>2.2.4.1</b> | <b>‘Brazos’</b> .....  | 25 |
| <b>2.2.4.2</b> | <b>‘Caingangue’</b> .....  | 26 |
| <b>2.2.4.3</b> | <b>‘Cherokee’</b> .....  | 26 |
| <b>2.2.4.4</b> | <b>‘Comanche’</b> .....  | 27 |
| <b>2.2.4.5</b> | <b>‘Choctaw’</b> .....   | 27 |
| <b>2.2.4.6</b> | <b>‘Ébano’</b> .....   | 28 |
| <b>2.2.4.7</b> | <b>‘Guarani’</b> .....   | 28 |
| <b>2.2.4.8</b> | <b>‘Tupy’</b> .....  | 29 |
| <b>2.3</b>     | <b>Grão de pólen e sua importância para o melhoramento genético<br/>de plantas</b> ..... | 29 |
| <b>2.4</b>     | <b>Componentes do meio de cultura</b> .....  | 31 |
| <b>2.5</b>     | <b>Germinação de grão de pólen</b> .....   | 33 |
| <b>3</b>       | <b>MATERIAL E MÉTODOS</b> .....  | 35 |
| <b>4</b>       | <b>RESULTADOS E DISCUSSÃO</b> .....  | 42 |
| <b>5</b>       | <b>CONCLUSÕES</b> .....  | 54 |
|                | <b>REFERÊNCIAS</b> .....   | 55 |
|                | <b>ANEXOS</b> .....  | 64 |

## 1 INTRODUÇÃO

A fruticultura brasileira está competindo mais ativamente no mercado internacional, aumentando sua participação na economia do País. Essa atividade está entre as principais geradoras de renda, emprego e desenvolvimento rural do agronegócio nacional.

A produção de frutas de clima temperado é responsável por aproximadamente 37% do valor total das exportações de frutas do País, o que demonstra a importância desse setor para manter a balança comercial positiva (FACHINELLO et al., 2011), que apresentou um superávit de US\$138,684 milhões no ano de 2011 (ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2012).

Dentre as frutas de clima temperado, a amoreira-preta, que é considerada uma fruteira representante do grupo das pequenas frutas vermelhas, tem despertado o interesse de produtores, pelo seu alto valor econômico agregado e rusticidade das plantas, e também procura por parte dos consumidores, pela qualidade nutracêutica inerente à composição de seus frutos.

Segundo Strik et al. (2007), em 1995 havia 13.958 ha de amoreira-preta plantadas e cultivadas comercialmente em todo o mundo e em 2005 essa área chegou a 20.036 ha, um aumento de 45%. Há estimativa de que até 2015, a área plantada com amoras comerciais em todo o mundo chegue a 27.032 ha, sendo a produção de plantas selvagens não incluídas nesses dados.

No Brasil, as primeiras plantas foram introduzidas em 1972, pela Embrapa Clima Temperado, de Pelotas (RS), a qual selecionou cultivares adaptadas, a partir de material oriundo da Universidade de Arkansas (EUA) (VIZZOTTO; PEREIRA, 2011). As primeiras cultivares brasileiras lançadas foram Tupy, Guarani e Caingangue (FACHINELLO et al., 2011).

Dos trabalhos de melhoramento e introdução resultaram várias cultivares recomendadas, com características para industrialização e/ou para o consumo ao natural, mas ainda há necessidade de realizar trabalhos de melhoramento genético dessa fruteira visando o desenvolvimento de cultivares ausentes de acúleos, com alta produtividade, maior massa e qualidade de frutos, resistência pós-colheita (ANTUNES, 2002) e que sejam melhores adaptadas em regiões subtropicais.

Estudos referentes às características florais e carpométricas dos germoplasmas disponíveis e a viabilidade e capacidade germinativa de seus grãos de pólen, para facilitar a realização de hibridações a campo, são essenciais nos programas de melhoramento dessa fruteira.

Portanto, o objetivo do presente trabalho foi realizar a caracterização floral, a carpometria, estabelecer a composição de um meio de cultura e, quantificar a germinação de grãos de pólen e emergência de plântulas de diferentes cultivares de amoreira-preta.

## **2 REFERENCIAL TEÓRICO**

### **2.1 Importância da fruticultura no País e o cultivo de amoreira-preta**

O Brasil produz ao ano 42 milhões de toneladas de frutas frescas, volume que comporta 20 espécies de variados formatos, cores, sabores e aromas. Ocupa a posição de terceiro maior produtor mundial de frutas, perdendo para China e Índia (ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA, 2012).

A fruticultura participa diretamente na economia do País, através do valor das exportações e mercado interno e pode-se salientar ainda a importância no caráter econômico-social, uma vez que está presente em todos os estados brasileiros. É responsável pela geração de 5,6 milhões de empregos diretos, o equivalente a 27% do total da mão de obra agrícola do País (FACHINELLO et al., 2011).

O aumento do poder aquisitivo da população de baixa renda e a mudança no hábito alimentar da população brasileira têm possibilitado uma enorme demanda para a produção de frutas frescas (ANTUNES, 2002).

O aumento da área cultivada e a produção de frutas de clima temperado têm crescido no Brasil e estão distribuídas em 11 dos 26 estados brasileiros. O Rio Grande do Sul ocupa o primeiro lugar, com 49,3% do total produzido no País, seguido de Santa Catarina (23,2%), São Paulo (10,3%), Paraná (6,2%) e Pernambuco (5,3%) (FACHINELLO et al., 2011).

Não obstante, a produção brasileira das principais espécies frutíferas de clima temperado ainda é insuficiente para atender à demanda interna, gerando uma crescente necessidade de importação de frutas que podem ser produzidas no Brasil (ANTUNES, 2002). A produção de pequenas frutas, como a amora-preta, o morango, a framboesa e o mirtilo, ainda é pouco expressiva, mas verifica-se avanços nas áreas cultivadas (FACHINELLO et al., 2011).

Dentre as pequenas frutas, a amoreira-preta expressa-se cada vez mais no mercado brasileiro e segundo Strik et al. (2007), estima-se que até 2007 a área plantada dessa frutífera no país era de 250 ha, com produção de 780 toneladas.

Não há estatísticas nacionais de produção de pequenas frutas, mas o Censo Frutícola 2011 da Emater/RS mostra que 395 agricultores, apenas do Rio Grande do Sul, colheram 2,21 mil toneladas de amora-preta em 239,2 ha (ANUÁRIO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 2012).

A área de amoreira-preta plantada no Brasil estende-se do Espírito Santo, Rio de Janeiro e Sul de Minas Gerais, ao Sul do Rio Grande do Sul (ANTUNES et al., 2007).

O cultivo da amoreira-preta vem sendo incentivado em função do potencial para a comercialização e industrialização (HIRSCH et al., 2012). Clark e Finn (2011) e Fachinello et al. (2011) acreditam que os cultivos de amoreira-preta irão aumentar nos próximos anos, com perspectivas até mesmo para a exportação.

## **2.2 Amoreira-preta**

Apesar de tratar-se de uma espécie cujo cultivo ainda é incipiente, as potencialidades da produção e da rentabilidade desta cultura são altamente promissoras. Para a realização de um estudo que envolva a amoreira-preta, torna-se necessário conhecê-la, por isso, alguns itens são citados a seguir.

### 2.2.1 Caracterização botânica e aspectos gerais

A amoreira-preta faz parte de um grande grupo de plantas do gênero *Rubus*. Esse gênero pertence à família *Rosaceae*, na qual existem outros gêneros de importância (*Malus*, *Prunus*, *Pyrus*, dentre outros) para a fruticultura brasileira (ANTUNES, 2002). Estima-se existir nesse gênero, 400 a 500 espécies de framboesa e amoreira-preta nativas da América, Europa, África e Ásia (BASSOLS, 1980; POLING, 1996 citado por ANTUNES, 2002).

É uma espécie arbustiva de porte ereto, semiereto ou rasteiro (CLARK; FINN, 2011). Segundo Strik et al. (2007) 50% da produção mundial de amora-preta é do tipo semiereto, 25% do rasteiro e 25% do ereto.

Apresenta flores com múltiplos ovários e estames (CLARK; FINN, 2011) e que produz frutos agregados (FACHINELLO et al., 1994; SHOEMAKER, 1978). Em relação ao ponto de colheita, esse é determinado quando o fruto estiver totalmente preto, devendo a colheita ser realizada a cada dois a três dias (BASSOLS, 1980; RASEIRA; SANTOS; MADAIL, 1984 citado por ANTUNES, 2002).

Apresenta acúleos em suas principais cultivares comerciais, o que exige do operador da colheita muito cuidado com sua integridade física, bem como com a qualidade da fruta. São plantas que produzem em ramos de ano, sendo eliminados após a colheita. Enquanto alguns ramos estão produzindo, outras hastes emergem e crescem, renovando o material para a próxima produção (FACHINELLO et al., 1994; SHOEMAKER, 1978). As cultivares *Prime-Jan* e *Prime-Jim* são cultivares melhoradas que produzem em ramos do ano (CLARK et al., 2005).

As espécies vegetais podem ser propagadas sexualmente e assexuadamente (ANTUNES, 1999).

Pode ser cultivada desde regiões com invernos amenos (a partir de 200 horas de frio) até regiões com frios extremos (mais de 1.000 horas de frio com temperaturas inferiores a 7,2°C) (BROETTO et al., 2009). Sendo planta exigente em frio, os aspectos fenológicos da amoreira-preta podem variar de ano para ano, em função dessa exigência em frio ter sido ou não satisfeita (ANTUNES, 2002).

A produção de amora-preta no Brasil estende-se de outubro a fevereiro, não havendo oferta interna do produto fora desse intervalo (ANTUNES et al., 2006).

No Rio Grande do Sul, principalmente nos municípios de Feliz e Vacaria, a amoreira-preta tem tido grande aceitação pelos produtores, devido ao baixo custo de produção, facilidade de manejo, rusticidade e pouca utilização de defensivos agrícolas. A produtividade de 10.000 kg/ha/ano é considerada boa sob condições adequadas (ANTUNES, 2002), mas pode chegar até 25.000kg/ha/ano se bem manejada (ANTUNES et al., 2000).

É uma fruteira de rápido retorno econômico, pois no primeiro ano entra em produção (CAMPAGNOLO; PIO, 2012b), dando ao pequeno produtor opções de renda, destinando seu produto ao mercado natural, indústria de produtos lácteos e congelados e fabrico de geleias caseiras que, com o potencial do ecoturismo regional torna-se bastante atrativo para a agregação de valor ao produto (ANTUNES, 2002).

### **2.2.2 Caracterização floral e carpometria**

Para dar suporte aos programas de melhoramento, o conhecimento das características florais e carpométricas dos germoplasmas disponíveis são de suma importância para a seleção dos progenitores a serem utilizados nas hibridações (CLARK, 2008), auxiliando também na definição de técnicas de

seleção e hibridação mais apropriadas a serem usadas (ALLARD, 1971 citado por PEREIRA; BRITO; AMARAL, 2007).

As flores de amoreira-preta possuem numerosos estames e carpelos dispostos ao redor de um receptáculo, geralmente de forma cônica e, em geral, são compostas por cinco sépalas e cinco pétalas brancas ou rosas, sendo que flores duplas não são incomuns (CLARK; FINN, 2011; RASEIRA; FRANZON, 2012).

Strik, Mann e Finn (1996) observaram que, entre diferentes genótipos de amoreira-preta estudados, o número de ovários presente em suas flores variou de 15,5 a 133,6.

Segundo Curi (2012), a floração do segundo ciclo produtivo de diferentes cultivares de amoreira-preta cultivadas em região de clima tropical de altitude com inverno ameno teve seu início concentrado entre o final do mês de julho ao final da primeira quinzena de agosto, com exceção da cultivar Ébano, que iniciou a emissão de flores no final de setembro. O término da floração se deu no fim do mês de dezembro e não ultrapassou a primeira quinzena de janeiro. Campagnolo e Pio (2012b) trabalhando com as mesmas cultivares de amoreira-preta no Oeste Paranaense, observaram que o início da floração concentrou-se entre o fim do mês de agosto ao início de setembro e teve seu término antes da primeira quinzena de janeiro.

O fruto verdadeiro da amoreira-preta é denominado de minidrupa ou drupete, onde existe uma pequena semente, sendo que a sua junção forma o que é chamado de fruto agregado (POLING, 1996 citado por ANTUNES, 2002). Strik, Mann e Finn (1996) observaram que, entre diferentes genótipos de amoreira-preta estudados, o número de drupetes presentes em seus frutos variou de 41 a 142.

Os frutos possuem cerca de 4 a 7 gramas, são de coloração negra e apresentam sabor ácido a doce-ácido (FACHINELLO et al., 1994; SHOEMAKER, 1978).

O aparecimento da cor púrpura do fruto pode estar relacionado com a grande quantidade de compostos fenólicos presentes em seus frutos e o sabor ácido a doce-ácido se deve ao pH apresentar valores reduzidos, próximos a 3,0 (HIRSCH et al., 2012).

As amoreiras-pretas cultivadas no Brasil produzem frutas que possuem baixo teor de carotenoides e alto teor de antocianinas. Além disso, essas frutas apresentam elevado potencial antioxidante, principalmente pelos teores representativos de compostos fenólicos totais e flavonoides (FERREIRA; ROSSO; MERCADANTE, 2010).

Possuem também alto conteúdo de água, confirmado pelos resultados encontrados para diferentes cultivares de amoreira-preta, que apresentaram valores entre 84,8% e 90,3% (HIRSCH et al., 2012). Apresentam também elevada quantidade de vitaminas A, B e cálcio, além de quantidades expressivas de ácido elágico ( $C_{14}H_6O_8$ ), um hidrolito de elagitanina que tem mostrado propriedades inibidoras contra replicação do vírus HIV, transmissor da Aids e pode atuar na inibição da indução química do câncer (MAAS; GALLETTA; STONER, 1991; MAAS; WANG; GALLETTA, 1991).

Campagnolo e Pio (2012b), Curi (2012) e Strik, Mann e Finn (1996) trabalhando com diferentes cultivares de amoreira-preta, registraram uma variação de 2,0 a 10,1g na massa fresca média de frutos.

Segundo Curi (2012), cultivares de amoreira-preta cultivadas em região de clima tropical de altitude com inverno ameno apresentam ciclo produtivo entre 66 e 133 dias, sendo o período de colheita iniciado em setembro e estendido até janeiro. Campagnolo e Pio (2012b) afirmam que a maioria das cultivares de amoreira-preta cultivadas no Oeste Paranaense apresentou ciclo

produtivo superior a 90 dias, com colheitas se iniciando ao final de outubro e se estendendo até o final de janeiro.

Nos trabalhos realizados por esses autores a maior produtividade estimada foi registrada com a cultivar ‘Brazos’ e as cultivares ‘Tupy’ e ‘Cainguangue’ indicadas para mesa, pois apresentaram bom equilíbrio entre sólidos solúveis totais e acidez (CAMPAGNOLO; PIO, 2012b; CURI, 2012).

### **2.2.3 Melhoramento genético**

A obtenção de novas cultivares de amoreira-preta que reúnam as principais características agrônomicas desejáveis ao cultivo e comercialização no Brasil é um desafio a ser enfrentado. Por isso há necessidade de estudos que ofereçam suporte a Programas de melhoramento genético e que transformem os resultados obtidos em ganhos à sociedade. A seguir são apresentados um breve histórico e os objetivos do melhoramento genético de amoreira-preta.

#### **2.2.3.1 Histórico**

Segundo Poling (1996 citado por ANTUNES, 2002), na América do Norte, antes da chegada dos colonizadores, havia poucas espécies distintas de amoreira-preta. Mas com a colonização, derrubada e eliminação de matas, as amoras espalharam-se, dando oportunidade para diferentes espécies crescerem. Abelhas e outros insetos se incumbiram da troca de pólen e os pássaros da disseminação das sementes pelo país, observando-se um amplo “programa” natural de melhoramento.

O gênero *Rubus*, ao qual a amoreira-preta pertence, apresenta formas de reprodução sexuada e assexuada, possuindo número básico de cromossomos

igual a sete (JENNINGS, 1995). A taxonomia do grupo se torna complicada devido à ocorrência de poliploidia, agamospermia (formação de sementes sem reprodução sexual) e hibridação entre as espécies (ALICE, 2002). As espécies de mesma ploidia são interférteis, assim, as populações de amoras encontradas no mundo são híbridas (DARROW, 1937; MOORE, 1984 citado por ANTUNES, 2002). Dessa forma, torna-se difícil agrupar as cultivares em espécies distintas, já que os progenitores das cultivares modernas foram selecionados a partir de materiais selvagens (MOORE, 1984 citado por ANTUNES, 2002).

Três grupos de amoreiras foram domesticados, sendo o primeiro, o grupo das amoreiras europeias, o segundo, do Leste da América do Norte e o terceiro, do Oeste da América do Norte, geograficamente separado do anterior pelas pradarias e pelas montanhas rochosas (JENNINGS, 1995 citado por RASEIRA; FRANZON, 2012).

O interesse na domesticação da amoreira-preta na América do Norte é marcado pelo lançamento de três cultivares, *Lawton*, *Dorchester* e *Texas Early* que, selecionadas de material selvagem em 1830 e introduzidas em 1850, contribuíram para o desenvolvimento de seleções e cultivares de amoreira-preta (MOORE, 1986; POLING, 1996 citado por ANTUNES, 2002).

No Brasil, ocorrem seis espécies nativas de amoras: *R. urticaefolius*, *R. erythroclados*, *R. brasiliensis*, *R. sellowii*, *R. imperialis* e *R. rosifolius*, as quais produzem frutos pequenos e com coloração branca, rosa, vermelha ou preta (REITZ, 1996). Nenhuma das espécies brasileiras foi domesticada (RASEIRA; SANTOS; BARBIERI, 2004), à exceção da *Rubus rosifolius* (CAMPAGNOLO; PIO, 2012b).

O Programa de melhoramento com amora-preta no Brasil foi iniciado na década de 70, pela Estação Experimental de Pelotas (RS), com a introdução de uma pequena coleção de cultivares, da qual faziam parte 'Brazos', 'Cherokee' e

'Comanche'. Dois ou três anos após essa introdução, foram trazidas sementes de cruzamentos realizados na Universidade de Arkansas, Estados Unidos da América, que originaram cerca de 12 mil *seedlings*, nos quais foram feitas as primeiras seleções (RASEIRA; FRANZON, 2012).

A Embrapa Clima Temperado, dando continuidade ao Programa de melhoramento, selecionou cultivares adaptadas, a partir desse material oriundo da Universidade de Arkansas (VIZZOTTO; PEREIRA, 2011) e então, as primeiras cultivares brasileiras foram criadas. Em 1981 foi lançada a cultivar Ébano e em 1983, a cultivar Negrita (RASEIRA; FRANZON, 2012). Posteriormente, foram lançadas as cultivares Tupy e Guarani, em 1988, Caingangue, em 1992 e Xavante, em 2004 (FACHINELLO et al., 2011; RASEIRA; FRANZON, 2012).

A Embrapa Clima Temperado continua com o Programa de melhoramento genético com a amora-preta e espera lançar mais duas cultivares nos próximos anos (RASEIRA; FRANZON, 2012).

### **2.2.3.2 Objetivos**

Quantidades expressivas de compostos fenólicos e carotenoides, que auxiliam no combate a doenças degenerativas (ALI et al., 2011), aliadas à alta produtividade obtida por área, possibilitaram a expansão das áreas cultivadas com amoreira-preta no hemisfério norte (STRIK et al., 2007), bem como em regiões mais frias do Brasil. Nota-se interesse pelo cultivo dessa fruteira em regiões que possuem clima com temperaturas mais elevadas, a exemplo das zonas subtropicais no Brasil, principalmente nos Estados de São Paulo e Minas Gerais (ATTILIO; BOLIANI; TARCITANO, 2009).

As cultivares Tupy, Guarani e Caingangue, que foram algumas das primeiras cultivares lançadas pela Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária

(EMBRAPA), são dotadas de acúleos, o que dificulta as operações de poda e colheita. Uma opção seria o cultivo de cultivares ausentes de acúleos, como a 'Ébano'. No entanto, Antunes et al. (2000) registraram produtividade de apenas 3.257 kg ha<sup>-1</sup> em plantas dessa cultivar em Caldas, MG, bem inferior ao registrado pela cultivar Brazos, que atingiu 16.357 kg ha<sup>-1</sup> já no primeiro ciclo produtivo. Porém, a cultivar Brazos produz frutos ácidos, impróprios para o consumo ao natural e apresenta acúleos.

Outra opção, para regiões subtropicais, seria a 'Tupy', que produz frutos com bom equilíbrio entre açúcares e acidez. No entanto, Campagnolo e Pio (2012c) registraram produtividade de apenas 6.430 kg ha<sup>-1</sup> em plantas dessa cultivar em Marechal Cândido Rondon, PR.

Tal como acontece com qualquer cultura, existem limitações na variabilidade genética e na metodologia do melhoramento genético, o que dificulta a melhoria. A variabilidade adequada existe para melhorar a maioria das características importantes, tais como a produtividade, a qualidade dos frutos, as características das plantas, a resistência a pragas e doenças e a adaptação a mudanças climáticas (CLARK; FINN, 2011)

Segundo Raseira e Frazon (2012), ênfase deve ser dada à aparência, firmeza e, principalmente, sabor dos frutos, pois a maioria das cultivares não produz frutos suficientemente doces para o mercado brasileiro. Ainda para esses autores, a época de maturação, para um escalonamento da produção e o hábito de crescimento ereto das plantas facilitam a colheita e demais tratamentos culturais e também são objetivos importantes que devem ser considerados.

A produção de amora-preta no Brasil estende-se de outubro a fevereiro, não havendo oferta interna do produto fora desse intervalo, período que pode representar oportunidade àqueles que produzem nessa época do ano, o que pode refletir-se em remuneração da fruta maior que na época normal de safra (ANTUNES et al., 2006).

Assim, nota-se que há necessidade de se intensificar o programa de melhoramento de amoreira-preta no Brasil, voltados para a seleção de cultivares altamente produtivas, ausentes de acúleos, aptas a serem cultivadas em regiões subtropicais, resistentes a pragas e doenças e que também apresentem frutos com qualidade superior.

#### **2.2.4 Cultivares estudadas**

A seguir são apresentadas algumas características importantes das cultivares de maior importância no Brasil:

##### **2.2.4.1 ‘Brazos’**

Cultivar lançada pela Texas A&M University (1959). Resultou da seleção de segunda geração originária de cruzamento entre *Lawton* e *Nessberry*. As hastes são semieretas, vigorosas, com acúleos. São plantas muito produtivas. É uma das primeiras cultivares a florescer, sendo a floração, uniforme. A mesma inicia, geralmente, na segunda semana de setembro e a plena floração ocorre, normalmente, na segunda semana de outubro, nas condições brasileiras. As frutas são grandes (massa média em torno de 8g). O sabor é doce-ácido e um pouco adstringente. O teor de sólidos solúveis é, em geral, entre 8° e 8,5° Brix (RASEIRA; FRANZON, 2012). É recomendada para processamento. No primeiro ano pós-plantio, a produtividade pode chegar a 16 t/ha e, no segundo ano, 25 t/ha (GONÇALVES et al., 2011).

#### **2.2.4.2 ‘Caingangue’**

Foi selecionada dentre os “*seedlings*” de segunda geração de um cruzamento entre ‘Cherokee’ x ‘Seleção Black 1’ (RASEIRA; SANTOS; BARBIERI, 2004). As plantas dessa cultivar têm hastes vigorosas, eretas, com acúleos, tendo boa capacidade de multiplicação. A colheita estende-se da segunda dezena de novembro a meados de dezembro (em alguns anos até o fim de dezembro). A produção média por planta varia de 1,5 a 3kg e a massa média das frutas entre 5 e 6g. As frutas têm forma arredondada. O sabor é doce-ácido, com teor de sólidos solúveis, em média superior a 9° Brix podendo alcançar valores próximos de 11° Brix. A firmeza das frutas é média. É recomendado para consumo ao natural por ter sabor mais equilibrado que as demais cultivares, semelhantemente à ‘Tupy’. É uma cultivar de baixa necessidade em frio, sendo recomendada mesmo para áreas com acúmulo de frio inferior a 200 horas (RASEIRA; FRANZON, 2012). No primeiro ano pós-plantio, a produtividade pode chegar a 8 t/ha e, no segundo ano, 9 t/ha (GONÇALVES et al., 2011).

#### **2.2.4.3 ‘Cherokee’**

Desenvolvida na Universidade de Arkansas, Estados Unidos, e originária de cruzamento realizado entre ‘Darrow’ e ‘Brazos’. As plantas possuem hastes eretas, vigorosas e com acúleos. É considerada como adequada à colheita mecânica. As frutas são de forma alongada, uniformes, apresentando bom sabor, com teor de sólidos solúveis em torno de 8 a 9° Brix, tendendo a equilibrado. São de tamanho médio (5 a 8g). A floração começa no início de outubro e a plena ocorre ao final de outubro ou início de novembro. A colheita inicia ao final de novembro (RASEIRA; FRANZON, 2012).

#### 2.2.4.4 ‘Comanche’

Originário do cruzamento realizado em 1965, na Universidade de Arkansas, Estados Unidos, foi selecionada em 1968 e testada como Ark.527. As plantas têm hastes eretas, muito produtivas e com acúleos (RASEIRA; FRANZON, 2012). Perfilha facilmente e adapta-se à colheita mecânica (MOORE, 1974a citado por RASEIRA; FRANZON, 2012). As frutas são firmes e de bom tamanho. A massa média varia entre 4 e 7g. O sabor tem predominância de acidez. Essa cultivar floresce, em geral, de meados de setembro a início de novembro. A colheita inicia-se no final de novembro ou início de dezembro (RASEIRA; SANTOS; BARBIERI, 2004). No primeiro ano pós-plantio, a produtividade pode chegar a 8 t/ha e, no segundo ano, 16 t/ha (GONÇALVES et al., 2011).

#### 2.2.4.5 ‘Choctaw’

É também originária do Programa de melhoramento da Universidade de Arkansas, proveniente da hibridação realizada entre um híbrido de (‘Darrow’ x ‘Brazos’) x ‘Rosborough’. As plantas são bem eretas, prolíficas, muito produtivas e facilmente produzem hastes a partir de estacas de raiz. É considerada imune à ferrugem e resistente à antracnose, moderadamente suscetível a oídio e suscetível a enrosetamento. É de baixa necessidade ao frio hibernal. As frutas são firmes, cônicas e com sementes e drupetes pequenos. As frutas são médias (em tomo de 5 g de massa média), o sabor é doce-ácido, predominando a acidez, e os sólidos solúveis variam entre 8,2 a 9,6° Brix. A plena floração ocorre, geralmente, no início de outubro e a maturação na terceira semana de novembro (RASEIRA; FRANZON, 2012).

#### **2.2.4.6 ‘Ébano’**

Originária de Pelotas, através de trabalho conjunto entre a Embrapa e a Universidade de Arkansas. Foi selecionada dentre os *seedlings* de segunda geração de cruzamento entre ‘Comanche’ e planta selecionada do cruzamento ‘*Thornfree*’ x ‘Brazos’ (RASEIRA; SANTOS; BARBIERI, 2004). Planta de hábito semiereto, livre de acúleos, possui hastes vigorosas. Apresenta frutas de tamanho grande (6 a 7g) e razoavelmente firme, ácidos, maturação desuniforme (BASSOLS; MOORE, 1981a, 1981b; RASEIRA; SANTOS; MADAIL, 1984). É recomendada para regiões com acúmulo de frio em torno de 400 horas (NUNES; GONSALVES, 1981).

#### **2.2.4.7 ‘Guarani’**

É originária de sementes introduzidas da Universidade de Arkansas, nos Estados Unidos e selecionada na Embrapa Clima Temperado. Floresce ao final de agosto e durante todo o mês de setembro ou, em alguns anos, de setembro a início de outubro. As hastes são eretas e com acúleos. As frutas são de sabor doce-ácido, sendo um pouco mais ácido que doce (RASEIRA; SANTOS; BARBIERI, 2004), de coloração negra, tamanho médio (5g), firme, película resistente e aroma ativo (SANTOS; RASEIRA, 1988 citado por ANTUNES, 2002). O teor de sólidos solúveis varia de 8 a 10° Brix. É inferior à Tupy em cor, sabor e tamanho das frutas. A maturação é precoce, sendo a colheita em novembro. Essa cultivar é também recomendada para consumo ao natural (RASEIRA; SANTOS; BARBIERI, 2004). No primeiro ano pós-plantio, a produtividade pode chegar a 12 t/ha e, no segundo ano, 22 t/ha (GONÇALVES et al., 2011).

#### **2.2.4.8 ‘Tupy’**

É atualmente a cultivar de amoreira-preta mais plantada no Brasil, além de ocupar uma posição de destaque no México onde é produzida, principalmente, para exportação aos Estados Unidos. É resultante do cruzamento realizado entre ‘Uruguai’ x ‘Comanche’. As plantas apresentam porte ereto, são vigorosas, com acúleos, possuem perfilhamento médio e florescem em setembro e outubro. As frutas têm 8 a 10g de massa média, sabor equilibrado entre acidez/açúcar, com teor de sólidos solúveis entre 8 e 9° Brix. Assim como a ‘Caingangue’, é considerada de baixa necessidade em frio (RASEIRA; SANTOS; BARBIERI, 2004). No primeiro ano pós-plantio, a produtividade pode chegar a 8 t/ha e, no segundo ano, 17 t/ha (GONÇALVES et al., 2011).

### **2.3 Grão de pólen e sua importância para o melhoramento genético de plantas**

A palinologia, ciência que estuda os grãos de pólen e esporos, pode ser aplicada a práticas de melhoramento de plantas, notadamente nos estudos de viabilidade de polens. Estudos têm sido realizados com substâncias químicas que estimulam o desenvolvimento do tubo polínico para que haja um índice máximo de fertilização em plantas (OLIVEIRA JÚNIOR, 1999).

Segundo Silva (1996), a fertilidade do grão de pólen pode ser verificada através da emissão, alongamento e formação do tubo polínico *in vitro*, auxiliando assim, em programas de melhoramento de plantas frutíferas.

A avaliação do desenvolvimento biológico de grãos de pólen é fundamental para os trabalhos de biologia reprodutiva e melhoramento genéticos de várias espécies, pois permite obter maior sucesso nos cruzamentos, que são

realizados com a finalidade de obter novos híbridos e/ou aumentar a variabilidade (NUNES et al., 2001).

A técnica mais utilizada na obtenção de novas cultivares é a hibridação controlada no campo e posterior avaliação das progênies. A análise da fertilidade dos grãos de pólen dos progenitores coletados a campo ou armazenados sob condições adequadas é condição preliminar indispensável antes de iniciar os cruzamentos, uma vez que o período anual de floração das plantas em estudo pode ser curto e, caso os polens não estejam viáveis, pode inviabilizar os cruzamentos (CHAGAS et al., 2010).

A composição do meio de cultura, o estado de maturação fisiológica do grão de pólen, sua origem, características genéticas, agentes ambientais como a umidade e temperatura, são alguns dos fatores extrínsecos e intrínsecos que se associam a esse processo (OLIVEIRA JÚNIOR, 1999).

O grão de pólen é uma estrutura microscópica de coloração amarelada que apresenta número haploide de cromossomos e dará origem ao gameta masculino. São formados nas anteras, em estruturas chamadas sacos polínicos, que contêm as “células-mãe” dos grãos de pólen, sendo que cada uma sofre meiose e origina quatro micrósporos, que sofrerão modificações morfológicas, transformando-se em grão de pólen adulto. O núcleo do pólen sofre mitose, resultando em dois núcleos, um reprodutivo e outro vegetativo. O núcleo reprodutivo originará dois microgametas e o vegetativo formará o tubo polínico (VIDAL; VIDAL, 1995).

A exina, membrana externa do grão de pólen, confere rigidez e apresenta esporos germinativos. A intina, membrana interna, se expande, alonga e se projeta através de um dos esporos da exina, formando o tubo polínico, permitindo assim, que ocorra o processo de fertilização (MELHEM; SALGADO-LABOURIAU, 1973). Para que ocorra o processo de fecundação, é

necessário que o pólen esteja em contato com o estigma, para que haja a sua germinação.

O período de formação do tubo polínico é controlado por substâncias naturais de crescimento, as quais incluem tanto promotores quanto inibidores (CARVALHO, 1983). O processo de emissão do tubo polínico inicia-se através do estímulo de componentes químicos, como água destilada, ácido bórico, ácido nítrico, nitrato de cálcio, sulfato de magnésio, sacarose e nitrato de potássio (KWACK; BREWBAKER, 1963; PFAHLER, 1967). Em testes que envolvem a emissão do tubo polínico, os meios utilizados podem ser líquidos (CHICHIRICCO; CAIOLA, 1986) ou sólidos (PASQUAL; PETRI; MATTOS, 1982; RASEIRA, 1992).

Fatores ambientais podem interferir na viabilidade polínica. Quando a abertura da antera coincide com elevada umidade do ar, a alta pressão osmótica do conteúdo celular do grão de pólen, aliada à baixa resistência de sua parede diminuem a viabilidade polínica (SOUSA, 1994).

As cultivares utilizadas no melhoramento genético devem produzir pólen viável, em quantidade e qualidade, para garantir a produção de sementes viáveis (NEVES; MACHADO; OLIVEIRA, 1997). Para Franzon e Raseira (2006), é fundamental que o grão de pólen esteja em estágio adequado de maturação, para que mantenha a viabilidade e capacidade de germinação quando for realizada a hibridação.

## **2.4 Componentes do meio de cultura**

Estudos têm sido conduzidos com a finalidade de determinar qualitativa e quantitativamente os componentes necessários para compor o meio de cultura adequado para germinação de grãos de pólen (BARBOSA et al., 1991; NUNES et al., 2001; PIO, 2003).

O meio de cultura deve ser constituído basicamente por carboidratos e elementos estimulantes como ácido bórico, ácido cítrico, nitrato de cálcio, e reguladores de crescimento, dentre outros (PIO, 2003).

Segundo Miranda e Clement (1990), para a germinação de grãos de pólen, os principais componentes do meio de cultura têm sido diferentes tipos e concentrações de açúcares e distintas concentrações de boro.

A sacarose utilizada no meio de cultura proporciona o equilíbrio osmótico entre o grão de pólen e o meio de germinação e fornece energia para auxiliar o processo de desenvolvimento do tubo polínico (STANLEY; LINSKENS, 1974). A sua adição como fonte de carboidratos visa suprir as necessidades metabólicas dos explantes, participando na geração de energia ou como fonte de esqueletos carbônicos para os processos biossintéticos implicados na diferenciação celular. Maior porcentagem de germinação com a elevação da concentração de sacarose pode ser explicada pela maior disponibilidade de energia na forma de carboidrato (CHAGAS et al., 2010).

Segundo Askin et al. (1990 citado por CHAGAS et al., 2010), o boro, na presença de sacarose, forma o complexo ionizável sacarose-borato, o qual reage mais rapidamente com as membranas celulares, facilitando o desenvolvimento *in vitro*.

O emprego de cálcio e boro é importante para promover a germinação e alongamento do tubo polínico (KWACK; BREWBAKER, 1963; SAHAR; SPIEGEL, 1980).

O ágar é utilizado para solidificar o meio de cultura. As concentrações e o tipo da espécie frutífera podem propiciar variação na germinação de grãos de pólen. Algumas espécies germinam melhor em meio com maior concentração de ágar (FREITAS et al., 2006), enquanto outras, necessitam de quantidades menores (CHAGAS et al., 2006).

O pH é também fator importante do meio de cultura. Além de influenciar na disponibilidade de nutrientes e fitorreguladores, o pH interfere no grau de solidificação do ágar (PASQUAL et al., 2002).

Segundo Pierik (1987 citado por CHAGAS et al., 2009), o pH que proporciona um crescimento adequado da maioria das espécies, situa-se na faixa de 5 a 6,5. Valores acima desses podem ocasionar uma paralisação do crescimento e desenvolvimento *in vitro* (MURASHIGE, 1974 citado por CHAGAS et al., 2009).

## 2.5 Germinação de grão de pólen

A integridade de membranas determina o potencial de emissão e formação do tubo polínico do grão de pólen fresco ou armazenado por um curto período (HOEKSTRA; WALL, 1988; SHIVANNA; HESLOP-HARRISON, 1981). Temperaturas próximas a 25°C são satisfatórias para o início da emissão do tubo polínico (CHAGAS et al., 2010; EBADI et al., 1995).

A temperatura e a alta umidade podem ocasionar aumento na pressão osmótica e baixa resistência na parede celular, causando assim o rompimento ou eclosão dos grãos de pólen, impedindo-os de germinar (PIO et al., 2004).

Fator importante que influencia a germinação dos grãos de pólen é o tempo necessário para sua germinação. O conhecimento do início da emissão do tubo polínico e de sua estabilização em trabalhos de palinologia é de grande importância, pois permite determinar o tempo ideal para avaliação dos testes de viabilidade após a inoculação, o que proporciona melhor qualidade das polinizações controladas (CHAGAS et al., 2009). Kwack e Brewbaker (1963) observaram que o início da emissão do tubo polínico em várias espécies é, na maioria das vezes, muito rápido.

O manejo do grão de pólen, ou seja, o período de coleta e a posição dos botões florais na copa podem influenciar a germinação, sendo que variações na germinação podem, ainda, ocorrer em polens coletados dentro de uma mesma espécie (SOUSA, 1988).

Baixa taxa de germinação e o pouco crescimento do tubo polínico podem ser atribuídos a diversos fatores, como o próprio meio de cultura ou a uma excessiva hidratação apresentada pelos grãos de pólen (SOARES et al., 2011).

Soares et al. (2008), se referem à técnica de germinação *in vitro* como aquela que apresenta resultados mais próximos aos que, provavelmente, ocorrem *in vivo* e, por isso, é importante tê-la bem ajustada para cada espécie em estudo.

Na germinação de grãos de pólen *in vitro* são considerados germinados os grãos de pólen cujo comprimento do tubo polínico possua o dobro do seu próprio diâmetro.

### 3 MATERIAL E MÉTODOS

Os experimentos foram desenvolvidos entre agosto de 2011 a março de 2012, utilizando-se plantas de dois anos de idade de amoreira-preta (*Rubus* spp.) estabelecidas no setor de Fruticultura da Universidade Federal de Lavras, Lavras - MG (clima tipo Cwa, segundo a classificação climática de Köppen). Esse município situa-se a 21°14'06" de latitude Sul e 45°00'00" de latitude Oeste, a uma altitude média de 918 metros (DANTAS; CARVALHO; FERREIRA, 2007). As cultivares utilizadas para a realização do presente trabalho foram: 'Brazos', 'Caingangue', 'Cherokee', 'Choctaw', 'Comanche', 'Guarani', 'Tupy' e 'Ébano', sendo esta última ausente de acúleos.

Os experimentos realizados neste trabalho foram:

- 1) caracterização floral, que incluiu a avaliação de estames, carpelos, sépalas e pétalas;
- 2) quantificação do número de grãos de pólen por antera e por flor;
- 3) estabelecimento do meio de cultura, no qual foram avaliados diferentes concentrações de componentes químicos (ágar, pH, sacarose, ácido bórico e nitrato de cálcio) e diferentes tempos de emissão do tubo polínico;
- 4) determinação da taxa de germinação dos grãos de pólen;
- 5) determinação da porcentagem de frutificação;
- 6) carpometria, que incluiu a avaliação da massa e dimensões dos frutos; quantidade, massa e dimensões dos drupetes, além da quantidade de sementes presentes nos frutos;
- 7) emergência de plântulas.

Para a caracterização floral (experimento 1) foram coletados, aleatoriamente, 10 botões florais (Figura 1A) de cada cultivar, em estágio “balão” no período da manhã e foram transportados para o laboratório de pomologia, situado no pomar didático pertencente ao Departamento de Agricultura da Universidade Federal de Lavras, em placas de Petri fechadas. Com auxílio de uma pinça, foi realizada a contagem do número de estames, de carpelos, pétalas (Figura 1B) e sépalas. Cada botão floral representou uma repetição, totalizando dez repetições. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado, sendo os tratamentos compostos pelas oito cultivares.

Para a contagem do número de grãos de pólen por antera e por flor (experimento 2), foram coletados 10 botões florais de cada cultivar, em estágio “balão” no período da manhã e foram transportados para o laboratório de pomologia, em placas de Petri fechadas. Retirou-se, de cada botão floral, 15 anteras de forma aleatória, por intermédio de uma pinça. Os conjuntos de anteras foram armazenados em tubos *Eppendorf* destampados, à temperatura ambiente por 12 horas na ausência de luz, para que ocorresse a antese, completa deiscência e liberação do polínia, segundo a metodologia de Ramos et al. (2008). Após a deiscência, foi adicionada aos tubos uma solução de 1.000  $\mu$ l de ácido láctico, mantendo-os nas mesmas condições ambientais. Após 48 horas, com auxílio de uma pipeta automática, uma amostra da solução (10  $\mu$ l), com os grãos de pólen liberados, foi depositada sobre uma lâmina de leitura (Neubauer), para que se realizasse a contagem de grãos de pólen, com auxílio de microscópio óptico (100x) (PIO et al., 2005).

O experimento foi conduzido com dez repetições, sendo cada repetição (tubo *Eppendorf*) constituída por quatro leituras na lâmina de Neubauer. Foi realizado o cálculo da quantidade de grãos de pólen em cada antera multiplicando-se a média do número de grãos de pólen encontrado em cada tubo *Eppendorf* pelo volume do ácido láctico da solução (1.000  $\mu$ l) e dividindo esse

valor pelo produto entre o volume de ácido láctico da amostra (10  $\mu$ l) e o número de anteras de cada tubo (15). O número de grãos de pólen produzidos por flor foi calculado pela multiplicação da estimativa média de grãos de pólen por antera pelo número médio de anteras por flor, sendo também conduzido com dez repetições. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado, sendo os tratamentos compostos pelas oito cultivares estudadas.

Para a determinação da composição do meio de cultura (experimento 3) visando à maximização da germinação dos grãos de pólen da amoreira-preta, utilizou-se o polínio dos botões florais da cultivar 'Comanche', devido ao seu florescimento ter sido precoce em relação às demais.

Abaixo estão listados os testes realizados para o estabelecimento do meio de cultura. Para cada teste, 120 botões florais da cultivar Comanche foram coletados no período da manhã e foram transportados para o laboratório de pomologia, em placas de Petri fechadas, para que todas as anteras fossem retiradas, por intermédio de uma pinça e, posteriormente, fossem armazenadas em placas de Petri destampadas à temperatura ambiente por 12 horas na ausência de luz, para que ocorresse a antese, completa deiscência e liberação do polínio, segundo metodologia de Ramos et al. (2008).

O polínio da cultivar Comanche foi utilizado para a instalação dos seguintes testes:

- a) concentrações de ágar (4, 6, 8 e 10g L<sup>-1</sup>) X pH do meio (3,5; 4,5; 5,5 e 6,5);
- b) concentrações de sacarose (0, 30, 60, 90g L<sup>-1</sup>);
- c) concentrações de nitrato de cálcio (0, 200, 400, 800mg L<sup>-1</sup>) X concentrações de ácido bórico (0, 400, 800, 1200mg L<sup>-1</sup>);
- d) tempo de emissão do tubo polínico: 0, 1, 2, 3, 4, 5 e 6 horas após inoculação.

Esses testes foram instalados de forma sequencial, ou seja, a concentração dos componentes químicos que propiciaram a melhor germinação dos grãos de pólen no primeiro teste era utilizada nos próximos testes, e assim sucessivamente.

O meio foi incubado em laboratório, sob condições controladas (temperatura média de 27°C), segundo metodologia de Chagas et al. (2010).

Para cada teste, o polínio da cultivar Comanche foi distribuído, por intermédio de um pincel, sobre a superfície das placas de Petri contendo 20 mL de meio de cultura, de modo a promover uma distribuição homogênea. Após aproximadamente 4 horas de incubação, com exceção para o teste de diferentes tempos de emissão do tubo polínico, foram contados, com auxílio de lupa monocular com objetivo de 10x, os grãos de pólen germinados ou não. Foram considerados germinados os grãos de pólen cujo comprimento do tubo polínico ultrapassou o dobro do próprio diâmetro (CHAGAS et al., 2010) (Figura 1C). Esses testes foram conduzidos com quatro repetições, sendo cada repetição composta por um quadrante da placa de Petri. Cada repetição foi constituída por cinco campos de visão observados através da lupa monocular. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado.

Após estabelecer o meio de cultura específico, assim como o tempo de emissão do tubo polínico de grãos de pólen para a amoreira-preta, os polínios de cada cultivar estudada foram submetidos em cultura *in vitro*, distribuídos, por intermédio de um pincel, sobre a superfície das placas de Petri contendo 20 mL de meio de cultura, de modo a promover uma distribuição homogênea, para a avaliação das taxas de germinação de grãos de pólen (experimento 4), seguindo a metodologia de quantificação de grãos de pólen germinados (CHAGAS et al., 2010). Esse experimento foi conduzido com quatro repetições, sendo cada repetição composta por um quadrante da placa de Petri. Cada repetição foi constituída por cinco campos de visão observados através da lupa monocular. O

delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado e os tratamentos compostos pelas oito cultivares.

Durante o período de floração foram marcados, com um pedaço de lã colorida, 40 botões florais de cada cultivar, divididos em quatro repetições, para posterior cálculo da porcentagem de frutificação (experimento 5) (Figura 1D). Com a frutificação dos frutos, o cálculo da porcentagem foi realizado dividindo-se o número de frutos fixados pelo número de botões marcados, sendo o resultado multiplicado por 100. O delineamento utilizado foi o inteiramente casualizado e os tratamentos compostos pelas oito cultivares.

Para o cálculo da carpometria (experimento 6) das cultivares, foram colhidos, aleatoriamente, 20 frutos maduros de cada cultivar (Figura 1E), divididos em quatro repetições para a determinação da massa fresca dos frutos, através de balança de precisão de 0,001 g; mensuração das dimensões dos frutos, obtidos com paquímetro digital, sendo as medidas efetuadas no terço médio do fruto; contagem do número de drupetes, a partir do esboroamento dos frutos manualmente, conforme relatado por Perkins-Veazie et al. (1993); além do cálculo da massa e mensurações das dimensões dos drupetes, obtidos com paquímetro digital; e contagem do número de sementes presentes nos frutos. Foi utilizado o delineamento inteiramente casualizado e os tratamentos compostos pelas oito cultivares.

Posteriormente, foram separadas 120 sementes de cada cultivar, divididas em quatro repetições e foram semeadas em bandejas de poliestireno expandido de 128 células, preenchidas com substrato à base de casca de pinus (Tropstrato HA hortaliças). As bandejas foram mantidas dentro de uma estufa plástica (temperatura média de 25°C) e irrigadas diariamente com auxílio de um borrifador. Passados 120 dias foi realizada a contagem de plântulas emergidas (Figura 1F) e em seguida calculada a porcentagem de emergência (experimento

7). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado e os tratamentos compostos pelas oito cultivares.

Os dados foram submetidos à análise de variância, sendo as médias qualitativas avaliadas pelo teste de comparação de médias *Scott & Knott* e os dados quantitativos submetidos à regressão linear ou quadrática, a nível de 5% de probabilidade. As análises foram realizadas pelo Programa Computacional Sistema para Análise de Variância – SISVAR (FERREIRA, 2011).

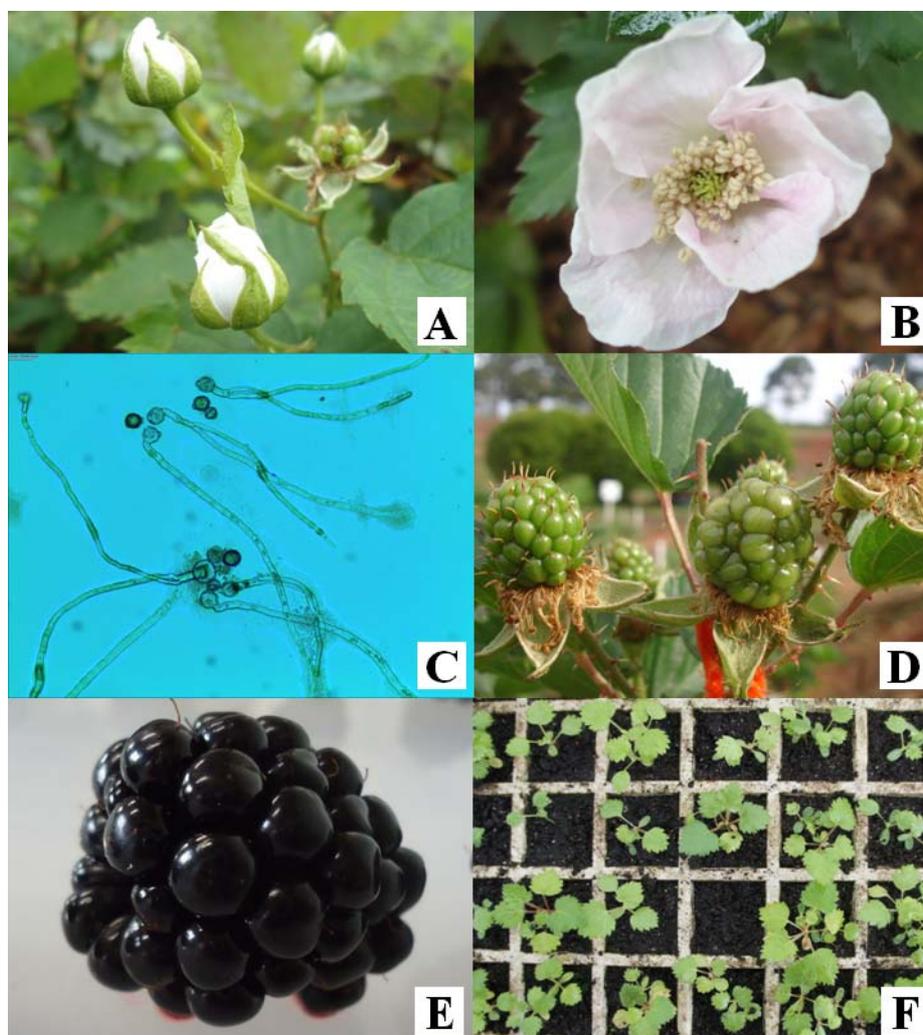


Figura 1 Botões florais (A), detalhe de pétalas, estames e carpelos da flor (B), grãos de pólen germinados *in vitro* (C), frutificação de frutos (D), fruto maduro (E) e emergência de plântulas (F) de cultivares de amoreira-preta. UFLA, Lavras, MG. 2013

#### 4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

Quanto à caracterização floral das cultivares de amoreira-preta, o número de pétalas da cultivar Caingangue foi superior em relação as demais, que não diferiram entre si. Essa cultivar apresentou aproximadamente 12 pétalas por flor, enquanto as demais apresentaram somente cinco pétalas (Tabela 1). Já para o número de sépalas, não houve diferença significativa entre as cultivares de amoreira-preta estudadas, sendo observadas, aproximadamente, cinco sépalas nas flores amostradas. Acredita-se que isso seja uma característica genética da espécie, assim como o número de pétalas.

A cultivar Brazos possui maior número de estames em comparação as demais cultivares estudadas, com valor aproximado de 181 estames, 67 estames a mais em comparação a 'Tupy' que registrou o menor número de estames por flor, igualmente à 'Caingangue', 'Ébano' e 'Guarani' (Tabela 1). As cultivares Brazos e Choctaw, cujos valores de carpelos foram os mais altos, apresentaram aproximadamente o dobro do valor da cultivar Cherokee, que obteve 75,9 carpelos, sendo a cultivar com menor quantidade de carpelos contidos nas flores, juntamente com as cultivares Caingangue, Comanche e Tupy.

O número de estames é variável entre cultivares de amoreira-preta, conforme relatado por Stanton et al. (2007) e até mesmo entre cultivares de outras *Rosaceae*s, como relatou Albuquerque Júnior et al. (2010) em macieira. Segundo Clark e Finn (2011), as flores de amoreira-preta apresentam vários carpelos, sendo que o número destes também é variável entre diferentes genótipos de amoreira-preta, como relatou Strik, Mann e Finn (1996).

Tabela 1 Valores médios de número de pétalas (NP), número de sépalas (NS), número de estames (NE) e número de carpelos (NC) de flores de diferentes cultivares de amoreira-preta. UFLA, Lavras, MG. 2013

| Cultivar   | NP<br>(unidade) | NS<br>(unidade) | NE<br>(unidade) | NC<br>(unidade) |
|------------|-----------------|-----------------|-----------------|-----------------|
| Brazos     | 5,20 b          | 5,10 a          | 181,20 a        | 159,20 a        |
| Caingangue | 11,50 a         | 5,20 a          | 123,60 c        | 93,00 c         |
| Cherokee   | 5,50 b          | 5,00 a          | 152,50 b        | 75,90 c         |
| Choctaw    | 4,80 b          | 4,90 a          | 151,90 b        | 143,90 a        |
| Comanche   | 5,40 b          | 5,40 a          | 148,50 b        | 96,90 c         |
| Ébano      | 5,20 b          | 5,00 a          | 134,70 c        | 117,90 b        |
| Guarani    | 5,20 b          | 5,20 a          | 137,10 c        | 112,00 b        |
| Tupy       | 5,50 b          | 5,20 a          | 114,40 c        | 90,50 c         |
| CV (%)     | 21,23           | 10,02           | 15,18           | 20,41           |

As médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem, estatisticamente entre si, ao nível de 5% de significância, pelo teste de *Scott & Knott*.

A maior quantidade de grãos de pólen por antera foi encontrada nas cultivares Caingangue, Choctaw e Guarani, enquanto a ‘Ébano’ e ‘Tupy’ apresentaram menores quantidades (Tabela 2). Em relação à quantidade de grãos de pólen por flor, as cultivares Brazos, Choctaw e Guarani foram superiores às demais.

Provavelmente, a cultivar Brazos apresentou um número superior de grãos de pólen na flor devido ao elevado número de estames, e, conseqüentemente anteras, presentes em suas flores (Tabela 1). Já a cultivar Caingangue não obteve um número tão considerável de grãos de pólen devido ao baixo número de estames presentes em suas flores (Tabela 1), apesar do número de grãos de pólen contido na antera ser um dos maiores observados.

Mello Júnior, Orth e Moretto (2011) ressaltam que nem sempre o maior número de anteras é indicativo de maior quantidade de grãos de pólen por flor. Essa afirmação é concomitante ao ocorrido, no atual estudo, com a cultivar

Guarani, que registrou baixo número de estames e alta quantidade de grãos de pólen por flor.

As cultivares Ébano e Tupy, também apresentaram um baixo conteúdo de grãos de pólen em suas flores, provavelmente devido ao baixo número de grãos de pólen observados na antera (Tabela 2) e ao número inferior de estames encontrados em suas flores (Tabela 1).

Tabela 2 Valores médios de número de polens por antera e número de polens por flor de diferentes cultivares de amoreira-preta. UFLA, Lavras, MG. 2013

| Cultivar   | Nº de polens/antera | Nº de polens/flor |
|------------|---------------------|-------------------|
| Brazos     | 113,96 b            | 20.626,60 a       |
| Caingangue | 128,46 a            | 15.928,70 b       |
| Cherokee   | 108,88 b            | 16.657,90 b       |
| Choctaw    | 142,88 a            | 21.717,20 a       |
| Comanche   | 103,00 b            | 15.350,70 b       |
| Ébano      | 76,79 c             | 10.366,90 c       |
| Guarani    | 138,21 a            | 18.934,50 a       |
| Tupy       | 83,42 c             | 9.509,40 c        |
| CV (%)     | 28,21               | 27,43             |

As médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem, estatisticamente entre si, ao nível de 5% de significância, pelo teste de *Scott & Knott*.

Quanto aos experimentos realizados para estabelecer o meio de cultura adequado à germinação dos grãos de pólen, houve um aumento linear na porcentagem de germinação à medida que se elevou o pH do meio. Com o maior pH testado (6,5), a maior germinação (25,97%) ocorreu na presença de 8g L<sup>-1</sup> de ágar e a menor (17,09%), na concentração de 4g L<sup>-1</sup> de ágar, devido provavelmente à alta inconsistência do meio, o que pode ter acarretado condições anaeróbicas, dificultando assim a germinação (Figura 2).

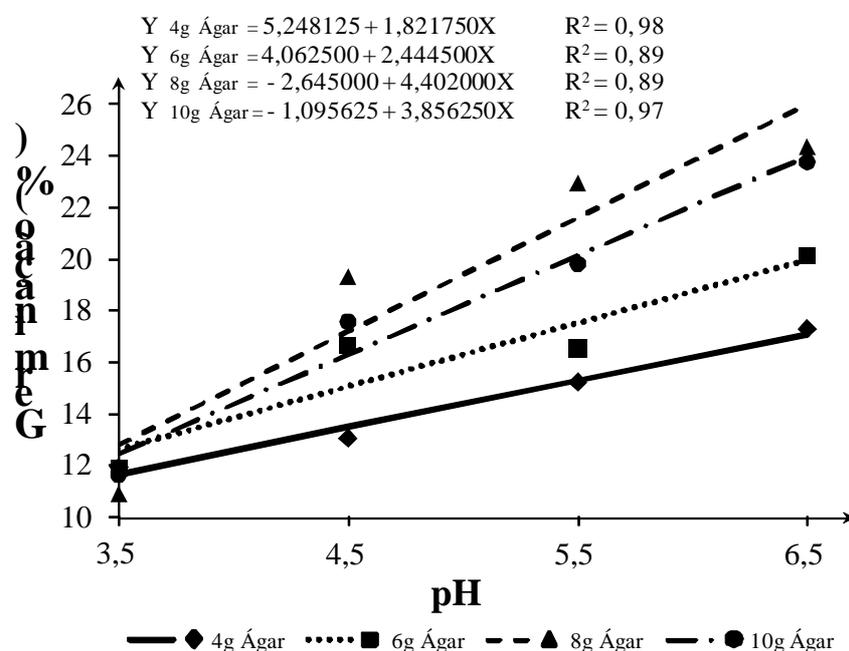


Figura 2 Porcentagem de germinação *in vitro* de grãos de pólen da amoreira-preta 'Comanche' quando submetidos a diferentes pH e concentrações de ágar ( $\text{g L}^{-1}$ ) no meio de cultura. UFLA, Lavras, MG. 2013

Resultados semelhantes foram constatados para variedades de citros, obtendo-se elevada porcentagem de grãos de pólen germinados com o aumento do pH no meio de cultivo (RAMOS et al., 2008). A menor porcentagem de germinação obtida com  $10\text{g L}^{-1}$  de ágar, pode ser explicada pelo fato da adição de maior concentração de ágar ter tornado o meio de cultura demasiadamente consistente, dificultando a absorção de água pelos grãos de pólen (Figura 2). Segundo Stanley e Linskens (1974), o agente solidificante propicia umidade relativa constante e condições aeróbicas adequadas para uma boa germinação polínica. Chagas et al. (2009) conseguiram bons resultados de grãos de pólen de pessegueiro (*Prunus persica*) germinados utilizando  $8\text{g L}^{-1}$  de ágar.

Com a adição crescente das concentrações de sacarose testadas ao meio de cultura, a porcentagem de grãos de pólen germinados aumentou proporcionalmente. Na concentração de 90 g L<sup>-1</sup> de sacarose, foi obtida uma germinação de 29,94% de grãos de pólen (Figura 3).

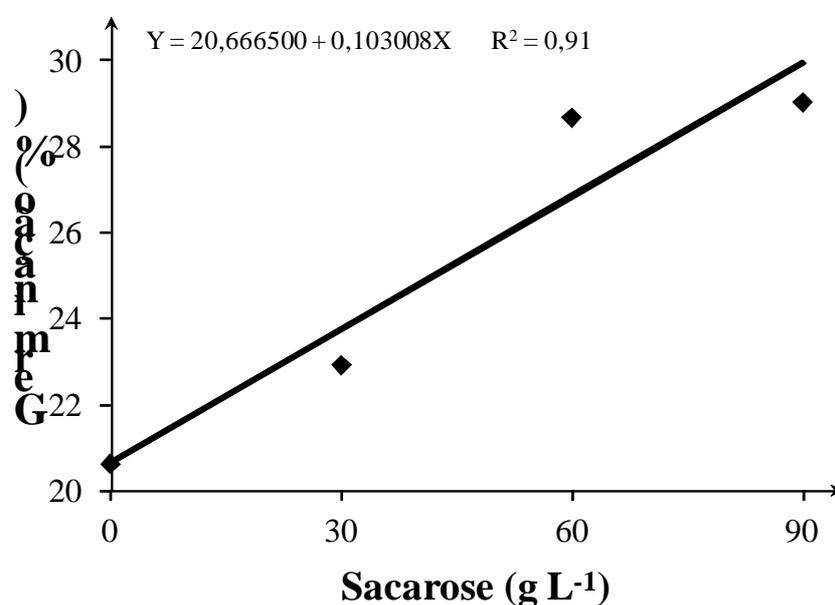


Figura 3 Porcentagem de germinação *in vitro* de grãos de pólen da amoreira-preta 'Comanche' quando submetidos a diferentes concentrações de sacarose (g L<sup>-1</sup>) no meio de cultura. UFLA, Lavras, MG. 2013

Aumento linear na porcentagem de germinação dos grãos de pólen à medida que se elevou a concentração de sacarose também foi constatado por Chagas et al. (2010) e Xie et al. (2004), ambos trabalhos realizados com pereira (*Pyrus* spp.). O benefício da adição de sacarose na germinação de grãos de pólen deve estar relacionado ao equilíbrio osmótico da solução, além do maior

fornecimento de energia necessária para o crescimento do tubo polínico (STANLEY; LINSKENS, 1974).

Testando diferentes concentrações de ácido bórico e nitrato de cálcio adicionadas ao meio de cultura, observou-se que na ausência de nitrato de cálcio, houve a maior porcentagem de germinação de grãos de pólen (33,31%) da amoreira-preta (Figura 4).

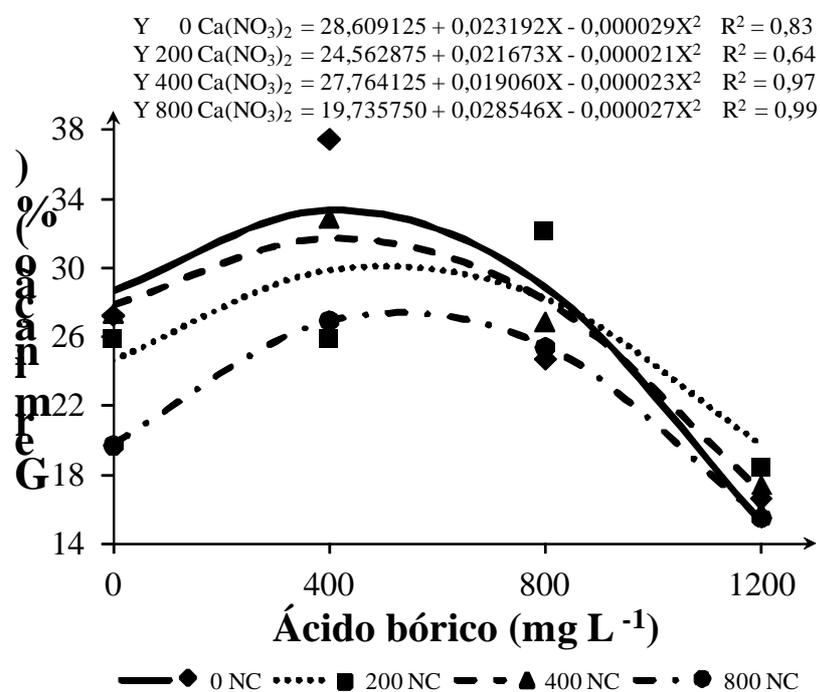


Figura 4 Porcentagem de germinação *in vitro* de grãos de pólen da amoreira-preta 'Comanche' quando submetidos a diferentes concentrações de ácido bórico (mg L<sup>-1</sup>) e nitrato de cálcio (NC) (mg L<sup>-1</sup>) no meio de cultura. UFLA, Lavras, MG. 2013

Apesar de o cálcio propiciar menor sensibilidade a variações do meio básico, menor permeabilidade, crescimento linear e aparência rígida do tubo

polínico (BHOJWANI; BHATNAGAR, 1974), esse nutriente não foi essencial para a germinação de grãos de pólen de amoreira-preta. A maior germinação foi obtida na presença de  $400 \text{ mg L}^{-1}$  de ácido bórico adicionados ao meio, sendo essa a concentração estabelecida para compor o meio de cultura e dar continuidade aos próximos experimentos (Figura 4).

O boro na presença de sacarose forma o complexo ionizável sacarose-borato, o qual, segundo Askin et al. (1990 citado por CHAGAS et al., 2010), reage mais rapidamente com as membranas celulares, facilitando o desenvolvimento *in vitro*. A adição de boro também foi benéfica na germinação dos grãos de pólen dos porta-enxertos de pereira testados por Chagas et al. (2010). O boro estimula o crescimento do tubo polínico e diminui a probabilidade desses se romperem (FRAZON; RASEIRA, 2006), então acredita-se que, neste trabalho, apenas a presença do boro foi satisfatória para a germinação de grãos pólen.

Para o teste de tempo de incubação, a porcentagem máxima de germinação (52,50%) foi observada com cinco horas de incubação, havendo em seguida, uma estabilização na porcentagem de grãos de pólen germinados (Figura 5).

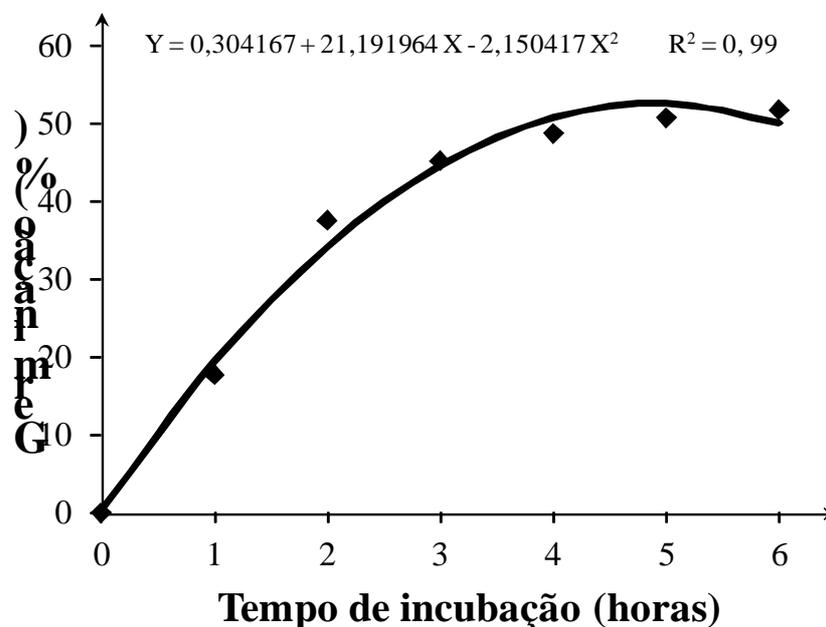


Figura 5 Porcentagem de germinação *in vitro* de grãos de pólen da amoreira-preta 'Comanche' quando submetidos a diferentes tempos de incubação (horas). UFLA, Lavras, MG. 2013

Chagas et al. (2010) também verificaram uma estabilização na germinação de grãos de pólen para a cultivar Taiwan Nashi-C após um determinado período de incubação, para duas cultivares de pereira estudadas. Os autores constataram que a germinação teve início após uma hora da inoculação dos grãos de pólen, o que também ocorreu no presente trabalho.

Observou-se que a germinação dos grãos de pólen no meio de cultura estabelecido, neste trabalho, diferiu entre as cultivares de amoreiras-pretas estudadas. As maiores porcentagens de germinação foram observadas com as cultivares Brazos e Comanche (49,01 e 51,51 %, respectivamente) (Tabela 3).

Tabela 3 Porcentagem de germinação de grãos de pólen de diferentes cultivares de amoreira-preta. UFLA, Lavras, MG. 2013

| Cultivar   | Germinação de grãos de pólen (%) |
|------------|----------------------------------|
| Brazos     | 49,01 a                          |
| Caingangue | 28,70 c                          |
| Cherokee   | 40,89 b                          |
| Choctaw    | 41,25 b                          |
| Comanche   | 51,51 a                          |
| Ébano      | 26,58 c                          |
| Guarani    | 43,87 b                          |
| Tupy       | 27,75 c                          |
| CV (%)     | 10,85                            |

As médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem, estatisticamente entre si, ao nível de 5% de significância, pelo teste de *Scott & Knott*

As cultivares Cherokee, Choctaw e Guarani apresentaram germinação média, com porcentagens de 40,89; 41,25 e 43,87, respectivamente, sendo ainda superiores à germinação das cultivares Caingangue, Ébano e Tupy (Tabela 3). Essa diferença de germinação dos grãos de pólen entre as cultivares pode ter sido obtida devido à variabilidade genética entre as cultivares estudadas, corroborando com os resultados observados por Chagas et al. (2009, 2010).

Cultivares que produzem maiores quantidades de grãos de pólen por antera e por flor podem facilitar a polinização pelos agentes polinizadores, aumentando o número de drupetes e assim a massa fresca do fruto, já que, flores polinizadas por abelhas, geram frutos com maiores quantidades de drupetes, quando comparadas à autopolinização (CANE, 2005). As flores e grãos de pólen são bem adaptados para insetos, particularmente para a polinização das abelhas (CLARK; FINN, 2011). Mello Júnior, Orth e Moretto (2011) verificaram que flores polinizadas por abelhas fixaram quatro vezes mais drupetes, em

comparação a flores que foram autopolinizadas. Além do mais, é desejado que a cultivar apresente alta germinação de seus grãos de pólen.

Entretanto, para amoreira-preta, no atual trabalho, essa relação foi apenas observada com a cultivar Brazos, que apresentou a maior quantidade de carpelos e de estames, de grãos de pólen por flor e ainda a maior germinação de seus grãos de pólen, quando comparada às demais cultivares (Tabelas 1, 2 e 3). Para essa cultivar, registraram-se frutos com maior massa e, conseqüentemente, maior dimensão, que não se diferiu da cultivar Guarani (Tabela 4). Campagnolo e Pio (2012b) também registraram frutos de maior massa para essas cultivares, além da cultivar Tupy. Segundo Clark e Finn (2011), a massa ideal do fruto para usos ao natural no mercado é de 8 a 10 g, assim, pode-se afirmar que essas duas cultivares podem ser comercializadas ao natural, agregando-se valor aos seus frutos.

‘Brazos’ e ‘Guarani’ também apresentaram o maior número de drupetes, juntamente com a ‘Choctaw’. Strik, Mann e Finn (1996) registraram 86,3 drupetes nos frutos da ‘Choctaw’, número próximo ao encontrado neste trabalho (81,0) para esta mesma cultivar. Era esperado que a cultivar Choctaw apresentasse frutos com maior quantidade de drupetes, uma vez que apresentou maior número de carpelos quando comparado às demais cultivares (Tabela 1). Entretanto, verificou-se que os drupetes dessa cultivar foram os de menor massa e dimensões (Tabela 4), o que refletiu em frutos de menor massa. Por outro lado, a cultivar Ébano apresentou drupetes com maior massa e dimensões, no entanto, frutos com menor massa, devido ao menor número de drupetes por fruto (Tabela 4).

Tabela 4 Porcentagem de frutificação (PF), valores médios de massa do fruto (MF), comprimento do fruto (CF), diâmetro do fruto (DF), número de drupetes (ND), massa de drupetes (MD), comprimento de drupetes (CD), diâmetro de drupetes (DD), número de sementes de frutos (NS), e porcentagem de emergência (PE) de plântulas de diferentes cultivares de amoreira-preta. UFLA, Lavras, MG. 2013

| Cultivar* | PF (%)  | MF (g) | CF (mm) | DF (mm) | ND (unid.) | MD (g) | CD (mm) | DD (mm) | NS (unid.) | PE (%)  |
|-----------|---------|--------|---------|---------|------------|--------|---------|---------|------------|---------|
| A         | 92,50 a | 9,26 a | 29,25 a | 23,42 a | 86,20 a    | 0,11 b | 5,13 b  | 4,52 b  | 88,05 a    | 76,66 a |
| B         | 87,50 a | 4,83 d | 20,69 c | 20,14 b | 48,55 c    | 0,10 b | 5,06 b  | 4,51 b  | 53,55 d    | 22,50 b |
| C         | 90,00 a | 4,76 d | 21,89 c | 19,84 b | 51,15 c    | 0,10 b | 5,24 b  | 4,71 b  | 48,75 d    | 19,17 b |
| D         | 95,00 a | 5,87 c | 22,49 c | 21,19 b | 81,00 a    | 0,07 c | 4,48 c  | 4,07 c  | 84,65 a    | 3,33 c  |
| E         | 92,50 a | 5,38 c | 23,02 c | 20,25 b | 50,55 c    | 0,11 b | 5,34 b  | 4,73 b  | 40,75 e    | 4,17 c  |
| F         | 90,00 a | 5,28 c | 21,35 c | 22,58 a | 31,05 d    | 0,17 a | 6,58 a  | 5,99 a  | 38,39 e    | 12,50 b |
| G         | 95,00 a | 8,52 a | 28,73 a | 23,66 a | 75,80 a    | 0,11 b | 5,22 b  | 4,75 b  | 75,35 b    | 67,50 a |
| H         | 92,50 a | 7,56 b | 25,90 b | 22,03 a | 62,15 b    | 0,12 b | 5,29 b  | 4,85 b  | 63,75 c    | 20,00 b |
| CV (%)    | 10,66   | 9,54   | 5,20    | 5,77    | 8,39       | 9,76   | 6,06    | 5,97    | 10,86      | 28,29   |

As médias seguidas da mesma letra nas colunas não diferem, estatisticamente entre si, ao nível de 5% de significância, pelo teste de *Scott & Knott*.

\* A: Brazos; B: Caingangue; C: Cherokee; D: Choctaw; E: Comanche; F: Ébano; G: Guarani; H: Tupy.

Percebe-se variação no número de drupetes entre as diferentes cultivares estudadas, corroborando com os resultados observados por Perkins-Veazie et al. (1993) que também trabalharam com diferentes cultivares de amoreira-preta.

Para a cultivar 'Ébano', o comprimento do fruto também apresentou o menor valor e seu diâmetro se mostrou um dos maiores. Inclusive o único que se apresentou maior que o comprimento, concluindo assim, que o fruto dessa cultivar é um pouco mais arredondado que os das demais cultivares, cujos comprimentos foram maiores que o diâmetro. Percebeu-se que os frutos da cultivar Brazos eram grandes e apresentavam aproximadamente o dobro da massa dos frutos da cultivar Cherokee.

A maior quantidade de sementes foi observada nos frutos das cultivares Brazos e Choctaw (Tabela 3). Apesar da cultivar Guarani não ser

estatisticamente igual às cultivares Brazos e Choctaw, ela apresentou um número alto de sementes por fruto, o que indica que essas características, provavelmente se relacionam com o número de drupetes. A quantidade de sementes dos frutos das cultivares Comanche e Ébano foi, aproximadamente, duas vezes menor que a encontrada nas cultivares que apresentaram maior número de sementes.

Apesar do número de sementes encontrado nos frutos de cada cultivar estudada ser bastante distinto, o número de sementes por drupete, para todas as cultivares, foi de aproximadamente um. Clark e Finn (2011) e Poling (1996 citado por ANTUNES, 2002) confirmam esse resultado, afirmando existir uma pequena semente em cada drupete do fruto agregado de amoreiras-pretas.

As porcentagens de frutificação das cultivares, não diferiram entre si estatisticamente, sendo que os valores variaram de 87,5% a 95%. Percebe-se que esses valores são altos, e que provavelmente pode acarretar uma produção uniforme.

As cultivares Brazos e Guarani apresentaram maior emergência de plântulas (76,66 % e 67,50 %, respectivamente), quando comparadas às demais cultivares (Tabela 3). Esses resultados são importantes para programas de melhoramento genético visando selecionar cultivares de amoreira-preta para regiões subtropicais, uma vez que Antunes et al. (2000) verificaram que essas duas cultivares produzem maiores quantidades de frutos nessas condições climáticas. Sendo assim, progenitores aptos a serem utilizados nas hibridações controladas. Além do mais são cultivares que apresentam boa capacidade rizogênica de suas estacas, fator importante visando à multiplicação varietal (CAMPAGNOLO; PIO, 2012a).

## 5 CONCLUSÕES

As leituras da porcentagem de germinação devem ser realizadas após cinco horas de incubação e para a germinação de grãos de pólen de amoreira-preta, o meio de cultura deve ser acrescido de  $90 \text{ g L}^{-1}$  de sacarose e  $400 \text{ mg L}^{-1}$  de ácido bórico, sendo o pH aferido para 6,5 e o meio solidificado com  $8 \text{ g L}^{-1}$  de ágar.

A cultivar de amoreira-preta 'Brazos' se destaca em relação às características florais e carpométricas, bem como a germinação de grãos de pólen e emergência de plântulas.

## REFERÊNCIAS

- ALBUQUERQUE JÚNIOR, C. L. et al. Número de anteras por flor, grãos de pólen por antera e capacidade germinativa do pólen de diferentes cultivares de macieiras. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 4, p. 1255-1260, 2010.
- ALICE, L. A. Evolutionary relationships in *Rubus* (Rosaceae) based on molecular data. **Acta Horticulturae**, Leuven, v. 585, p. 79-83, 2002.
- ALI, L. et al. Late season harvest and storage of *Rubus* berries - Major antioxidant and sugar Levels. **Scientia Horticulturae**, Amsterdam, v. 129, n. 3, p. 376-381, 2011.
- ANTUNES, L. E. C. Amora-preta: nova opção de cultivo no Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 1, p. 151-158, 2002.
- ANTUNES, L. E. C. et al. Fenologia e produção de variedades de amora-preta nas condições do planalto de Poços de Caldas – MG. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 22, n. 1, p. 89-95, 2000.
- ANTUNES, L. E. C. et al. Produção extemporânea de amora-preta. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 3, p. 430-434, 2006.
- ANTUNES, L. E. C.; RESEIRA, M. C. B. **Aspectos técnicos da cultura da amora-preta**. Pelotas: Embrapa – CPACT, 2004. 54 p. (Documentos, 122).
- ANTUNES, L. E. C.; TREVISAN, R.; PEREIRA, I. S. Produção de amora-preta. In: SEMINÁRIO BRASILEIRO SOBRE PEQUENAS FRUTAS, 4., 2007, Vacaria. **Anais...** Bento Gonçalves: Embrapa Uva e Vinho, 2007. v. 1, p. 65-71.

ANUÁRIO BRASILEIRO DA FRUTICULTURA. Santa Cruz do Sul: Gazeta, 2012. 128 p.

ATTILIO, L. B.; BOLIANI, M. A. C.; TARCITANO, M. A. A. Custo de produção de amora-preta em região tropical. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 31, n. 4, p. 1042-1047, 2009.

BARBOSA, W. et al. Polinização das frutíferas de caroço, ameixeira, nectarineira e pessegueiro. **O Agrônomo**, Campinas, v. 43, n. 1, p. 3-13, 1991.

BASSOLS, M. C. M.; MOORE, J. N. 'Ébano' primeira cultivar de amoreira-preta sem espinhos lançada no Brasil. Pelotas: Embrapa UEPAE de Cascata, 1981a. 16 p. (Documento 2).

BASSOLS, M. C. M.; MOORE, J. N. 'Ébano' thornless blackberry. **Hortscience**, Duke Street, v. 16, n. 5, p. 686-687, 1981b.

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

BROETTO, D. et al. Cultivo orgânico de amora-preta cv. Xavante em Guarapuava - PR. **Revista Brasileira de Agroecologia**, Cruz Alta, v. 4, n. 2, p. 2208-2212, 2009.

CAMPAGNOLO, M. A.; PIO, R. Enraizamento de estacas caulinares e radiculares de cultivares de amoreira-preta coletadas em diferentes épocas, armazenadas a frio e tratadas com AIB. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 2, p. 232-237, 2012a.

CAMPAGNOLO, M. A.; PIO, R. Phenological and yield performance of black and redberry cultivars in western Paraná State. **Acta Scientiarum Agronomy**, Maringá, v. 34, n. 4, p. 439-444, 2012b.

CAMPAGNOLO, M. A.; PIO, R. Produção da amoreira-preta 'Tupy' sob diferentes épocas de poda. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 2, p. 225-231, 2012 c.

CANE, J. H. Pollination potencial of the Bee *Osmia aglaia* for cultivated red raspberries and blackberries (*Rubus: Rosaceae*). **HortScience**, Duke Street, v. 40, n. 6, p. 1705-1708, 2005.

CARVALHO, N. M. **Sementes: ciência, tecnologia e produção**. Campinas: Fundação Cargill, 1983. 23 p. (Circular, 23).

CHAGAS, E. A. et al. Ajuste da concentração de ágar e sacarose para germinação *in vitro* de grãos de pólen de nectarina. In: CONGRESSO DE PÓS-GRADUANDOS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS, 15., 2006, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2006. 1 CD ROM.

CHAGAS, E. A. et al. Germinação *in vitro* de grãos de pólen de *Prunus persica* (L.) Batsch *vulgaris*. **Bioscience Journal**, Uberlândia, v. 25, n. 5, p. 8-14, 2009.

CHAGAS, E. A. et al. Composição do meio de cultura e condições ambientais para germinação de grãos de pólen de porta-enxertos de pereira. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 40, n. 2, p. 261-266, 2010.

CHICHIRICCO, G.; CAIOLA, M. G. *Crocus sativus* pollen germination and pollen tube growth *in vitro* and after intraspecific and interspecific pollination. **Canadian Journal Botany**, Ottawa, v. 64, n. 11, p. 2774-2777, 1986.

CLARK, J. R. et al. 'Prime-Jan' ('APF-8') and 'Prime-Jim' ('APF-12') primocane-fruited blackberries. **HortScience**, Alexandria, v. 40, n. 3, p. 852-855, 2005.

CLARK, J. R.; FINN, C. E. Blackberry breeding and genetics. **Fruit, Vegetable and Cereal Science and Biotechnology**, Kagawa, v. 5, n. 1, p. 27-43, 2011.

CLARK, J. R. Primocane-fruiting blackberry breeding. **HortScience**, Duke Street, v. 46, n. 6, p. 1637-1639, 2008.

CURI, P. N. **Fenologia e produção de cultivares de amoreiras (Rubus spp.) em região de clima tropical de altitude com inverno ameno**. 2012. 59 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2012.

DANTAS, A. A. A.; CARVALHO, L. G.; FERREIRA, E. Classificação e tendências climáticas em Lavras, MG. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 1, n. 6, p. 1862-1866, 2007.

EBADI, A. et al. Effects of low temperature near flowering time on ovule development and pollen tube growth in the grapevine (*Vitis vinifera* L.), cvs Chardonnay and Shiraz. **Journal of Grape and Wine Research**, Melbourne, v. 1, n. 1, p. 11-18, 1995.

FACHINELLO, J. C. et al. Situação e perspectivas da fruticultura de clima temperado no Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, p. 109-120, 2011. Especial.

FACCHINELLO, J. C.; HOFFMANN, A.; SANTOS, A. M. Amoreira-preta, framboesa e mirtilo: pequenos frutos para o sul do Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 13., 1994, Salvador. **Anais...** Salvador: Sociedade Brasileira de Fruticultura, 1994. v. 3, p. 989-990.

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

FERREIRA, D. S.; ROSSO, V. V.; MERCADANTE, A. Z. Compostos bioativos presentes em amora-preta (*Rubus* spp.). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 32, n. 3, p. 664-674, 2010.

FRANZON, R. C.; RASEIRA, M. C. B. Germinação in vitro e armazenamento do pólen de *Eugenia involucrata* DC (*MYRTACEAE*). **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 1, p. 18-20, 2006.

FREITAS, D. A. F. et al. Avaliação da germinação in vitro de grãos de pólen de *Pyrus callieriana* Dcne. In: CONGRESSO DE PÓS-GRADUANDOS DA UNIVERSIDADE FEDERAL DE LAVRAS, 15., 2006, Lavras. **Anais...** Lavras: UFLA, 2006. 1 CD ROM.

GONÇALVES, E. D. et al. **Implantação, manejo e pós-colheita da amoreira-preta**. Belo Horizonte: EPAMIG, 2011. 5 p. (Circular Técnica, 140).

HIRSCH, G. E. et al. Caracterização físico-química de variedades de amoreira-preta da região sul do Brasil. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 42, n. 5, p. 942-947, 2012.

HOEKSTRA, F. A.; WALL, V. D. Desiccation tolerance of *Papaver dubium* L. pollen during its development in the anther. **Plant Physiology**, Rockville, v. 88, n. 3, p. 626-632, 1988.

JENNINGS, D. L. Raspberries and blackberries. In: SMARTT, J.; SIMMONDS, N. W. **Evolution of crop plants**. 2nd ed. Essex: Longman, 1995. 531 p.

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

MAAS, J. L.; GALLETTA, G. J.; STONER, G. D. Ellagic acid, an anticarcinogen in fruits, especially in strawberry: a review. **HortScience**, Duke Street, v. 26, n. 1, p. 10-14, 1991.

MAAS, J. L.; WANG, S. Y.; GALLETTA, G. J. Evaluation of strawberry cultivars for ellagic acid content. **HortScience**, Duke Street, v. 26, n. 1, p. 66-68, 1991.

MELHEM, T. S.; SALGADO-LABOURIAU, M. L. Pollen grains of plants of the “Cerrado” V- Leguminosae – Caesolpinodae. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 4, p. 369-387, 1973.

MELLO JÚNIOR, L. J.; ORTH, A. I.; MORETTO, G. Ecologia da polinização da amoreira-preta (*Rubus* sp.) (*Rosaceae*) em Timbó-SC, Brasil. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 33, n. 3, p. 1015-1018, 2011.

MIRANDA, P. A.; CLEMENT, C. R. Germination and storage of pejibaye (*Bactris gasipaes*) palmae pollen. **Revista de Biologia Tropical**, San José, v. 38, n. 1, p. 29-33, 1990.

NEVES, T. S.; MACHADO, G. M. E.; OLIVEIRA, R. P. Efeito de diferentes concentrações de carboidratos e ácido bórico na germinação de grãos de pólen de cubiuzeiro e cupuaçuzeiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, n. 2, v. 19, p. 140-144, 1997.

NUNES, J. C. O. et al. Germinação de pólen *in vitro* e receptividade do estigma em macieira cvs. Fuji e Golden Delicious. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 23, n. 1, p. 35-39, 2001.

NUNES, R. P.; GONSALVES, R. S. (Coord.). **Novas cultivares**. Brasília: EMBRAPA, 1981. 64 p. (Boletim, 8).

OLIVEIRA JÚNIOR, A. F. **Ação do iprodione e cálcio sobre alguns aspectos fisiológicos da germinação de grãos de pólen do pessegueiro diamante (*Prunus persicae* L. Bastch)**. 1999. 58 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 1999.

PASQUAL, M. et al. Cultivo *in vitro* de embriões imaturos de tangerineira ‘Poncã’ em função do pH e da concentração de ágar. **Revista Brasileira de Agrociência**, Pelotas, v. 8, n. 3, p. 199-200, 2002.

PASQUAL, M.; PETRI, J. L.; MATTOS, C. S. Polinização da macieira III. Cultivares BR-I e Mollies Delicious. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, Brasília, v. 17, n. 10, p. 1477-1481, 1982.

PEREIRA, D. A.; BRITO, A. C.; AMARAL, C. L. F. Biologia floral e mecanismos reprodutivos do Mussambê ( *Cleome spinosa* Jacq ) com vistas ao melhoramento genético. **Revista Biotemas**, Florianópolis, v. 20, n. 4, p. 27-34, 2007.

PERKINS-VEAZIE, P. et al. Fruit characteristics of some erect blackberry cultivars. **HortScience**, Duke Street, v. 28, n. 8, p. 853-854, 1993.

PFAHLER, P. L. *In vitro* germination and pollen tube growth of maize (*Zea mays* L.) pollen calcium and boron effects. **Canadian journal of Botany**, Toronto, v. 45, n. 6, p. 839-845, 1967.

PIO, L. A. S. et al. Receptiveness of the stigma and *in vitro* germination of orange pollen, submitted to different temperatures. **Ciência e Agrotecnologia**, Lavras, v. 5, n. 5, p. 1087-1091, 2004.

PIO, L. A. S. **Viabilidade do pólen de citros em diferentes condições de armazenamento**. 2003. 45 p. Dissertação (Mestrado em Agronomia/Fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2003.

PIO, R. et al. Biologia floral de híbridos somáticos e porta-enxertos de citros. **Laranja**, Cordeirópolis, v. 26, n. 1, p. 95-108, 2005.

RAMOS, J. D. et al. Receptividade do estigma e ajuste de protocolo para germinação *in vitro* de grãos de pólen de citros. **Interciência**, Caracas, v. 33, n. 1, p. 51-55, 2008.

RASEIRA, M. C. B.; FRANZON, R. C. Melhoramento genético e cultivares de amora-preta e mirtilo. **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v. 33, n. 268, p. 11-20, 2012.

RASEIRA, M. C. B. Influência da temperatura sobre a germinação do pólen e alongação do tubo polínico em pessegueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 14, n. 1, p. 177-180, 1992.

RASEIRA, M. C. B.; SANTOS, A. M.; BARBIERI, R. L. Classificação botânica, origem e cultivares. In: \_\_\_\_\_. **Aspectos técnicos da cultura da amora-preta**. Pelotas: Embrapa Clima Temperado, 2004. 54 p. (Documentos, 122).

RASEIRA, M. C. B.; SANTOS, A. M.; MADAIL, J. C. M. **Amora-preta: cultivo e utilização**. Pelotas: EMBRAPA-CNPFT, 1984. 20 p. (Circular Técnica, 11).

REITZ, R. **Flora ilustrada catarinense - rosáceas**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1996. 135 p.

SAHAR, N.; SPIEGEL, R. P. Citrus pollen storage. **HortScience**, Duke Street, v. 15, n. 1, p. 81-82, 1980.

SHIVANNA, K. R.; HESLOP-HARRISON, J. The evaluation of pollen quality, and a further appraisal of flourochromatic (FCR) test procedure. **Theoretical and Applied Genetics**, Berlin, v. 67, n. 4, p. 367-375, 1981.

SHOEMAKER, J. A. **Small fruit culture**. Westport: Bramble Fruits, 1978. p. 188-250.

SILVA, M. M. **Influência das abelhas na polinização e de agrotóxicos na germinação de pólen do maracujazeiro (*Passiflora edulis* f. *flavicarpa* Deg.)**. 1996. 59 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1996.

SOARES, T. L. et al. In vitro germination and viability of pollen grains of banana diploids. **Crop Breeding and Applied Biotechnology**, Viçosa, MG, v. 8, p. 111-118, 2008.

SOARES, T. L. et al. Morfologia e viabilidade de grãos de pólen de acessos silvestres de abacaxi. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 10, p. 1744-1749, 2011.

SOUSA, P. J. S. Polinização em maracujazeiro. In: SÃO JOSÉ, A. R. (Ed.). **Maracujá: produção e mercado**. Vitória da Conquista: UESB, 1994. p. 65-70.

SOUSA, V. A. **Manejo e viabilidade do pólen de *Eucalyptus* spp.** 1988. 155 p. Dissertação (Mestrado em Engenharia Florestal) – Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz, Piracicaba, 1988.

STANLEY, R. G.; LINSKENS, H. F. **Pollen: biology, biochemistry and management**. New York: Springer-Verlag, 1974. 307 p.

STANTON, M. A. et al. Floral competence of primocane-fruiting blackberries prime-jan and prime-jim grown at three temperature regimens. **HortScience**, Duke Street, v. 42, n. 3, p. 508-513, 2007.

STRIK, B. C. et al. Worldwide blackberry production. **HortTechnology**, Alexandria, v. 17, n. 2, p. 205-213, 2007.

STRIK, B. C.; MANN, J.; FINN, C. Percent drupelet set varies among blackberry genotypes. **Journal of the American Society for Horticultural Science**, Mount Vernon, v. 121, n. 3, p. 371-373, 1996.

VIDAL, W. N.; VIDAL, M. R. R. **Botânica organografia**. Viçosa, MG: Universidade Federal de Viçosa, 1995. 114 p.

VIZZOTTO, M.; PEREIRA, M. C. Amora-preta (*Rubus sp.*): otimização do processo de extração para determinação de compostos fenólicos antioxidantes. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 33, n. 4, p. 1209-1214, 2011.

XIE, S. et al. Pollen viability of Asian pear and effect of PGR, B and sucrose on germination and pollen tube development. **Journal of Fruit Science**, Ontario, v. 21, n. 4, p. 289-294, 2004.

## ANEXOS

Tabela 5 Resumo da análise de variância (Quadrados Médios) dos dados referentes ao número de pétalas (NP), número de sépalas (NS), número de estames (NE) e número de carpelos (NC) de flores de diferentes cultivares de amoreira-preta. UFLA, Lavras, MG. 2013

| FV              | GL | QM       |        |            |            |
|-----------------|----|----------|--------|------------|------------|
|                 |    | NP       | NS     | NE         | NC         |
| <b>Cultivar</b> | 7  | 49,2267* | 0,2500 | 4224,2410* | 8041,5982* |
| <b>Erro</b>     | 72 | 1,6430   | 0,2638 | 470,8513   | 514,6902   |
| <b>CV (%)</b>   |    | 21,23    | 10,02  | 15,18      | 20,41      |

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 6 Resumo da análise de variância (Quadrados Médios) dos dados referentes ao número de polens por antera e número de polens por flor de diferentes cultivares de amoreira-preta. UFLA, Lavras, MG. 2013

| FV              | GL | QM                  |                   |
|-----------------|----|---------------------|-------------------|
|                 |    | Nº de polens/antera | Nº de polens/flor |
| <b>Cultivar</b> | 7  | 5803,3137*          | 196104676,4410*   |
| <b>Erro</b>     | 72 | 996,9904            | 19595393,9569     |
| <b>CV (%)</b>   |    | 28,21               | 27,43             |

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 7 Resumo da análise de variância (Quadrados Médios) dos dados referentes à porcentagem de germinação *in vitro* de grãos de pólen da amoreira-preta 'Comanche' quando submetidos a diferentes pH e concentrações de ágar ( $\text{g L}^{-1}$ ) no meio de cultura. UFLA, Lavras, MG. 2013

| FV        | GL | QM                           |
|-----------|----|------------------------------|
|           |    | Germinação de grãos de pólen |
| Ágar      | 3  | 77,2640*                     |
| Ph        | 3  | 272,2026*                    |
| Ágar x pH | 9  | 14,4701*                     |
| Erro      | 48 | 3,5907                       |
| CV (%)    |    | 11,12                        |

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 8 Resumo da análise de variância (Quadrados Médios) dos dados referentes à porcentagem de germinação *in vitro* de grãos de pólen da amoreira-preta 'Comanche' quando submetidos a diferentes concentrações de sacarose ( $\text{g L}^{-1}$ ) no meio de cultura. UFLA, Lavras, MG. 2013

| FV       | GL | QM                           |
|----------|----|------------------------------|
|          |    | Germinação de grãos de pólen |
| Sacarose | 3  | 70,1229*                     |
| Erro     | 12 | 2,4797                       |
| CV (%)   |    | 6,22                         |

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 9 Resumo da análise de variância (Quadrados Médios) dos dados referentes à porcentagem de germinação *in vitro* de grãos de pólen da amoreira-preta 'Comanche' quando submetidos a diferentes concentrações de ácido bórico (AC) ( $\text{mg L}^{-1}$ ) e nitrato de cálcio (NC) ( $\text{mg L}^{-1}$ ) no meio de cultura. UFLA, Lavras, MG. 2013

| FV      | GL | QM                           |
|---------|----|------------------------------|
|         |    | Germinação de grãos de pólen |
| AB      | 3  | 548,2897*                    |
| NC      | 3  | 72,2353*                     |
| AB x NC | 9  | 49,3402*                     |
| Erro    | 48 | 5,0949                       |
| CV (%)  |    | 9,02                         |

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 10 Resumo da análise de variância (Quadrados Médios) dos dados referentes à porcentagem de germinação *in vitro* de grãos de pólen da amoreira-preta 'Comanche' quando submetidos a diferentes tempos de incubação (TI) (horas). UFLA, Lavras, MG. 2013

| FV     | GL | QM                           |
|--------|----|------------------------------|
|        |    | Germinação de grãos de pólen |
| TI     | 6  | 1558,1041*                   |
| Erro   | 21 | 4,2148                       |
| CV (%) |    | 5,71                         |

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 11 Resumo da análise de variância (Quadrados Médios) dos dados referentes à porcentagem de germinação de grãos de pólen de diferentes cultivares de amoreira-preta. UFLA, Lavras, MG. 2013

| FV              | GL | QM                           |
|-----------------|----|------------------------------|
|                 |    | Germinação de grãos de pólen |
| <b>Cultivar</b> | 7  | 385,6250*                    |
| <b>Erro</b>     | 24 | 17,6215                      |
| <b>CV (%)</b>   |    | 10,85                        |

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 12 Resumo da análise de variância (Quadrados Médios) dos dados referentes à porcentagem de frutificação (PF), massa do fruto (MF), comprimento do fruto (CF), diâmetro do fruto (DF) e número de sementes de frutos (NS) de diferentes cultivares de amoreira-preta. UFLA, Lavras, MG. 2013

| FV              | GL | QM      |          |          |         |            |
|-----------------|----|---------|----------|----------|---------|------------|
|                 |    | PF      | MF       | CF       | DF      | NS         |
| <b>Cultivar</b> | 7  | 26,7857 | 12,4127* | 45,1402* | 9,0878* | 1501,7335* |
| <b>Erro</b>     | 24 | 95,8333 | 0,3761   | 1,5773   | 1,5568  | 44,8284    |
| <b>CV (%)</b>   |    | 10,66   | 9,54     | 5,20     | 5,77    | 10,86      |

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.

Tabela 13 Resumo da análise de variância (Quadrados Médios) dos dados referentes ao número de drupetes (ND), massa de drupetes (MD), comprimento de drupetes (CD), diâmetro de drupetes (DD) e porcentagem de emergência de plântulas (PE) de diferentes cultivares de amoreira-preta. UFLA, Lavras, MG. 2013

| FV              | GL | QM         |         |         |         |            |
|-----------------|----|------------|---------|---------|---------|------------|
|                 |    | ND         | MD      | CD      | DD      | PE         |
| <b>Cultivar</b> | 7  | 1436,1898* | 0,0031* | 1,3819* | 1,2075* | 3152,7489* |
| <b>Erro</b>     | 24 | 26,0262    | 0,0001  | 0,1029  | 0,0809  | 63,7747    |
| <b>CV (%)</b>   |    | 8,39       | 9,76    | 6,06    | 5,97    | 28,29      |

\* Significativo ao nível de 5% de probabilidade pelo teste F.