

**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM PRODUÇÃO VEGETAL**

**Wily Polliana Antunes Dias**

**EMISSÃO DE INFLORESCÊNCIA, BIOLOGIA REPRODUTIVA E ARMAZENAMENTO DE  
GRÃOS DE PÓLEN EM *BUTIA CAPITATA* (MART.) BECC SOB CONDIÇÕES DE CULTIVO**

**Montes Claros**

**2018**

**Wily Polliana Antunes Dias**

**EMISSÃO DE INFLORESCÊNCIA, BIOLOGIA REPRODUTIVA E ARMAZENAMENTO DE GRÃOS DE PÓLEN EM *BUTIA CAPITATA* (MART.) BECC SOB CONDIÇÕES DE CULTIVO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Produção Vegetal da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para a obtenção do título de Mestre em Produção Vegetal.

**Orientador:** Dr. Paulo Sérgio Nascimento Lopes

**Coorientadora:** Dra. Rúbia Santos Fonseca

**Montes Claros**

**Fevereiro de 2018**

D541e  
2018

Dias, Wlly Polliana Antunes.

Emissão de inflorescência, biologia reprodutiva e armazenamento de grãos de pólen em *Butia capitata* (Mart.) Becc sob condições de cultivo/ Wlly Polliana Antunes Dias. Montes Claros, 2018.  
41 f.: il.

Dissertação (mestrado) – Área de concentração em Produção Vegetal, Universidade Federal de Minas Gerais / Instituto de Ciências Agrárias.

Orientador(a): Paulo Sérgio Nascimento Lopes.  
Banca examinadora: Paulo Sérgio Nascimento Lopes, Rúbia Santos Fonseca, Maria Olívia Mercadante Simões, Islaine Franciely Pinheiro de Azevedo.

Inclui referências: f. 15-18, 38-40

1. Polinização. 2. Sistema reprodutivo. 3. Xenogamia . I. Lopes, Paulo Sérgio Nascimento. II. Universidade Federal de Minas Gerais. Instituto de Ciências Agrárias. III.Título.

CDU: 631.52

**Willy Polliana Antunes Dias**

**EMISSÃO DE INFLORESCÊNCIA, BIOLOGIA REPRODUTIVA E ARMAZENAMENTO DE GRÃOS DE PÓLEN EM *BUTIA CAPITATA* (MART.) BECC SOB CONDIÇÕES DE CULTIVO**

Aprovado pela banca examinadora constituída por:

Profa. Dra. Islaine Franciely Pinheiro de Azevedo

Unimontes

Profa. Dra. Maria Olívia Mercadante Simões

Unimontes

Profa. Dra. Rúbia Santos Fonseca

UFMG

---

Prof. Dr. Paulo Sérgio Nascimento Lopes

(Orientador)

UFMG

Montes Claros, 05 de Fevereiro de 2018

## AGRADECIMENTO

Ao amado Deus, a quem devo todas as minhas vitórias por sempre iluminar minha vida e guiar meu caminho.

À minha mãezinha, Maria Santíssima, por sempre interceder junto ao seu filho Jesus pela minha vida.

Ao meu orientador Prof. Dr. Paulo Sérgio Nascimento Lopes e à minha coorientadora, Profa. Dra. Rubia Santos Fonseca, por todas as orientações, paciência, conhecimentos compartilhados, profissionalismo, responsabilidade e respeito.

Ao corpo docente e aos funcionários do Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, em especial, aos Prof. Dr. Demerson Arruda Sanglard e Profa. Dra. Claudinéia Ferreira Nunes.

A CAPES pela bolsa de Mestrado concedida.

À minha família, namorado e amigos, em especial, a meus amados pais por todo apoio e amor.

Aos meus queridos amigos e colegas do GEFEN e Laboratório de Biotecnologia.

À banca examinadora, pelas sugestões e correções.

A todos que contribuíram para a realização deste trabalho.

**Emissão de inflorescência, biologia reprodutiva e armazenamento de grãos de pólen em  
*Butia capitata* (Mart.) Becc sob condições de cultivo**

**RESUMO GERAL**

O coquinho azedo (*Butia capitata* (Mart.) Becc.) é uma palmeira nativa do cerrado com grande importância econômica e ecológica. Atualmente, o extrativismo, associado ao desmatamento, contribuíram para enquadrar o coquinho azedo na categoria de vulnerável à extinção. Os objetivos do trabalho foram caracterizar a emissão de inflorescências, descrever aspectos da biologia reprodutiva e avaliar o potencial de armazenamento dos grãos de pólen de *Butia capitata* (Mart.) Becc. No primeiro experimento, foi marcada uma folha flecha por indivíduo, uma em maio e outra em novembro de 2016, acompanhado-as até a colheita do cacho na sua axila. No segundo experimento, 15 inflorescências foram avaliadas da abertura até a senescência de cada flor, para a caracterização da biologia floral, observando alterações na sua morfologia. Para avaliação da receptividade estigmática, durante dez dias, as flores de oito indivíduos foram imersas em solução de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 6%, durante 5 minutos. Também, quinze inflorescências foram monitoradas, diariamente, quanto à presença de flores estaminadas e pistiladas em antese, além da ausência de flores em antese. No terceiro experimento, foi avaliada a capacidade de armazenamento dos grãos de pólen os quais foram armazenados por seis meses em três condições: ambiente ( $\pm 25^{\circ}\text{C}$ ), geladeira ( $4^{\circ}\text{C} \pm 2$ ) e freezer ( $-20^{\circ}\text{C} \pm 2$ ). A vitalidade desses grãos foi determinada por meio da germinação *in vitro*. No quarto experimento, foram realizados os testes com o sistema reprodutivo: xenogamia, autopolinização manual, autopolinização espontânea, apomixia e polinização aberta. As folhas marcadas, em novembro de 2016, apresentaram crescimento vegetativo mais rápido, reduzindo o tempo necessário para o aparecimento de espatas na sua axila. Além disso, o número de espatas produzidas por essas folhas foi maior do que as folhas marcadas em maio. Conseqüentemente, a produção de cachos e peso dos frutos também foi maior. A ausência de antese das flores dos dois sexos na inflorescência demonstra que o fluxo de pólen dentro dela é raro, predominando, na espécie, a polinização cruzada. Os grãos de pólen armazenados na geladeira e no freezer apresentaram crescimento do tubo polínico até os 180 dias, diferindo-se, significativamente, dos grãos armazenados em temperatura ambiente, que apresentaram pequena taxa de germinabilidade somente no primeiro mês. A polinização cruzada e a aberta foram superiores aos demais tratamentos. Para a autopolinização espontânea e apomixia, não foram observados fixação de frutos, enquanto à autopolinização artificial, apesar de uma pequena taxa, houve frutificação.

**Palavras-chave:** Polinização. Sistema reprodutivo. Xenogamia.

**Emulsion of inflorescence, reproductive biology and storage of pollen grains in *Butia capitata* (Mart.) Becc under cultivation conditions**

**GENERAL ABSTRACT**

The Coquinho Azedo (*Butia capitata* (Mart.) Becc.) is a palm native of the Cerrado with great economic and ecological importance. Currently, the extractivism, associated with deforestation, has contributed to include the Coquinho Azedo in the category of vulnerable to extinction. The objective of this study was to characterize inflorescence emission, to describe aspects of reproductive biology and to evaluate the storage potential of *Butia capitata* (Mart.) Becc pollen grains. In the first experiment, an arrow leaf was marked per individual, one in May and the other in November 2016 and followed up until the harvest of the bunch in his armpit. In the second, for the characterization of floral biology, fifteen inflorescences were followed and in that period changes in its morphology were observed. To evaluate the stigmatic receptivity, during ten days, the flowers of eight individuals were immersed in 6% hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) solution for 5 minutes. In addition, fifteen inflorescences were monitored daily for the presence of staminate and pistillate flowers in anthesis, in addition to the absence of flowers in anthesis. In the third experiment, the storage capacity of the pollen grains was evaluated. These were stored for six months in three conditions: ambient ( $\pm 25^{\circ}\text{C}$ ), refrigerator ( $4^{\circ}\text{C} \pm 2$ ) and freezer ( $-20^{\circ}\text{C} \pm 2$ ). The vitality of these grains was evaluated by in vitro germination. In the fourth experiment the following tests were performed with the reproductive system: xenogamy, manual self-pollination, spontaneous self-pollination, apomixia and open pollination. The leaves marked in November 2016 showed a vegetative growth faster, reducing the time necessary for the appearance of spaths in his armpit. In addition, the number of spathes produced by these leaves was larger than the leaves marked in May. Consequently, the production of fruit bunches and the weight was also higher. The absence of anthesis of flowers of both sexes in the inflorescence demonstrates that the flow of pollen inside the inflorescence is rare, predominating in the species cross pollination. The pollen grains stored in the refrigerator and in the freezer showed pollen tube growth up to 180 days, differing significantly from grains stored at room temperature, which presented a small germination rate only in the first month. The cross pollination and open pollination were superior to the other treatments. For spontaneous self-pollination and apomixia no fruit fixation was observed, while artificial self-pollination, despite a small rate, resulted in fructification.

**Keywords:** Pollination. Reproductive system. Xenogamy

## SUMÁRIO

<b>RESUMO GERAL</b> .....	6
<b>GENERAL ABSTRACT</b> .....	7
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	9
<b>2 OBJETIVOS</b> .....	10
2.1 Objetivo Geral.....	10
2.2 Objetivos Específicos .....	10
<b>3 REVISÃO DE LITERATURA</b> .....	11
3.1 Coquinho Azedo ( <i>Butia capitata</i> (Mart.) Becc).....	11
3.2 Sistema Reprodutivo de Palmeiras .....	12
3.3 Emissão de folhas e inflorescências .....	12
3.4 Conservação e viabilidade do grão de pólen .....	13
3.5 Referências .....	14
<b>4 ARTIGO</b> .....	18
<b>4.1 Artigo 1. Emissão de inflorescência, biologia reprodutiva e armazenamento de grãos de pólen em <i>Butia capitata</i> (Mart.) Becc sob condições de cultivo</b> .....	18
<b>RESUMO</b> .....	18
<b>ABSTRACT</b> .....	19
<b>1 INTRODUÇÃO</b> .....	20
<b>2 MATERIAL E MÉTODOS</b> .....	21
2.1 Área de estudo e material vegetal.....	21
2.2 Época de emissão de folhas flechas associadas aos estádios fenológicos .....	21
2.3 Biologia floral: Receptividade estigmática e dinâmica de abertura das flores.....	23
2.4 Armazenamento de grãos de pólen .....	23
2.5 Sistema Reprodutivo .....	24
<b>3 RESULTADOS</b> .....	24
3.1 Emissão das folhas flechas associadas aos estádios fenológicos .....	24
3.2 Biologia floral, receptividade estigmática e dinâmica de abertura na inflorescência .....	29
3.3 Armazenamento de grãos de pólen .....	31
3.4 Sistema reprodutivo.....	33
<b>4 DISCUSSÃO</b> .....	33
<b>5 CONCLUSÕES</b> .....	36
<b>6 REFERÊNCIAS</b> .....	37

## 1 INTRODUÇÃO

Pertencente ao grupo das monocotiledôneas a família Arecaceae está entre as plantas mais antigas do planeta, encontradas, principalmente, em regiões tropicais e subtropicais (DRANSFIELD *et al.*, 2008). A família possui cerca de 2.522 a 2.700 espécies distribuídas entre 240-252 gêneros (DRANSFIELD *et al.* 2008; LORENZI *et al.* 2010). As árvores ou arbustos deste grupo geralmente apresentam troncos não ramificados ou que são raramente ramificados, podendo ser rizomatosos. O ápice de seu caule tem frequentemente um meristema apical com taninos e polifenóis e as raízes, de pontas agudas, podem ter expansões do pecíolo. Essas plantas podem apresentar espinhos pelas modificações em seus segmentos foliares com fibras expostas (JUDD *et al.*, 2009).

O padrão de emissão de folhas, na maioria das palmeiras (pleonânticas), está intimamente associado ao surgimento de estruturas reprodutivas, pois estas são originadas nas axilas das folhas. Desta forma, o longo período para desenvolvimento das folhas também está relacionado à diferenciação e formação floral, sendo estas estruturas sujeitas às variações climáticas (ADAM *et al.*, 2011 e NODAT *et al.*, 2016). Portanto o estudo da fenologia da emissão das folhas associado às estruturas reprodutivas permite identificar as sazonalidades de crescimento vegetativo e de produção de frutos, relacionando-as com as condições ambientais.

Poucas são as informações em algumas palmeiras sobre o crescimento da planta associado às suas estruturas reprodutivas, bem como alguns aspectos de sua biologia floral. O conhecimento sobre biologia reprodutiva, envolvendo a fenologia, morfologia, biologia da flor e sistema reprodutivo, é muito importante para adoção de técnicas de manejo e de métodos de melhoramento genético na espécie, contribuindo para a sua domesticação (DAFNI *et al.* 2005, TECHIO *et al.* 2006), como é o caso da polinização controlada.

Dentre os principais determinantes do sucesso da polinização estão o período de receptividade estigmática, que é definido pela capacidade do estigma de garantir a germinação do grão de pólen e o potencial germinativo do grão de pólen (SANZOL e HERRERO 2001, DAFNI *et al.* 2005, FONSECA *et al.* 2015). Esses fatores estão associados com o período de antese da flor (SCHOEN e ASHMAN 1995). A caracterização do período de abertura das flores, em conjunto com a viabilidade polínica, fornecem pistas importantes das estratégias do sistema reprodutivo e do tipo de polinização. Além disso, contribuem para interpretação das análises de fluxo gênico e em programas de melhoramento genético de plantas (MARTINS *et al.* 1981; BOTTO, 1997).

*Butia capitata* (Mart.) Becc., conhecida popularmente como coquinho azedo, é uma espécie monoica, pertencente à família Arecaceae, endêmica do bioma Cerrado e ocorre, preferencialmente, à margem de rios, em solos eutróficos (LORENZI *et al.*, 2010). Atualmente, o elevado extrativismo, associado ao desmatamento, contribuíram para enquadrar a espécie na categoria de vulnerável à extinção, ou seja, enfrenta um risco iminente de aniquilamento na natureza, caso novas ações não sejam tomadas (LEITMAN *et al.*, 2016). Sendo assim, estudos relacionados à essa espécie podem contribuir para o entendimento da biologia reprodutiva de *B. capitata*, bem como o processo de domesticação e melhoramento genético da espécie.

## 2 OBJETIVOS

### 2.1 Objetivo Geral

Caracterizar a relação entre a emissão de folhas e a produção de inflorescências e frutos, assim como descrever aspectos da biologia reprodutiva e avaliar o potencial de armazenamento dos grãos de pólen de *Butia capitata* (Mart.) Becc.

### 2.2 Objetivos Específicos

- Compreender a relação da emissão de folhas flechas com a produção de inflorescências.
- Descrever as diferentes fenofases de floração e a receptividade estgmática, além de testar diferentes métodos de polinização controlada.
- Verificar o potencial de armazenamento dos grãos de pólen em diferentes condições.

### 3 REVISÃO DE LITERATURA

#### 3.1 Coquinho azedo (*Butia capitata* (Mart.) Becc)

Dentre as espécies brasileiras, com grande potencial alimentar, está o coquinho-azedo (*Butia capitata* (Mart.) Becc.). *B. capitata* é uma palmeira monoica (com flores estaminadas e pistiladas em um mesmo indivíduo) endêmica dos cerrados da Bahia, Goiás e Minas Gerais (LEITMAN *et al.* 2016), que produz frutos bastante atrativos para a fauna nativa e para os seres humanos. Além do sabor e aroma agradáveis, esses frutos são importantes fontes de vitaminas e nutrientes, destacando-se as pró-vitamina A, vitamina C e o potássio (FARIA *et al.* 2008, FARIA *et al.* 2011, LOPES *et al.* 2012).

Essa espécie apresenta, no norte de Minas Gerais, grandes populações, com os indivíduos reprodutivos de, aproximadamente, 1,1 m de altura (MERCADANTE-SIMÕES *et al.*, 2006). Nessas populações, a floração ocorre entre março e setembro, e os frutos maduros estão disponíveis entre junho e janeiro (LIMA *et al.*, 2010).

As inflorescências são similares às de outras espécies de Arecaceae, sendo essas do tipo panícula conhecidas também como cacho, formadas por um pedúnculo (ráquis), espigas (ráquias) e pelas flores que ficam protegidas pelas brácteas nas quais se abrem naturalmente (SILVA, 1998; LIMA *et al.*, 2003). Os indivíduos de *B. capitata* produzem, em média, 2,4 inflorescências por planta com, aproximadamente, 89,65 ráquias e 117,86 flores estaminadas e 5,78 flores pistiladas por ráquila (MERCADANTE-SIMÕES *et al.* 2006). As flores possuem coloração amarelada e são unissexuadas, em uma mesma ráquila e apresentam, no terço inicial da ráquila, flores pistiladas e, no restante, predominam flores estaminadas (MARTINS, 2003; FONSECA, 2006). Conforme Fonseca e Simões (2005), as flores femininas quase sempre são ladeadas por um par de flores masculinas. Na ráquila, em sua base, ocorrem as flores pistiladas, que são ladeadas por duas estaminadas, enquanto o ápice apresenta apenas flores estaminadas (FONSECA e SIMÕES, 2005; FONSECA 2006).

O *Butia capitata* possui caule típico de palmeiras, denominado estipe, que pode chegar a até 4 metros de altura, resistente, com medula central (esponjosa), envolvida por um anel de proteção, fibroso, que se encontra junto ao tecido vascular, constituído pelo xilema e pelo floema, pois não possui câmbio. Em sua região apical, possui um broto, conhecido como gema apical, no qual se forma um meristema envolto por bainhas de folhas (ALVES e DEMATTE, 1987; SILVA, 1998). As suas folhas são do tipo pinadas e arqueadas de coloração verde-acinzentada, distribuídas no topo do caule de maneira espiralada, com folíolos compridos, estreitos, lanceolados e alternos. Caracteriza-se com bainha e pecíolo indistintos, com margens providas de fibras achatadas (LORENZI *et al.*, 2004).

O fruto é uma drupa oval e comestível, formado por epicarpo de cor amarela, mesocarpo carnoso e bastante fibroso e endocarpo duro e denso, contendo três poros, sendo funcional apenas a quantidade de poros semelhantes à quantidade de sementes. Um fruto pode conter de uma a três sementes (REITZ, 1974; SILVA 1998; MARTINS, 2003; MARCATO e PIRANI 2006).

No coquinho azedo, a polinização cruzada, realizada por insetos, é o mecanismo mais importante para a reprodução, sendo a geitonogamia uma forma ocasional (FONSECA *et al.*, 2005). Existe a

possibilidade de autopolinização, em função da ocorrência de flores estaminadas e pistiladas, em antese em inflorescências distintas de um mesmo indivíduo, entretanto ainda é necessário mais estudos acerca desta questão.

### 3.2 Sistema Reprodutivo de Palmeiras

Informações sobre os órgãos reprodutivos das plantas são fundamentais para subsidiar estudos de conservação, notadamente, sobre a sua morfologia e estrutura (SOUZA *et al.*, 2003). A compreensão das características de morfologia e biologia reprodutiva é imprescindível para o entendimento do sucesso reprodutivo das espécies vegetais (Lenzi e Orth 2004).

A família botânica *Arecaceae* é a terceira mais importante economicamente, ficando atrás apenas da *Poaceae* e *Fabaceae* (JANICK; PAULL, 2006). Ainda são incipientes as pesquisas sobre a biologia reprodutiva de algumas espécies de palmeiras e muitas delas apresentam grande importância econômica e ecológica (OROZCO-SEGOVIA *et al.*, 2003). Os sistemas reprodutivos nas plantas podem se relacionar tanto com a polinização quanto com a expressão sexual, no espaço e no tempo e, ainda, com sistemas de acasalamento (BARRETT, 2010, 2013).

As palmeiras do gênero *Butia* são monoicas, de folhas pinadas, estipe singelo, de estatura baixa, média ou, às vezes, aparentemente acaule (REITZ, 1974). Apresentam flores unissexuadas, que, segundo Abreu (2001), é uma característica predominante nas palmeiras que se mantêm arrançadas em tríades; na parte central, encontram-se as femininas e as duas laterais masculinas (HENDERSON *et al.*, 1995). Possuem a espádice longa e forte, quase do mesmo tamanho que a espata, ramificando-se ao longo do eixo (REITZ, 1974).

Em *B. capitata* foi observada dicogamia do tipo protandria, pois a antese das flores masculinas ocorre antes da maturação das flores femininas. A baixa ocorrência de sincronia entre essas fenofases, em uma mesma planta, contribui para uma polinização xenogâmica nesta espécie (MERCADANTE-SIMÕES *et al.*, 2006). Rosa *et al.* (1998) sugerem, ainda, que a abertura gradual das flores de *Butia capitata* var. *odorata* pode prolongar o tempo durante o qual os recursos ficam disponíveis para os polinizadores.

A maturação das flores, em diferentes épocas, pode estar relacionada com entomofilia e anemofilia (ABREU, 2001). De acordo com Fonseca *et al.* (2005), em *Butia capitata*, a polinização cruzada é o mecanismo mais importante, para a reprodução da espécie, visto que foi observado maior sucesso da polinização cruzada em relação à autopolinização, com a ocorrência da geitonogamia de forma ocasional. Em *Butia odorata* (Barb.Rodr.) Noblick, observou-se, adicionalmente, que há alterações em diversas características de interesse comercial dos frutos, quando são usadas diferentes fontes do pólen (ELOY, 2013).

### 3.3 Emissão de folhas e inflorescências

A emissão de folhas pode ser controlada pela idade e vigor da planta, pela cultivar ou pelas condições climáticas disponíveis no ambiente (PERSLEY, 1992). O número de folhas emitidas se

relaciona diretamente ao crescimento e à produção do coqueiro (*Cocos nucifera*), assim como é o caso do coquinho azedo, dado que, na axila de cada folha emitida, existe um primórdio floral que se modificará em inflorescência a qual pode não ocorrer em condições de estresse ambiental. Dessa forma, a produção de folhas é um dos referenciais para se avaliar o potencial de produção das cultivares (SILVA *et al.*, 2004).

Dentro de uma espécie, a porcentagem de flores que forma frutos pode variar entre populações, entre os indivíduos na mesma população e entre os anos (STEPHENSON, 1981) e é nessa fase de desenvolvimento o período crítico em que ocorre o aborto de flores e frutos verdes (BAWA e WEBB, 1984). Variações nas características fenológicas de populações naturais podem ser decorrentes da heterogeneidade dos fatores ambientais, diferenças entre genótipo ou plasticidade fenotípica (RATHCKE e LACEY, 1985).

Conhecer a fenologia de palmeiras, definindo a época de oferta desses produtos, contribui para o manejo e conservação das espécies envolvidas (ROSA *et al.*, 1998, SILVA MATOS e WATIKNSON, 1998; MANTOVANI e MORELLATO, 2000). Henderson *et al.* (2000) relacionaram índice pluviométrico com o período de floração de diversas espécies de palmeiras. O gênero *Bactris* floresceu, durante a estação chuvosa, enquanto as palmeiras *Hyospathe elegans* e *Geonoma máxima* var. *spixiana* floresceram na estação seca. Para *Euterpe oleracea*, os picos de floração e frutificação ocorreram, nas estações chuvosas e secas, respectivamente (JARDIM e KAGEYAMA, 1994).

No Norte do Estado de Minas Gerais, em uma região de transição dos domínios do Cerrado e da Caatinga, Rodrigues *et al.*, (2008) observaram que as fenofases da macaúba se manifestam, no decorrer de todo o ano e o maior índice de flores ocorre no mês de novembro. O período de floração tem início, na estação chuvosa, entre os meses de outubro e novembro. A formação e amadurecimento dos frutos da macaúba ocorrem durante vários meses, dessa forma, é comum a presença de indivíduos com frutos em diferentes estádios de desenvolvimento. De acordo com esses autores, a intensidade de frutos imaturos esteve correlacionada, positivamente, com a precipitação.

Para o *Euterpe edulis* Mart., o início da floração verifica-se, no final do período seco ou de menor precipitação, ocorrendo o pico no mês de outubro ou novembro, quando predominam maiores índices pluviométricos (FISCH *et al.*, 2000). Em populações de *B. capitata*, a floração acontece entre março e setembro e os frutos maduros estão disponíveis entre junho e janeiro (LIMA *et al.*, 2010).

### **3.4 Conservação e viabilidade do grão de pólen**

O armazenamento, como meio de conservação da viabilidade do pólen, é uma ferramenta importante empregada por melhoristas e geneticistas, justificando-se em programas de hibridação, quando há defasagem no florescimento entre as espécies de interesse ou quando elas se encontram em regiões distintas (PIO *et al.*, 2007). Estudos sobre conservação e viabilidade de grãos de pólen em palmeiras têm recebido atenção especial pela produção de híbridos, os quais são realizados em grãos de pólen frescos ou conservados sob baixas temperaturas (OLIVEIRA *et al.*, 2001; SOUSA *et al.*, 2010). A umidade, temperatura de armazenamento, a genética e a fisiologia são os principais fatores que podem afetar a viabilidade do pólen armazenado (GANESHAN *et al.*, 2008). A maioria dos métodos

empregados envolve a diminuição do teor de água e a manutenção do pólen à baixa temperatura, de modo que diminua a atividade metabólica (ALVIM, 2008).

Para muitas culturas agrícolas, é possível armazenar os grãos de pólen, mantendo a sua viabilidade por longos períodos de tempo (HANNA e TOWILL, 1995). Um dos fatores que mais interfere no sucesso do armazenamento é o conteúdo de água do grão (FRANCHI *et al.*, 2002), já que pode ocorrer a formação de cristais, durante o congelamento, o que torna o pólen inviável (DAFNI *et al.*, 2005). A fim de reverter esse fato, em muitas espécies, é realizada a desidratação do pólen previamente ao congelamento (DAFNI *et al.*, 2005). No entanto, para outras espécies, incluindo algumas palmeiras, a viabilidade é mantida em congelamento sem desidratação (BRUCKNER *et al.*, 2000; MORTAZAVI *et al.*, 2010; BRITO, 2013).

### 3.5 Referências

- ABREU, S. A. B. **Biologia reprodutiva de *Mauritia flexuosa* L. (Arecaceae) em vereda no município de Uberlândia-MG**. 2001. 87 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação dos Recursos Naturais) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2001.
- ADAM, H.; COLLIN, M.; RICHAUD, F.; BEULÉ, T.; CROS, D.; OMORÉ, A.; NODICHAO, L.; NOUY, B.; TREGGAR, J.W. Environmental regulation of sex determination in oil palm: current knowledge and insights from other species. **Annals of Botany**, v. 108, p. 1529-1537, 2011.
- ALVES, M. R. P.; DEMATTE, C. **Palmeiras: características botânicas e evolução**. Campinas: Fundação Cargill, 1987. 129 p.
- ALVIM, P. O. **Viabilidade e conservação de grãos de pólen de milho**. 2008. 54 f. Dissertação (Mestrado em fitotecnia) – Universidade Federal de Lavras, Lavras, 2008.
- BARRETT S. C. H. Understanding plant reproductive diversity. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B. Biological sciences*, v. 365, p. 99–109, 2010.
- BARRETT S. C. H. The evolution of plant reproductive systems: how often are transitions irreversible? *Proceedings of the Royal Society B Biological Sciences*, v. 280, n. 1765, 2013.
- BAWA, K. S.; WEBB, C. J. Flower, fruit and seed abortion in tropical forest trees: implications for the evolution of paternal and maternal reproductive patterns. **American Journal of Botany**, v. 71, p. 736-75, 1984.
- BOTTO, V. O. Cruzamiento interspecíficos en *Eucalyptus* spp. In: ACTAS DEL XI CONGRESO FORESTAL MUNDIAL, 1997, Antalya, Turquía. Anais... Antalya, Turquía, 1997. Disponível em < [http://www.fao.org/forestry/docrep/wfcxi/publi/v8/es/v8s\\_e5.htm](http://www.fao.org/forestry/docrep/wfcxi/publi/v8/es/v8s_e5.htm) >. Acesso em: 21 jan. 2018.
- BRITO, A. C. **Biologia reprodutiva de macaúba: floração, polinizadores, frutificação e conservação de pólen**. 2013. 47p. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.
- BRUCKNER, C. H.; SILVA, M. M.; FALLEIRO, T. M.; ANDRADE, B. B.; MOREIRA, A. E. Viabilidade do pólen de maracujazeiro sob diferentes condições de armazenamento. **Ceres**, v. 47, p. 523-531, 2000.
- DAFNI, A.; FIRMAGE, D. Pollen viability and longevity: practical, ecological and evolutionary implications. **Plant Systematics and Evolution**, v. 222, p. 113-132, 2000.
- DAFNI, A.; PACINI, E.; NEPI, M. Pollen and stigma biology. In: DAFNI, A.; KEVAN, P.G.; HUSBAND, B. C. (Eds.) **Practical Pollination Biology**. Cambridge: Enviroquest, 2005. p. 83-142.

DRANSFIELD, J.; UHL, N. W.; ASMUSSEN, C. B.; BAKER, W. J.; HALEY, M. M.; LEWIS, C. E. **Genera Palmarum: the evolution and classification of palms**. Londres: Kew Publishing; Royal Botanical Gardens, 2008. 744 p.

ELOY, J. **Polinização, produção e qualidade de Butiá (*Butia odorata* Barb. Rodr.) Noblick&Lorenzi**. 2013. 61 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2013.

FARIA, J. P.; SIQUEIRA, E. M. A.; VIEIRA, R. F.; AGOSTINI-COSTA, T. S. Fruitsof *Butia capitata* (Mart.) Becc as goodsourcesof  $\beta$ -caroteneand provitamina. **Revista Brasileira de Fruticultura**, nesp., p. 612-617, 2011.

FARIA, J. P. F.; ALMEIDA, F.; SILVA, L. C. R.; VIEIRA, R. F. V.; AGOSTINI-COSTA, T. S. Caracterização da polpa de *Butia capitata*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, p. 820-822, 2008.

FISCH, S. T. V; NOGUEIRA J. R, L. R; MANTOVANI, W. Fenologia reprodutiva de *Euterpe edulis* Mart. na mata atlântica (reserva ecológica do trabiju, Pindamonhangaba – SP). **Revista Biociências**, v.9, p. 31-37, 2000.

FONSECA, R. S.; SIMÕES, M. O. M. Biologia Reprodutiva de *Butia capitata* (Mart.) no norte de Minas Gerais. In: CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL, 7., 2005, Caxambu. [Anais eletrônicos...] Caxambu: Sociedade de ecologia do Brasil, 2005. Disponível em:<<http://www.ib.usp.br/viiceb/organizacao.html>> Acesso em: 18 jan. 2018.

FONSECA, R. S. **Biologia reprodutiva e morfo-anatomia das flores de *Butia capitata* (Mart.) Becc. em uma área de cerrado no norte de Minas Gerais**. 2006. 54 f. Monografia (Graduação em Ciências Biológicas) – ICB, UNIMONTES, Montes Claros, 2006.

FONSECA, R. S.; SANTOS, F. A.; VIEIRA, M. F. Is the pollination efficiency of long-lived orchid flowers affected by age. **Revista Ceres**, v. 62, p. 347-350, 2015.

FRANCHI, G. G.; NEPI, M.; DAFNI, A.; PACINI, E. Partially hydrated pollen: taxonomic distribution, ecological and evolution ary significance. **Plant Systematics and Evolution**, v. 234, p. 211-227, 2002.

GALLETTA, G. J. Pollenand seed management. In: MOORE, J.N.; JANICK, J. (Eds.). **Methods in fruitsbreeding**. Indiana: Purdue University Press,1983. p. 23-47.

GANESHAN, S.; RAJASEKHARAN, P. E.; SHASHIKUMAR, S.; DECRUZE, W. Cryopreservationofpollen. In: REED, B. M. (Ed.). **Plantcryo preservation: a practicalguide**. New York: Springer, 2008. p. 443-447.

HANNA, W. W.; TOWILL, L. E. Long-Term Pollen Storage. **Plant Breeding Review**, v. 13, p. 179-207, 1995.

HENDERSON, A.; FISCHER, B.; SCARIOT, A.; PACHECO, M. A. W.; PARDINI, R. Flowering phenology of a palm community in a central Amazon Forest. **Brittonia**, v. 52, p. 149-159, 2000.

HENDERSON, A.; GALEANO, G.; BERNAL, R. **Field guide to the palms of the Americas**. Princeton; New Jersey: Princeton University Press, 1995. 252p.

JANICK, J.; PAULL, R.E. **The Encyclopedia of fruit & nuts**. Cambridge: Cambridge University, 2006. 160 p.

JARDIM, M. A. G.; KAGEYAMA, P. Y. Fenologia de floração e frutificação em população natural de açazeiro (*Euterpe oleracea* Mart.) no Estuário Amazônico. **Instituto de Pesquisa e Estudos Florestais**, v. 47, p. 62-65, 1994.

JUDD, W. S., CAMPBELL, C. S., KELLOGG, E. A., STEVENS, P. F., DONOGHUE, M. J. **Sistemática Vegetal: um enfoque filogenético**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009

- LEITMAN, P.; SOARES, K.; HENDERSON, A.; NOBLICK, L.; MARTINS, R. C. **Arecaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. [Rio de Janeiro]: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB15704>>. Acesso em: 18 jul. 2017.
- LENZI, M.; ORTH, A. I. Fenologia reprodutiva, morfologia e biologia floral de *Schinuseren bithifolius* Raddi (Anacardiaceae), em restinga da Ilha de Santa Catarina, Brasil. **Biotemas**, v. 17, p. 67-89, 2004.
- LIETH, H. Purposes of a phenology book. In: \_\_\_\_\_. **Phenology and seasonality 60 modeling**. Berlim: Springer-Verlag Berlin Heidelberg, 1974. p. 3-19
- LIMA, E. S.; FELFILI, J. M.; MARIMON, B. S.; SCARIOT, A. Diversidade, estrutura e distribuição espacial de palmeiras em um Cerrado sensu strictu no Brasil Central- DF. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, p. 361-370, 2003.
- LIMA, V. V. F.; SILVA, P. A. D.; SCARIOT, A. **Boas práticas de manejo para o extrativismo sustentável do coquinho azedo**. Brasília-DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia. 2010.
- LOPES, R. M.; SILVA, J. P.; VIEIRA, R. F.; SILVA, D. B.; GOMES, I. S.; AGOSTINI-COSTA, T. S. Composição de ácidos graxos em polpa de frutas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, p. 635-640, 2012.
- LORENZI, H.; SOUZA, H. M.; MADEIROS-COSTA, J. T.; CERQUEIRA, L. S. C.; FERREIRA, E. **Palmeiras Brasileiras e Exóticas Cultivadas**. Nova Odessa: Plantarum, 2004.
- LORENZI, H.; NOBLICK, L. R.; KAHN, F.; FERREIRA, E. **Flora brasileira: Arecaceae (Palmeiras)**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2010. 382p.
- MANTOVANI, A.; MORELLATO, L. P. C. Fenologia da floração, frutificação, mudança foliar e aspectos da biologia floral do palmito. **Sellowia**, v. 49-52, p.23- 38, 2000.
- MARCATO, A. C. PIRANI, J. R. Flora de Grão Mogol, Minas Gerais: Palmae (Arecaceae). **Boletim de Botânica Universitária**, v. 24, p. 1-8, 2006.
- MARTINS, M. E.; PRERA, L. E. H.; KAGEYAMA, P. Y. **Manejo de pólen de Pinus para fins de melhoramento genético**. Piracicaba: IPEF, 1981. (Circular Técnica, 18)
- MARTINS, E. R. **Projeto conservação de recursos genéticos de espécies frutíferas nativas do Norte Mineiro: coleta, ecogeografia e etnobotânica**. [Relatório]. Montes Claros: UFMG, 2003. 76 p.
- MERCADANTE-SIMÕES, M. O.; FONSECA, R. S.; RIBEIRO, L. M.; NUNES, Y. R. F. Biologia reprodutiva de *Butia capitata* (Mart.) Beccari (Arecaceae) em uma área de cerrado no norte de Minas Gerais. **Unimontes Científica**, v. 8, p. 143-149, 2006.
- MORTAZAVI, S. M. H.; ARZANI, K.; MOIENI, A. Optimizing Storage and *In vitro* Germination of Date Palm (*Phoenix dactylifera*) pollen. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 12, p. 181-189, 2010.
- NADOT, S.; ALAPETITE, E.; BAKER, W. J.; TREGGAR, J. W.; BARFOD, A. S. The palm family (Arecaceae): a microcosm of sexual system evolution. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 182, p. 376-388, 2016.
- OLIVEIRA, M. do S.; PADILHA, M. M. M.; KALUME, M. A. de A. Viabilidade de pólen in vivo e in vitro em genótipos de açaizeiro. **Acta Botanica Brasílica**, Feira de Santana, v. 15, p. 27-33, 2001.
- OROZCO-SEGOVIA, A.; BATHIS, A. I.; ROJA-ARÉCHIGA, M.; MENDOZA, A. Seed biology of palms: a review. **Palms**, v. 47, p. 79-94, 2003.
- PERSLEY, G. J. **Replanting the tree of life: towards a international agenda for coconut palm research**. Wallinggard: CABI / ACIAR, 1992. 156 p.

- PIO, L. A. S., RAMOS, J. D., PASQUAL, M., JUNQUEIRA, K. P., SANTOS, F. C.; RUFINI, J. C. M. Viabilidade do pólen de laranjas doces em diferentes condições de armazenamento. **Ciência e Agrotecnologia**, v. 31, p. 147-153, 2007.
- RATHCKE, B.; LACEY, E. Phenological patterns of terrestrial plants. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 16, p. 179-214, 1985.
- REITZ, R. Palmeiras. In: \_\_\_\_\_. **Flora ilustrada catarinense**. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 1974.
- RODRIGUES, P. M. S.; NUNES, Y. R. F.; BORGES, G. R. A.; RODRIGUES, D. A.; VELOSO, M. D. A. S.; D. M. Fenologia reprodutiva e vegetativa da *Acrocomia aculeata* (Jacq.) Iodd. Ex Mart. (Arecaceae). In: SIMPÓSIO NACIONAL DO CERRADO, 9.; SIMPÓSIO INTERNACIONAL SAVANAS TROPICAIS, 2., 2008, Brasília. **Anais...** Brasília, 2008.
- ROSA, L.; CASTELLANI, T. T.; REIS, A. Biologia reprodutiva de *Butia capitata* (Martius) Beccarivar.odorata (Palmae) na restinga do município de Laguna, SC. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 21, p. 281-287, 1998.
- SANZOL, J.; HERRERO, M. The "effective pollination period" in fruit trees. **Scientia Horticulturae**, v. 90, p. 1-17, 2001.
- SILVA MATOS, D. M.; WATKINSON, A. R. The fecundity, seed, and seedling ecology of thee diblepalm *Euterpe edulis* in south eas tern Brazil. **Biotropica**, v. 30, p. 595-603, 1998.
- SILVA, M. C.; GAÍVA, H. N.; PEREIRA, W. E.; ARAGÃO, W. M. Crescimento e florescimento de uma cultivar anã e de quatro híbridos intervarietais de coqueiro, na região não-pantanososa de Poconé-MT. **Agropecuária Técnica**, Areia, v. 25, n. 1. p. 13-23, 2004.
- SILVA, S. R. **Plantas do cerrado utilizadas pelas comunidades da região do Grande Sertão Veredas**. Brasília: Fundação Pró-Natureza - FUNATURA, 1998. 109 p.
- SOUSA, V. A.; SCHEMBERG, E. A.; AGUIAR, A. V. Germinação in vitro do pólen de jerivá (*Syagrus romanzoffiana* (S.) Cham). **Scientia Forestalis**, v. 38, n. 86, p.147-151, 2010.
- SOUZA, L. A. *et al.* Morfologia e anatomia da flor de *Pilocarpus pennatifolius* L. em, (Rutaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, p. 175- 184, 2003.
- STEPHENSON, A. G. Flower and fruitabortion: proximate cause sand ultimate functions. **Annual Review of Ecology and Systematics**, v. 12, p. 253- 279, 1981.
- TECHIO, V. H.; DAVIDE, L. C.; PEDROZO, C. A.; PEREIRA, A. V. Viabilidade dos grãos de pólen de acessos de capim-elefante, milheto e híbridos interespecíficos (capimelefante x milheto). **Revista Acta Scientia Biologica**, Maringá, v. 28, p. 7-12, 2006.

## 4 ARTIGO

### 4.1 Artigo 1. Emissão de inflorescência, biologia reprodutiva e armazenamento de grãos de pólen em *Butia capitata* (Mart.) Becc sob condições de cultivo

#### RESUMO

O coquinho azedo (*Butia capitata* (Mart.) Becc.) é uma palmeira nativa do cerrado com grande importância econômica e ecológica. Atualmente, o extrativismo, associado ao desmatamento, contribuíram para enquadrar o coquinho azedo na categoria de vulnerável à extinção. Os objetivos do trabalho foram caracterizar a emissão de inflorescências, descrever aspectos da biologia reprodutiva e avaliar o potencial de armazenamento dos grãos de pólen de *Butia capitata* (Mart.) Becc. No primeiro experimento, foi marcada uma folha flecha por indivíduo, uma em maio e outra em novembro de 2016, acompanhado-as até a colheita do cacho na sua axila. No segundo experimento, 15 inflorescências foram avaliadas da abertura até a senescência de cada flor, para a caracterização da biologia floral, observando alterações na sua morfologia. Para avaliação da receptividade estigmática, durante dez dias, as flores de oito indivíduos foram imersas em solução de peróxido de hidrogênio (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 6%, durante 5 minutos. Também, quinze inflorescências foram monitoradas, diariamente, quanto à presença de flores estaminadas e pistiladas em antese, além da ausência de flores em antese. No terceiro experimento, foi avaliada a capacidade de armazenamento dos grãos de pólen os quais foram armazenados por seis meses em três condições: ambiente ( $\pm 25^{\circ}\text{C}$ ), geladeira ( $4^{\circ}\text{C} \pm 2$ ) e freezer ( $-20^{\circ}\text{C} \pm 2$ ). A vitalidade desses grãos foi determinada por meio da germinação *in vitro*. No quarto experimento, foram realizados os testes com os sistemas reprodutivos: xenogamia, autopolinização manual, autopolinização espontânea, apomixia e polinização aberta. As folhas marcadas, em novembro de 2016, apresentaram crescimento vegetativo mais rápido, reduzindo o tempo necessário para o aparecimento de espatas na sua axila. Além disso, o número de espatas produzidas por essas folhas foi maior do que as folhas marcadas em maio. Conseqüentemente, a produção de cachos e peso dos frutos também foi maior. A ausência de antese das flores dos dois sexos na inflorescência demonstra que o fluxo de pólen dentro dela é raro, predominando na espécie a polinização cruzada. Os grãos de pólen armazenados na geladeira e no freezer apresentaram crescimento do tubo polínico até os 180 dias, diferindo-se, significativamente, dos grãos armazenados em temperatura ambiente, que apresentaram pequena taxa de germinabilidade somente no primeiro mês. A polinização cruzada e a aberta foram superiores aos demais tratamentos. Para a autopolinização espontânea e apomixia, não foi observada fixação de frutos, enquanto em autopolinização artificial, apesar de uma pequena taxa, houve frutificação.

**Palavras-chave:** Polinização. Sistema reprodutivo. Xenogamia.

#### 4.1 Article 1- Emulsion of inflorescence, reproductive biology and storage of pollen grains in *Butia capitata* (Mart.) Becc under cultivation conditions

##### ABSTRACT

Among the Brazilian species with potential food is the Conquinho Azedo (*Butia capitata* (Mart.) Becc.), a monóico palm tree, that produces fruits attractive for the native fauna and for the humans. The objective of this study was to characterize inflorescence emission, to describe aspects of reproductive biology, and to evaluate the storage potential of (Mart.) Becc pollen grains. In the first experiment, we evaluated the effect of the time of year on the emission of spathes and inflorescences, accompanying leaves arrows marked in each individual in the months of May and November 2016. In the second one, the stigmatic receptivity was evaluated with the use of hydrogen peroxide (H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>) 6% and accompanied by the opening dynamics of the flowers, observing changes in their morphology. In the third experiment, the storage capacity of the pollen grains was evaluated in three conditions: environment ( $\pm 25^{\circ}\text{C}$ ), refrigerator ( $4^{\circ}\text{C} \pm 2$ ) and freezer ( $-20^{\circ}\text{C} \pm 2$ ). The vitality of these grains was evaluated by in vitro germination. In the fourth, the tests with the reproductive system were carried out: xenogamy, manual self-pollination, spontaneous self-pollination, apomixia and open pollination. The leaves marked in November of 2016 presented faster vegetative growth, reduced the time necessary for the appearance of spathes in their armpit and a greater number of spatulas produced, in addition to greater bunches production and fruit weight. The absence of anthesis of the flowers of both sexes in the inflorescence demonstrates that the flow of pollen inside the inflorescence is rare, predominating in the species the cross pollination. The pollen grains stored in the refrigerator and in the freezer showed growth of the pollen tube until 180 days, while the grains stored at room temperature presented a small germination rate only in the first month. Cross-pollination and open pollination were superior to the other treatments. For spontaneous self-pollination and apomixia no fruit fixation was observed, while artificial self-pollination, despite a small rate, resulted in fructification.

**Key words:** Pollination. Reproductive system. Xenogamy.

## 1 INTRODUÇÃO

O coquinho azedo (*Butia capitata* (Mart.) Becc.) é uma palmeira monoica, endêmica dos cerrados da Bahia, Goiás e Minas Gerais (LEITMAN *et al.* 2016). Essa espécie produz frutos muito atrativos para a fauna nativa e para os seres humanos, é importante fonte de vitaminas e nutrientes (FARIA *et al.* 2008, FARIA *et al.* 2011, LOPES *et al.* 2012). A coleta e a venda dos frutos representam importante fonte de renda para as comunidades locais (FONSECA *et al.* 2007; MOURA *et al.* 2010), sendo a segunda espécie nativa na região Norte mineira com maior capacidade de geração de recursos econômicos, depois do pequi. O sabor peculiar do fruto, associado às demais características organolépticas (LOPES *et al.* 2012), demonstram o potencial dessa espécie em atingir os mercados nacional e internacional. No entanto essa possibilidade não é atingida pela produção limitada dos frutos, proveniente apenas do extrativismo dos palmeirais ainda existentes. Por isso, o coquinho e muitas outras palmeiras nativas estão sujeitos ao elevado extrativismo, não restando frutos para a fauna ou sementes para a regeneração (MERCADANTE-SIMÕES *et al.* 2006). Esses fatores, associados ao desmatamento desordenado, contribuíram para enquadrar a espécie na categoria de vulnerável à extinção (LEITMAN *et al.* 2016).

Para contornar essa situação, são necessários estudos que esclareçam as estratégias reprodutivas da espécie e que proponham técnicas simples e de baixo custo, para manipulação e controle da reprodução, permitindo contribuir para a sua domesticação. A domesticação e o melhoramento genético de uma espécie exige compreender os aspectos da biologia reprodutiva, que envolve a fenologia, a morfologia e biologia da flor e o seu sistema reprodutivo (DAFNI *et al.* 2005, TECHIO *et al.* 2006), propondo técnicas simples e de baixo custo para manipulação e controle da reprodução.

O coquinho azedo pertence a um grupo de palmeiras que possui um caule único e simples e, nas axilas de suas folhas, são produzidas as inflorescências, conforme o crescimento vegetativo constante das plantas (DRANSFIELD e UHL, 2008). No Norte de Minas, *B. capitata* ocorre, naturalmente, em grandes populações, formando palmeirais próximos ao curso dos rios (LIMA *et al.* 2010) e apresenta grandes populações com os indivíduos reprodutivos com cerca de 1,1m de altura (MERCADANTE-SIMÕES *et al.* 2006). Entretanto as informações sobre a biologia reprodutiva da espécie, ainda, permanecem incipientes. Apenas dois estudos avaliaram esses atributos, Mercadante-Simões *et al.* (2006), que caracterizaram uma população natural em reprodução e Fonseca *et al.* (2005) que apresentaram informações de cruzamentos controlados. As informações preliminares, apresentadas por Fonseca *et al.* (2005), propõem que *B. capitata* seja autocompatível, mas que apresente reprodução predominantemente xenógama, pois o sucesso das polinizações cruzadas foi muito superior ao das autopolinizações. Resultados semelhantes foram encontrados por Eloy (2013) em *Butia odorata* (Barb.Rodr.) Noblick.

O armazenamento de grãos de pólen é uma ferramenta valiosa empregada por melhoristas e geneticistas como meio de manutenção da viabilidade (PIO *et al.*, 2007) e para a conservação de germoplasma (LORA *et al.* 2006). Essa técnica pode ser utilizada para possibilitar a realização de polinizações controladas, porque o pólen pode ser guardado e utilizado no próximo ciclo reprodutivo da

espécie ou em regiões onde a floração não é coincidente (TIGHE, 2004; EINHARDT, 2006; MORTAVAZI, 2010). Para que a viabilidade do pólen armazenado seja preservada, são necessárias condições adequadas de temperatura e umidade, tendo em vista preservar ao máximo a sua capacidade germinativa (SOUZA *et al.*, 2002).

Diante disso, objetiva-se compreender a relação da emissão de folhas com a produção de frutos, caracterizar a biologia reprodutiva e o potencial de armazenamento dos grãos de pólen de *Butia capitata* (Mart.) Becc., a fim de auxiliar na domesticação e conservação dessa espécie.

## 2 MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1 Área de Estudo e Material Vegetal

O estudo foi desenvolvido no Instituto de Ciências Agrárias da Universidade Federal de Minas Gerais, situado no município de Montes Claros, Minas Gerais, com latitude de 16° 44' 06" S, longitude de 43° 51' 42" W e altitude de 648 m. O clima da região é classificado, segundo Köppen como AW, com seis meses consecutivos de seca e com precipitação mensal inferior a 60 mm (ANTUNES, 1994).

Foram avaliadas plantas adultas de coquinho azedo, com 12 anos de idade, em fase reprodutiva com altura média de 0,95 m do solo até a folha fecha e diâmetro médio de 0,46 m ao nível do solo. Esses indivíduos estão estabelecidas em pomar formado por 26 plantas com sistema de plantio em retângulo espaçamento de 3 x 2,5 m. Os tratos culturais consistiram de irrigação, em intervalos de 48 horas, com lâmina de água de 04 mm, adubações semestrais com 20 litros de esterco de curral e anuais, com 500 gramas do adubo superfosfato simples por planta, além de capinas manuais frequentes. Os dados de temperatura (máxima e mínima) e precipitação, durante o período do experimento, foram obtidos do banco de dados do INMET, estação 83437, distante 500 metros do pomar.

### 2.2 Época de emissão das folhas flechas associadas aos estádios fenológicos

A folha flecha foi numerada como folha zero e, após emissão de outras folhas, passou a ser denominada com números crescentes, mesmo após a emissão da espata na sua axila e deiscência da espata (antese das flores) (Figura 1b).

Todas as 26 plantas do pomar tiveram uma folha flecha identificada em relação à data em que começaram a apresentar os folíolos livres. A identificação da folha flecha foi feita em dois períodos: entre os dias 15 e 28 de maio de 2016 (caracterizando uma época de clima mais seco e frio, Fig 2) e entre os dias 08 e 22 de novembro de 2016 (caracterizando um período mais chuvoso e com temperaturas mais quentes), totalizando a marcação de 52 folhas, uma por planta em cada período. Essas folhas flechas foram acompanhadas, anotando-se a data em que se tornaram folha número três, bem como a data e o número da folha que apresentava na sua axila espata com o comprimento de 15 cm (Figura 1a) e inflorescências expostas.

A partir do acompanhamento das folhas, em cada período do ano, foi possível determinar o tempo necessário, para que a folha flecha se tornasse a terceira, que a terceira se tornasse uma folha com espata em sua axila e que a espata se desenvolvesse e ocorresse a exposição da inflorescência. Também o tempo entre a exposição da inflorescência e a colheita do cacho e o número que a folha flecha adquiriu, após a emissão da espata, foram mensurados. Ao final do experimento, determinaram-se os meses em que houve emissão de espatas, inflorescências e cachos e o número de plantas que tiveram a folha flecha marcada e que emitiram espata. Assim, calculou-se a porcentagem de plantas com espatas, quando a folha tinha determinado número e a porcentagem de plantas com espatas, inflorescências abertas e cachos, em cada mês do ano, além da produção em kg de frutos. Os dados foram apresentados por meio de estatística descritiva e da distribuição de frequência.



**Figura 1.** Espata na axila da folha de coquinho azedo (a); folha flecha em plantas de coquinho azedo (b).

### 2.3 Biologia floral: receptividade estigmática e dinâmica de abertura das flores

Para a caracterização da biologia floral, quinze indivíduos do pomar, apresentando inflorescências recém-abertas, foram selecionados e as flores pistiladas foram monitoradas da antese à sua senescência. As flores femininas foram consideradas em antese, quando o estigma estava totalmente aberto, visível e de coloração esbranquiçada; e senescentes, quando o estigma se tornava endurecido e escurecido. Nesse período, foram anotados os movimentos e alterações de coloração nas flores. Para a receptividade estigmática, durante dez dias, três flores de oito indivíduos, totalizando 24 flores diariamente, foram imersas em solução de peróxido de hidrogênio ( $H_2O_2$ ) 6%, durante 5 minutos (*sensu* Dafni *et. al.* 2005). O borbulhamento produzido por cada flor foi caracterizado por sua intensidade, atribuindo-se as notas 0 (ausência), 1, 2 e 3. Os dados foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis e ao teste post-hoc de Dunn.

Para a avaliação da dinâmica de floração, quinze inflorescências recém-abertas, uma por indivíduo, foram marcadas e monitoradas diariamente, da abertura da primeira flor à senescência da última flor. Nas observações foi estimada a porcentagem de flores estaminadas e pistiladas em antese e senescência por inflorescência. Calculou-se a porcentagem média de flores masculinas e femininas em antese por dia na inflorescência, além da frequência do intervalo de tempo entre o fechamento da flor masculina e abertura da flor feminina, sem flores em antese.

### 2.4 Armazenamento de grãos de pólen

Para a análise da capacidade de armazenamento dos grãos de pólen, flores masculinas recém-abertas foram coletadas em cinco indivíduos (entre 8 h e 9 h). As flores foram desidratadas em estufa com circulação forçada de ar a  $30^\circ C \pm 2$ , por 24 horas. Em seguida, grãos de pólen foram removidos das anteras e colocados em tubos de eppendorf. O armazenamento foi realizado por seis meses em três condições: ambiente ( $\pm 25^\circ C$ ), geladeira ( $4^\circ C \pm 2^\circ C$ ) e freezer ( $-20^\circ C \pm 2$ ).

A vitalidade desses grãos foi avaliada por meio da germinação *in vitro*. Para tanto, os grãos de pólen foram inoculados em meio de cultura composto por: 100 g/L de sacarose, 300 mg/L de  $CaCl_2$  e solidificado com 10 g/L de ágar, meio mais indicado para a germinação dos grãos de pólen da palmeira macaúba (BRITO, 2013). O meio foi preparado com água deionizada, autoclavado a  $121^\circ C$  por 20 minutos e teve o seu pH ajustado para 6,5. As placas de Petri contendo o meio foram mantidas a  $30^\circ C$  no escuro em câmaras BOD por 24 h.

A porcentagem de germinação dos grãos de pólen *in vitro* foi avaliada, a cada 30 dias, até se completarem 180 dias de armazenamento. Para cada tratamento, foram analisados 25 repetições e 300 grãos de pólen por repetição e calculada a proporção de grãos de pólen germinados (crescimento do tubo polínico igual ou superior ao diâmetro do próprio pólen) em relação ao total. Para análise desses dados, foi usado o teste Kruskal-Wallis e a regressão linear.

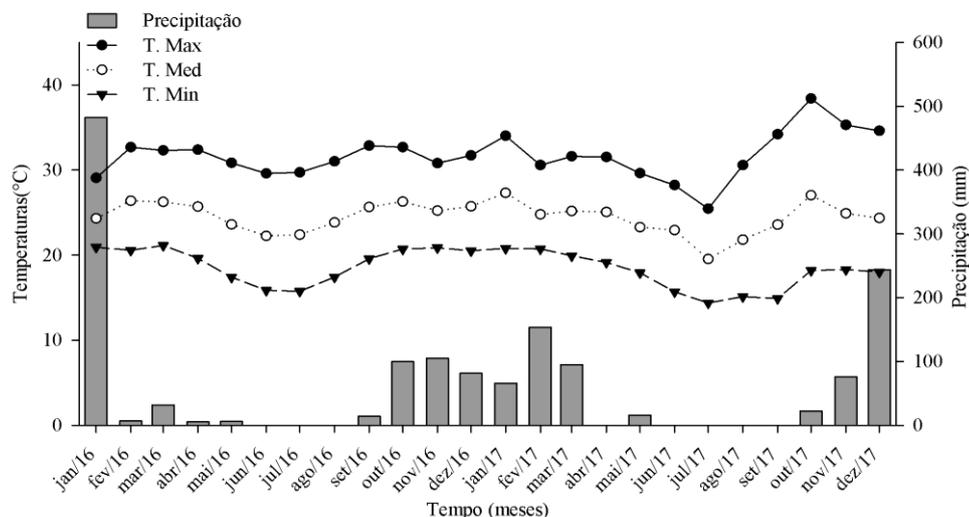
## 2.5 Sistema Reprodutivo

Os testes do sistema reprodutivo foram realizados em oito indivíduos e inflorescências; em cada inflorescência, cinco ráquulas foram manipuladas, uma para cada teste. Foram realizados os testes (*sensu* KEARNS E INOUIE 1993): xenogamia (ráquulas emasculadas, isoladas e flores polinizadas com grãos de pólen provenientes de outros indivíduos); autopolinização manual (semelhante à xenogamia, exceto pelo uso de grãos pólen provenientes da mesma planta, armazenados em geladeira a 4°C); autopolinização espontânea (ráquulas isoladas da pré-antese das flores à frutificação ou senescência); apomixia (ráquulas emasculadas e isoladas da pré-antese à frutificação ou senescência); polinização aberta (ráquulas marcadas e deixadas expostas aos polinizadores). Previamente à implementação dos experimentos, as flores pistiladas foram quantificadas e as ráquulas foram isoladas com o uso de TNT. As polinizações foram realizadas entre as 8 h e 9 h, no quarto dia de antese das flores femininas. Os dados foram submetidos à análise de variância e as médias comparadas com o teste de Tukey a 5% de probabilidade.

## 3 RESULTADOS

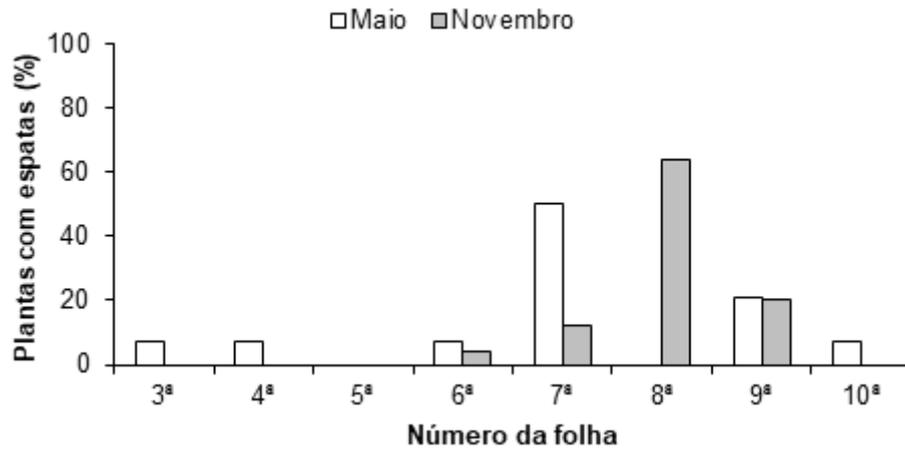
### 3.1 Emissão das folhas flechas associadas aos estádios fenológicos

Durante o período de estudo, as maiores precipitações foram registradas entre os meses de outubro de 2016 a março de 2017, com pico em fevereiro de 2017. As temperaturas mais baixas ocorreram nos meses de junho e julho e as mais altas entre setembro e outubro de 2016 e janeiro de 2017 (Figura 2).



**Figura 2.** Médias mensais de precipitação e temperaturas máximas, médias e mínimas de janeiro de 2016 a dezembro de 2017.

Indivíduos com folhas flechas, marcadas em maio de 2016, apresentaram predominantemente emissão de espatas com 15 cm de comprimento na sétima folha (50%), com um período médio entre a folha flecha e a colheita dos frutos de, aproximadamente, 385,23 dias. Já nas plantas com folhas flechas identificadas, em novembro de 2016, a maioria das espatas encontrava-se na oitava folha (64%), com um tempo médio para a colheita de cachos de cerca de 322,42 dias (Figura 3 e Tabela 1).



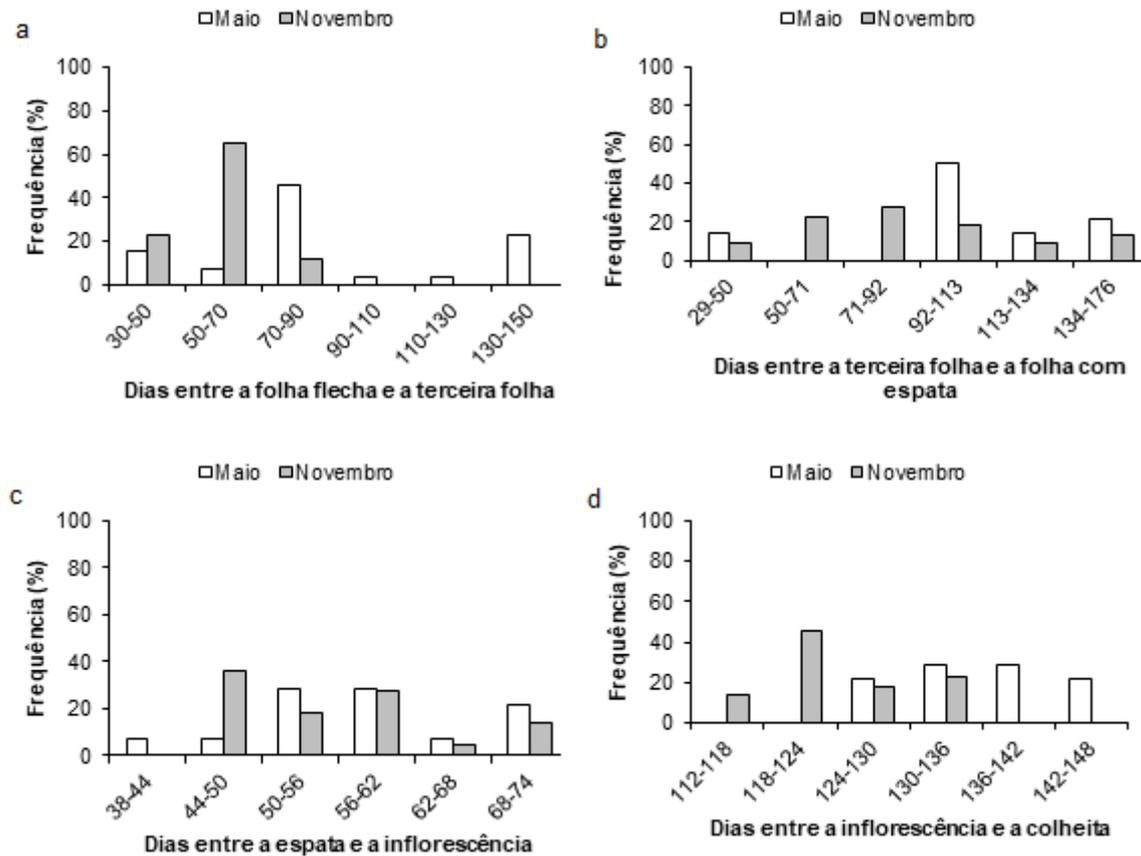
**Figura 3.** Porcentagem de plantas de *Butia capitata* (Mart.) Becc que apresentava na axila de determinada folha (número) uma espata com 15 cm de comprimento. As folhas foram marcadas nos meses de maio e novembro de 2016, quando ainda estavam no estágio de flechas.

**Tabela 1.** Máximo, mínimo, média, desvio padrão e coeficiente de variação do tempo, em dias, entre o aparecimento da folha flecha e a sua passagem para 3ª folha; da 3ª folha para a folha com espata; da folha com espata à abertura da inflorescência; da abertura da inflorescência à colheita do cacho, além do peso dos frutos do cacho, nas folhas marcadas nos meses de maio e novembro de 2016, em plantas de *Butia capitata* (Mart.) Becc.

Épocas	Unidade	Características	Máximo	Mínimo	Média	Desvio padrão	CV (%)
<b>Maio</b>	dias	Flecha-3ª folha	148	31	88,81	37,19	41,88
<b>Novembro</b>	dias	Flecha-3ª folha	72	30	56,15	11,75	20,92
<b>Maio</b>	dias	3ª folha- espata	145	29	102,14	33,39	32,69
<b>Novembro</b>	dias	3ª folha- espata	152	42	88,27	31,60	35,80
<b>Maio</b>	dias	Espata- inflorescência	74	38	58,07	10,00	17,23
<b>Novembro</b>	dias	Espata- inflorescência	70	45	55,00	8,79	15,98
<b>Maio</b>	dias	Inflorescência- colheita	145	129	136,21	5,68	4,17
<b>Novembro</b>	dias	Inflorescência- colheita	134	112	123,00	6,20	5,04
<b>Maio</b>	kg	Peso dos frutos por cacho	2,5767	0,7366	1,2419	0,7820	42,96
<b>Novembro</b>	kg	Peso dos frutos por cacho	4,3317	0,9732	2,96532	1,5219	48,23

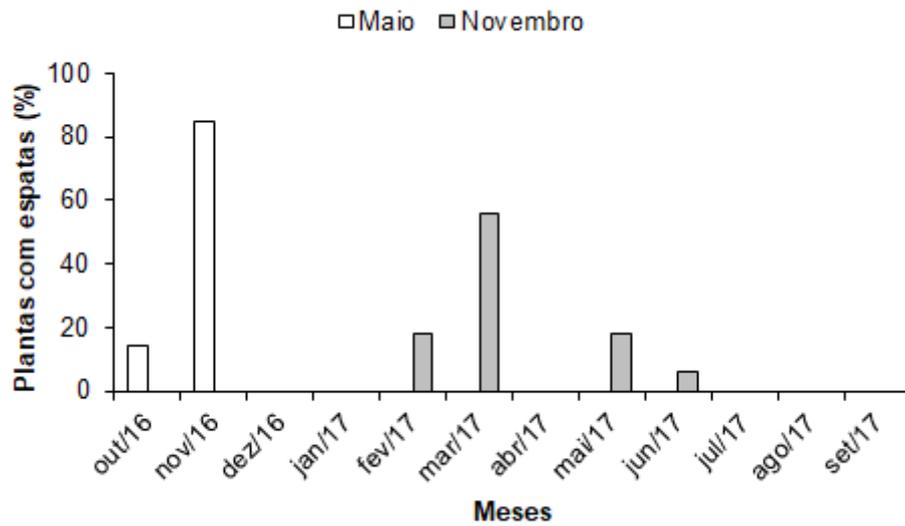
O tempo mais curto, para a colheita de cachos em folhas flechas de novembro, foi em razão, principalmente, dos menores períodos que estas demandavam para atingir a terceira folha, em média, 56,15 dias, concentrando-se entre 50 a 70 dias, enquanto as marcadas em maio tiveram uma duração média para este estádio de 88,81 dias, ocorrendo com maior frequência entre 70 a 90 dias (Tabela 1 e Figura 4a). Também contribuiu, em menor escala, para comportamento precoce da colheita em folhas flechas de novembro, o tempo mais reduzido entre a terceira folha e a emissão da espata e da abertura da inflorescência à colheita do cacho, em média, de 14 dias a menos (Tabela 1), além da concentração mais antecipada para surgimento da espata e a antese das flores em relação às folhas de maio (Figuras 4b e d). Já a diferença entre a espata com 15 cm e a abertura da inflorescência, para as duas épocas, foi bastante reduzida, aproximadamente, três dias, tendo uma duração concentrada entre 44 a 62 dias (Tabela 1, Figura 4c). Ainda, verificou-se que, nos períodos entre a folha flecha e a terceira folha e da terceira folha a emissão da espata, ocorreu maior variabilidade, quando comparados aos outros dois

estádios, indicado por seus valores superiores da diferença entre máximo e o mínimo, do desvio padrão e do coeficiente de variação (Tabela 1).

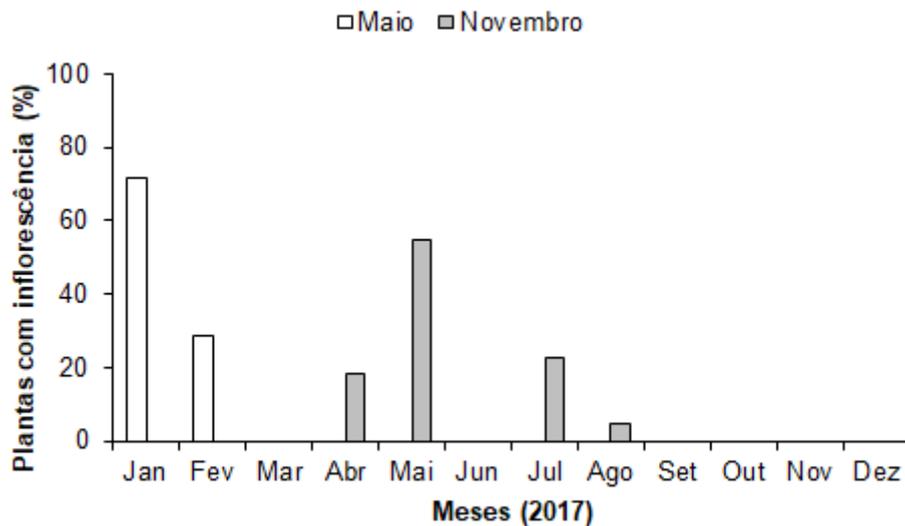


**Figura 4.** Distribuição de frequência para as classes em dias do período do aparecimento da folha flecha a sua passagem para terceira folha (a); da terceira folha à emissão da espata na sua axila (b); da espata à abertura da inflorescência (c); e da inflorescência até a colheita do cacho (d) em plantas de *Butia capitata* (Mart.) Becc.

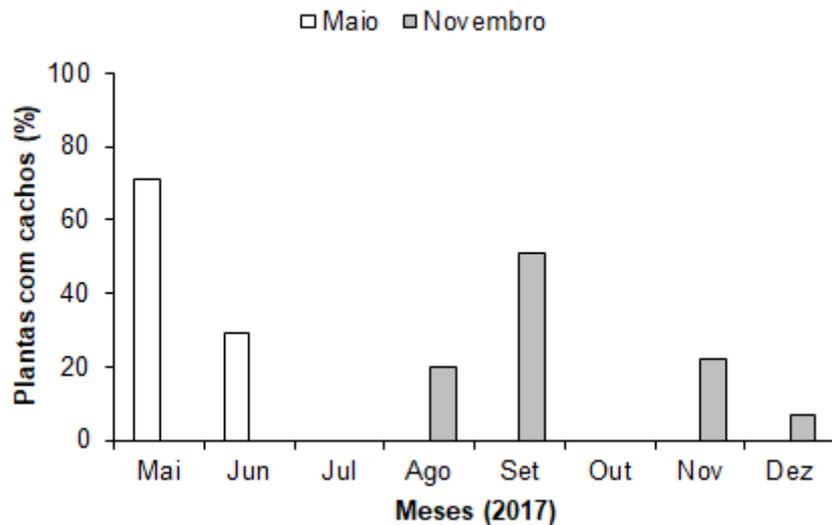
As folhas que eram flechas, em maio de 2016, condensaram a emissão de espata em novembro de 2016, a abertura da inflorescência em janeiro de 2017 e colheita dos cachos em maio de 2017, respectivamente, cerca de seis, oito e treze meses do surgimento da flecha (Figuras 5, 6 e 7). Com um comportamento mais antecipado, as flechas de novembro de 2016 tiveram a maior concentração da sua espata, exposição da inflorescência e colheita dos cachos, respectivamente, em março, maio e setembro de 2017, cerca de dois meses a menos para cada estágio em relação às flechas identificadas em maio.



**Figura 5.** Porcentagem de plantas de *Butia Capitata* (Mart.) Becc por mês que apresentava na axila da folha uma espata com 15 cm de comprimento. As folhas foram marcadas nos meses de maio e novembro de 2016, quando ainda estavam no estágio de flechas.



**Figura 6.** Porcentagem de plantas de *Butia Capitata* (Mart.) Becc por mês que apresentava na axila da folha uma inflorescência aberta. As folhas foram marcadas nos meses de maio e novembro de 2016, quando ainda estavam no estágio de flechas.



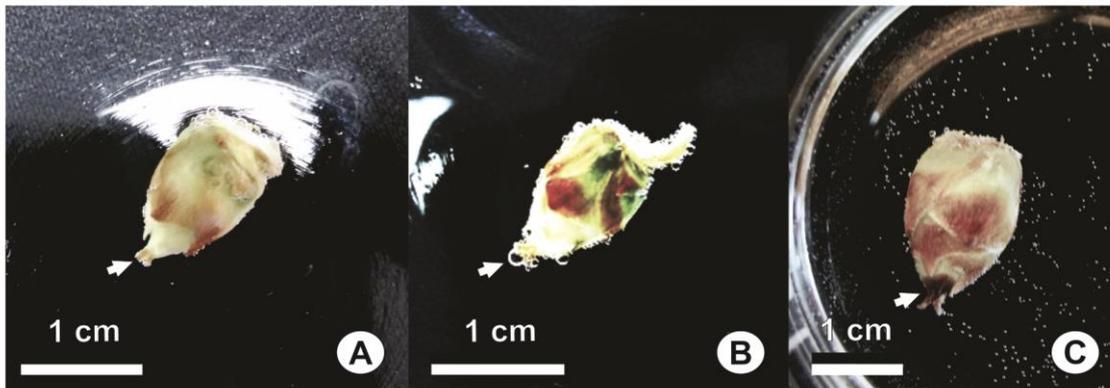
**Figura 7.** Porcentagem de plantas de *Butia capitata* (Mart.) Becc por mês que tiveram cachos colhidos nas axilas das folhas que foram marcadas nos meses de maio e novembro de 2016, quando ainda estavam no estágio de flechas.

Quanto à produção de frutos, somente 14 plantas (54%), marcadas em maio, apresentaram cachos, enquanto nas de novembro, 22 plantas (85%) emitiram essa estrutura. Além do menor número de cachos colhidos nas folhas marcadas em maio, estes possuíam um peso inferior, cerca de 2,39 vezes menos que os das folhas de novembro (Tabela 1), com uma produção de frutos de todas as plantas de 17,39 kg, enquanto naquelas marcadas em novembro, de 65,23 kg.

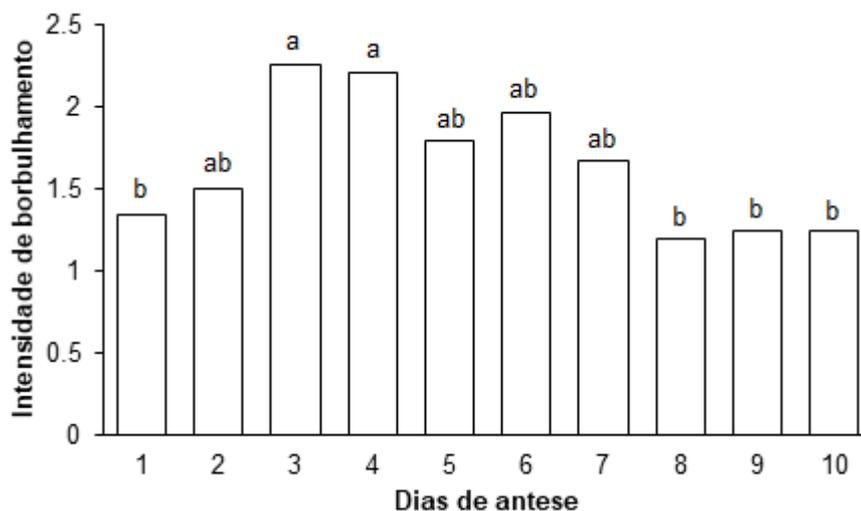
### 3.2 Biologia floral, receptividade estigmática e dinâmica de abertura na inflorescência

Foram observadas mudanças evidentes na coloração do estigma após a abertura das flores. No primeiro dia, o estigma possuía cor esbranquiçada, passando para amarronzada no terceiro dia, com aspecto úmido e brilhante. Próximo do décimo dia após a antese, o estigma adquiriu uma coloração marrom-escura e de aparência desidratada (Figura 8). A posição do ápice das porções estigmáticas também mudou; nos primeiros dias de antese, ele se encontra ereto, com uma área estigmática pequena exposta. Com o passar dos dias, principalmente, no terceiro e quarto dia, o estigma foi se orientando, posicionando as suas estruturas de forma mais aberta, aumentando a sua área estigmática.

Durante os dez dias de avaliação, as flores pistiladas apresentaram borbulhamento, indicando receptividade do estigma (Figura 8). A intensidade de emissão de bolhas foi superior entre o terceiro e quarto dia, após a abertura da inflorescência, mesmo não se distinguindo do segundo ao sétimo dia. Nos dois primeiros dias e nos três últimos, após antese das flores, o borbulhamento foi inferior, o que sugere que a receptividade inicia baixa, eleva-se e depois reduz, até finalizar o período de vida da flor (Figura 9).



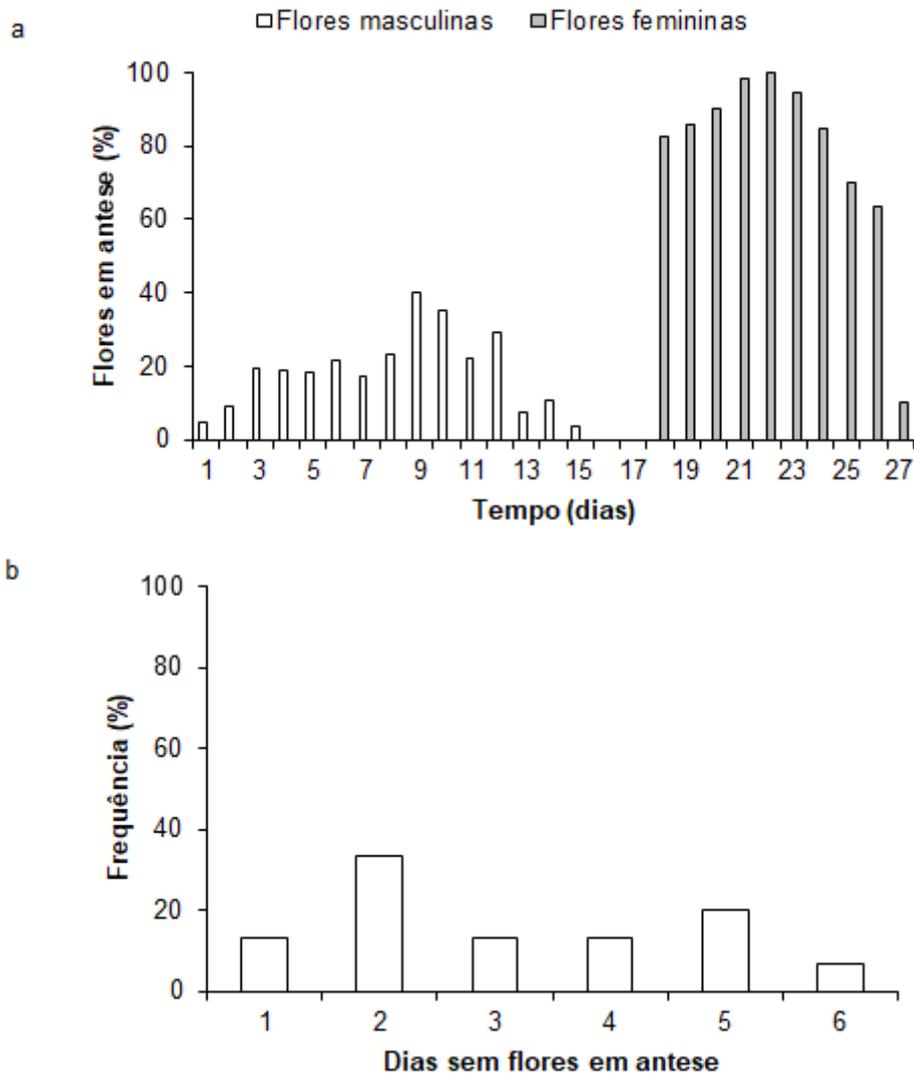
**Figura 8.** Estigma apresentando reação positiva ao teste de receptividade, com o uso do peróxido de hidrogênio no primeiro dia de antese (a); no terceiro dia de antese (note borbulhamento sobre as áreas estigmáticas) (b); no décimo dia de antese (c). Seta indicando a região do estigma.



**Figura 9.** Intensidade de borbulhamento, uso do peróxido de hidrogênio a 6 %, no estigma das flores de *Butia Capitata* (Mart.) Becc coletadas diariamente até 10 dez dias após a antese. Os tratamentos seguidos de mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade.

Na inflorescência de coquinho azedo, os eventos de floração foram divididos em duas fases: masculina e feminina (Figura 10a). Logo após a abertura da espata, é iniciada a fase masculina, caracterizando a protandria. A partir da abertura da espata e durante 15 dias, foi verificada, na inflorescência, a presença de flores masculinas em antese, com maior quantidade destas entre o nono e o décimo segundo dia. A antese das flores femininas inicia-se, em média, dois dias após a abertura e senescência das últimas masculinas da mesma inflorescência. Entretanto o intervalo entre término da antese das flores estaminadas e início das pistiladas pode variar de um a seis dias (Figuras 10a, b). O tempo médio, nove dias, que uma flor feminina permanece em antese é superior ao das flores masculinas, no entanto o período, após o início e a permanência de flores femininas em antese, na

inflorescência, foi mais curto do que o das masculinas, cerca de 10 dias. Isso indica que quase todas as flores pistiladas da inflorescência, acima de 80%, abrem-se no primeiro dia da fase feminina, enquanto as estaminadas entram em antese por volta de 20% a cada dia (Figura 10a). Ao final, o tempo total médio para a antese de todas as flores da inflorescência foi de 27 dias.

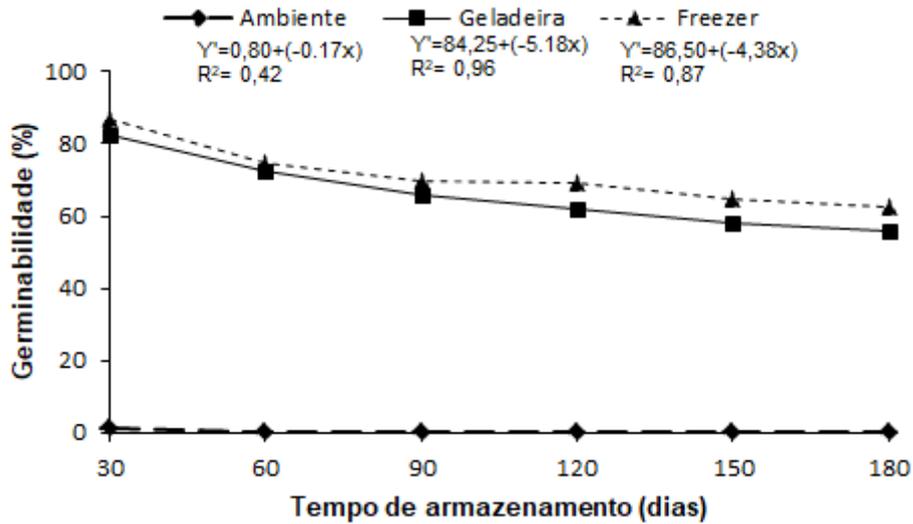


**Figura 10.** Porcentagem de flores masculinas e femininas em antese durante os dias de floração (a); frequência para classe de dias sem flores em antese na inflorescência (b) em plantas de *Butia capitata* (Mart.) Becc.

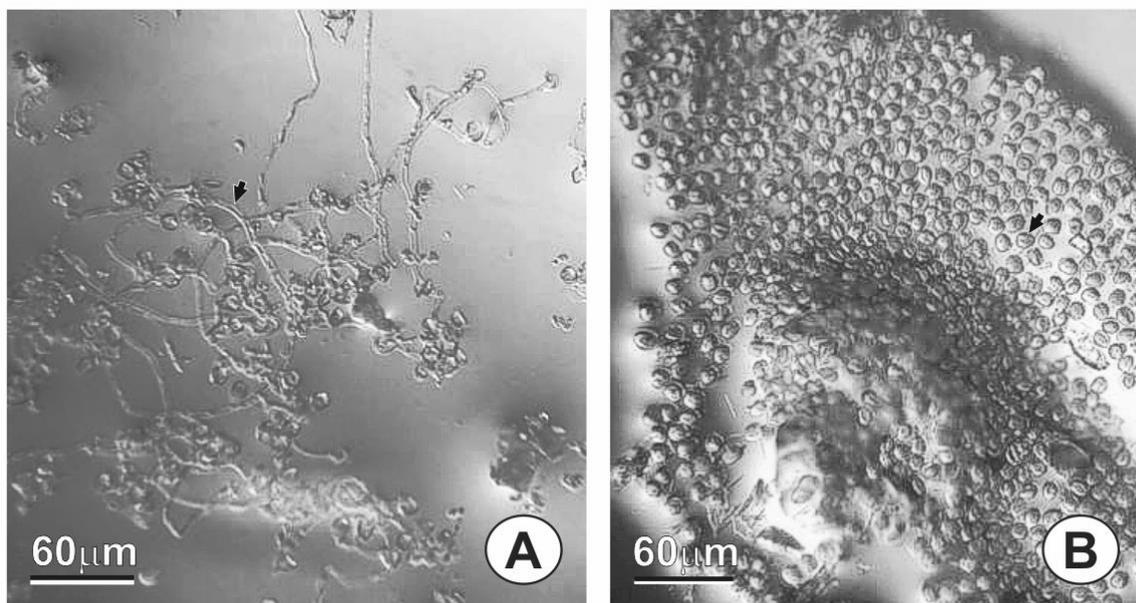
### 3.3 Armazenamento de grãos de pólen

Os grãos de pólen armazenados, na geladeira e no freezer (Figura 12a), apresentaram crescimento do tubo polínico até os 180 dias, chegando ao fim do período de armazenamento com 55,95 e 62,34% de germinabilidade, respectivamente (Figura 11). Diferiram-se, significativamente, dos grãos armazenados em temperatura ambiente ( $p < 0.05$ ; Figura 12b), que apresentaram pequena taxa de germinabilidade somente no primeiro mês (1,21%) (Figura 11). Houve uma redução média da emissão

de tubo polínico a cada mês, de 5,34% nos grãos armazenados na geladeira e de 4,89% para os armazenados no freezer. O tempo de armazenamento influenciou na porcentagem de germinação do tubo polínico, mostrando uma redução mais acentuada, a partir do terceiro mês, para os grãos armazenados na geladeira e do quarto mês para os grãos armazenados no freezer (Figura 11).



**Figura 11.** Porcentagem de germinação *in vitro* de grãos de pólen de coquinho azedo obtida, nos 6 períodos de avaliação (Mês 1, 2, 3, 4, 5, 6), em função de diferentes temperaturas de armazenamento.



**Figura 12.** Germinação *in vitro* de grãos de pólen de coquinho azedo: tubos polínicos de grãos de pólen armazenados no freezer aos 120 dias de armazenamento (a); grãos de pólen sem a germinação de tubo polínico aos 120 dias de armazenamento (b).

### 3.4 Sistema Reprodutivo

Os resultados mostraram que *B. capitata* apresenta baixa autocompatibilidade ( $ISI=0,09$ ), não é apomítica, incapaz de formar frutos por autopolinização espontânea, com maior sucesso na polinização cruzada e aberta. Isso sugere que a espécie pode ser predominantemente xenogâmica. A polinização cruzada (xenogamia) e a aberta foram superiores aos demais tratamentos, apresentando uma taxa de sucesso reprodutivo acima de 40% ( $F=19.58$ ,  $p<0.01$ ; Tabela 2). Para a autopolinização espontânea e apomixia, não foi observada fixação de frutos, enquanto em autopolinização artificial, apesar de uma pequena taxa (4,58%), houve frutificação.

**Tabela 2.** Frutificação em *Butia capitata* obtida após polinizações controladas: xenogamia, autopolinização espontânea, autopolinização artificial, apomixia e polinização aberta (controle).

Teste	Número de Flores	Número de Frutos	Sucesso Reprodutivo (%)
Polinização cruzada	48	22	45,83 a
Autopolinização manual	49	2	04,08 b
Autopolinização espontânea	49	0	00,0 b
Apomixia	48	0	00,0 b
Polinização aberta	53	24	47,16 a

\*Medias seguidas de mesma letra não diferem entre si pelo teste Tukey a 5 % de probabilidade.

## 4 DISCUSSÃO

O número potencial de inflorescências é determinado pela taxa de iniciação das folhas, vez que a ráquis, ráquila e flores são formadas nas axilas das folhas. Fatores intrínsecos tais como genótipo, idade da planta e disponibilidade de carboidratos, ou extrínsecos, como um apropriado comprimento do dia, regimes hídricos e temperaturas, interferem na taxa de emissão de folhas e, também, na formação do primórdio da inflorescência, originando, após dois ou três anos, o número de cachos a serem colhidos, como no caso de *C. nucifera* e *E. guineensis* (ADAM *et al.*, 2011; WOITTIEZ *et al.*, 2017).

Em espécies de palmeiras, a presença da espata visível e a inflorescência recém-aberta predominam na axila de determinadas folhas. Apesar de ocorrer algumas variações no número das folhas, para o aparecimento dessas estruturas, em função das condições ambientais e do genótipo, em geral, para o coqueiro (*Cocos nucifera*), a emissão da espata surge na sexta e sétima folha e com abertura da inflorescência na nona e décima (PERERA *et al.*, 2010; CASTRO *et al.*, 2009), enquanto, para o dendê (*Elaeis guineensis*), a estrutura floral com 30% do seu tamanho final emerge, também, na axila da folha sexta, com antese das flores femininas nas folhas dezoito e dezenove (FORERO *et al.*, 2011; ADAM *et al.*, 2011). Em *B. capitata*, os resultados demonstraram, mesmo de folhas flechas emitidas em diferentes épocas do ano, que o surgimento da espata concentra-se entre a sétima e a oitava folha, e o florescimento entre a nona e a décima primeira folha (dados não mostrados).

Em condições favoráveis de crescimento, clima tropical úmido com chuvas regulares e solos eutróficos, a taxa de emissão de folhas em palmeiras é acelerada, ou seja, o aparecimento de novas folhas ocorre em um intervalo menor de tempo (WOITTIEZ *et al.*, 2017; GUILHERME *et al.*, 2014; CASTRO *et al.*, 2009). A emissão de um maior número de folhas, em curto espaço de tempo, leva ao aparecimento antecipado de estruturas reprodutivas na planta, como ocorre em plantas de *E. guineensis*. Plantas jovens dessa espécie produzem três folhas por mês, com a abertura da inflorescência, após 22 meses da iniciação de sua folha, enquanto, nas plantas adultas que produzem duas folhas por mês, as flores atingem a maturidade 33 meses após seu primórdio foliar (ADAM *et al.*, 2011). Portanto, para *B. capitata*, isso pode explicar a maior precocidade na colheita dos cachos na axila de folhas emitidas em novembro em relação às emitidas em maio, visto que a temperatura e precipitação foram mais elevadas em novembro e nos meses subseqüentes, propiciando melhores condições ao crescimento vegetativo e maior velocidade no surgimento das folhas, como também constatado em *Butia purpurascens* (GUILHERME *et al.* 2014). Tal situação torna-se claramente evidenciada, quando é feita a divisão entre o número de dias médio da fase, folha flecha à emissão da espata, pelo número da folha com a espata (8 para novembro e 7 para maio), indicando, aproximadamente, o aparecimento de uma nova folha a cada 18 dias para novembro e 27 dias para maio.

A maior diferença em dias, da folha flecha à terceira folha, entre as fases fenológicas avaliadas, para as épocas das folhas flechas marcadas, foi um importante aspecto observado, também, relacionado às condições climáticas. O período mais longo nessa fase coincidiu com grandes diferenças na temperatura e na precipitação entre maio e novembro e nos dois meses subseqüentes a estes. No entanto, para outras fases fenológicas, cuja amplitude entre esses fatores climáticos foi menor, observou-se um impacto inferior na antecipação da colheita dos cachos. Dessa forma, isso confirma a importância das condições climáticas como um dos principais fatores para a produção ao longo do ano, como verificado em alguns trabalhos com palmeiras tropicais (ADAM *et al.*, 2011; CASTRO *et al.*, 2009; LEGROS *et al.*, 2009).

Para a *B capitata*, em condição de ambiente natural e de cultivo, a emissão de espatas, abertura das inflorescências e colheita dos cachos, concentram-se, respectivamente, entre fevereiro e junho, abril e novembro e agosto a dezembro (ALDICIR e SILVA, 2013; SOUZA, 2016). Essas épocas foram semelhantes aos estádios fenológicos proporcionados para as folhas marcadas em novembro, porém não para aquelas emitidas em maio. Em condições de cultivo, apesar de detectadas inflorescências em janeiro e fevereiro e cachos colhidos em maio e junho, como nas folhas fechas marcadas em maio, estes eventos ocorrem em baixa frequência, proporcionando uma produção insignificante e marginal. A produção nessas épocas é atribuída às melhores condições de cultivo, em relação ao ambiente natural, principalmente, pelo uso da irrigação, porém este fato não assegura a produção uniforme durante todo o ano (SOUZA, 2016).

Em palmeiras que utilizam para consumo o fruto “in natura”, a produção é determinada pelo número de cachos colhidos e peso de seus frutos (PALLAS *et al.*, 2013). A quantidade de cachos disponíveis para colheita está associada ao número de inflorescências iniciadas, determinação do sexo da flor, aborto de inflorescências antes da antese e de frutos. Já, os principais componentes do peso do cacho são o número de flores e frutos e o peso dos frutos (WOITTIEZ *et al.*, 2017). Plantas de *B.*

*capitata* com cinco a dez anos de idade, quando cultivadas em sistema de monocultivo, apresentam sua produção de frutos relacionada, positivamente, ao número de inflorescências emitidas, flores femininas por inflorescência, frutos por cacho e cachos colhidos.

Também a determinação do sexo nas flores e o aborto das inflorescências que ocorrem, respectivamente, 22 meses e de 4 a 6 meses, antes da maturidade das flores em plantas adultas de *E. guineensis*, influenciam, de forma significativa, a produção de frutos das espécies de *Arecaceae* (ADAM *et al.*, 2011, PERERA, 2011; WOITTIEZ *et al.*, 2017; PALLAS *et al.*, 2013). A determinação do sexo das flores está ligada às condições internas e externas à planta, semelhante ao processo de emissão das folhas mencionado acima. Se ocorrerem situações de estresse, estas podem levar ao aumento excessivo da formação e diferenciação de somente flores com um tipo de sexo, causando, por exemplo, o fenômeno da masculinização da estrutura, com reduzido número de flores femininas (PALLAS *et al.*, 2013; WOITTIEZ *et al.*, 2017). Portanto, no presente estudo, a formação e o desenvolvimento das folhas flechas em maio determinaram uma produção menor de frutos, em comparação àquelas formadas e desenvolvidas em novembro, provavelmente, em função das condições climáticas adversas da primeira época, menor temperatura, comprimento dia e precipitação, levando a redução do número de inflorescências, de flores femininas e de cachos colhidos que, também, apresentaram peso e quantidade de frutos inferior.

Em *B. capitata*, a inflorescência é bissexual, com flores femininas encontradas apenas na região basal da ráquila (próximo à ráquis) até a sua porção central. Essas flores são arranjadas em uma tríade, que consiste em uma flor feminina flanqueada por duas masculinas, enquanto na região distal da ráquila estão presentes somente flores masculinas (MERCADANTE-SIMÕES, *et al.*, 2006, NADOT, *et al.*, 2016).

A receptividade estigmática, ao longo tempo de abertura das flores, é uma importante característica a ser determinada para *B. capitata*, pois não há registro, na literatura, desta valiosa informação para o manejo e o melhoramento genético da espécie. As flores de *B. capitata*, durante toda abertura da flor, apresentaram um estigma receptivo, porém com maior intensidade entre o terceiro e quarto dia. Tal comportamento, caracterizado pelo aumento da receptividade estigmática, ao longo do período de antese das flores, seguido, após um tempo, pela redução e a inviabilidade do estigma, também, é identificado para outras palmeiras, usando substâncias indicadoras como peróxido de hidrogênio e permanganato de potássio (BRITO 2013; OSTROROG e BARBOSA, 2009).

As flores de *B. capitata* exibiram o fenômeno da dicogamia, com a maturação primeiro das masculinas e depois das femininas (protandria). A duração média, em dias da fase masculina, feminina e total, foi quase o dobro da *Butia odorata*, palmeira de ocorrência no ambiente restinga do Sul do Brasil (ROSA *et al.*, 1998). Ainda comparando as duas espécies, ambas apresentaram tempo médio semelhante de intervalo entre as fases masculinas e femininas, aproximadamente, dois dias.

Na subfamília arecoideae, que pertence à *B. capitata*, é predominantemente composta de plantas monoicas que, frequentemente, possuem diferenças no tempo da antese entre flores masculinas e femininas dentro da tríade (tríade protândrica). A flor feminina na tríade é formada na série ontogenética por último e, portanto é mais provável que ela também se abra por último (NADOT *et al.*, 2016; DRANSFIELD *et al.*, 2008).

O armazenamento como meio de manutenção da viabilidade do pólen é uma ferramenta valiosa

empregada por melhoristas e geneticistas (PIO *et al.* 2007) e para a conservação de germoplasma (LORA *et al.* 2006). Para muitas culturas agrícolas, é possível armazenar os grãos de pólen, mantendo a sua viabilidade por longos períodos de tempo (HANNA e TOWILL 1995). Nas condições de armazenamento na geladeira e no freezer, os grãos de pólen apresentaram taxa de germinação superior a 50% até 180 dias, diferente do pólen armazenado em temperatura ambiente, que apresentou pequena taxa de germinação apenas nos primeiros 30 dias. Resultados parecidos foram encontrados por Brito, 2013, que, trabalhando com armazenamento de grãos de pólen de macaúba, observou que nas temperaturas de 4° C e -20° C, tanto para o pólen dessecado quanto para o não dessecado, a taxa de germinação foi superior a 40% até 120 dias de armazenamento.

Um dos fatores que mais interfere no sucesso do armazenamento é o conteúdo de água do grão (FRANCHI *et al.* 2002), dado que pode ocorrer a formação de cristais, durante o congelamento, o que torna o pólen inviável (DAFNI *et al.* 2005). Para contornar esse fato, para muitas espécies, é necessária a desidratação do pólen previamente ao congelamento (DAFNI *et al.* 2005). No entanto, para outras, incluindo algumas palmeiras, a viabilidade é mantida em congelamento sem desidratação (BRUCKNER *et al.* 2000, MORTAZAVI *et al.* 2010, BRITO, 2013). Para o coquinho azedo, a viabilidade após o armazenamento, em temperaturas mais baixas, como é o caso do freezer (-20°C), só é possível graças à desidratação, uma vez que, em testes realizados com pólen não desidratado neste experimento, armazenados por 30 dias em freezer, não apresentou crescimento do tubo polínico, justificando o uso de dessecação do pólen. Por último, a presença de tubos polínicos vigorosos, mesmo ao fim do período de armazenamento, indica que essa pode ser uma estratégia satisfatória, pelo menos, para proporcionar uma pequena frutificação, em épocas de escassez de pólen, ou com pouca viabilidade.

Como observado no presente trabalho, *B. capitata* apresenta dicogamia do tipo protandria, favorecendo assim a polinização xenogâmica. Essas mesmas características foram detectadas na espécie *B. odorata* (ROSA *et al.*,1998). Os resultados das polinizações controladas neste trabalho confirmam a polinização xenogâmica em *B. capitata*, já que a autopolinização espontânea não apresentou frutificação, enquanto a autopolinização manual obteve resultado inferior ao cruzamento e ao controle. Dados semelhantes foram encontrados por Eloy (2013), em *Butia odorata* (Barb.Rodr.) Noblick, que observou, ainda, alterações em diversas características de interesse comercial dos frutos, em resposta às diferentes fontes do pólen, o que mostra a importância de estudos dessa natureza, antes dos processos de domesticação.

## 5 CONCLUSÕES

As folhas flechas, emitidas em novembro de 2016, demonstraram maior crescimento vegetativo, maior diferenciação floral e maior produção de cachos na sua axila, demonstrando a importância de condições climáticas ideais no momento da diferenciação floral. A ausência de antese das flores dos dois sexos na inflorescência demonstra que o fluxo de pólen dentro dela é raro, predominando na espécie a polinização cruzada. O sistema reprodutivo de *B. capitata* é predominantemente xenogâmico, mesmo sendo uma espécie autocompatível. O armazenamento de grãos de pólen de *B. capitata* na geladeira ou freezer, durante 180 dias, é viável, possibilitando a sua conservação.

## 6 REFERÊNCIAS

- ADAM, H.; COLLIN, M.; RICHAUD, F.; BEULÉ, T.; CROS, D.; OMORÉ, A.; NODICHAO, L.; NOUY, B.; TREGGAR, J.W. Environmental regulation of sex determination in oil palm: current knowledge and insights from other species. **Annals of Botany**, v. 108, p. 1529-1537, 2011.
- ALDICIR, S.; SILVA, P. A. D.; Phenology, biometric parameters and productivity of fruits of the palm *Butia capitata* (Mart.) Beccari in the Brazilian cerrado in the north of the state of Minas Gerais. **Acta Botanica Brasilica**, v. 27, n. 3, p. 580-589, 2013.
- ANTUNES, F. Z. Caracterização Climática: caatinga do Estado de Minas Gerais. **Informe Agropecuário**, v. 17, p. 15-19, 1994.
- BRITO, A. C. **Biologia reprodutiva de macaúba: floração, polinizadores, frutificação e conservação de pólen**. 2013. 47 f. Tese (Doutorado em Genética e Melhoramento) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2013.
- BRUCKNER, C. H.; SILVA, M. M.; FALLEIRO, T. M.; ANDRADE, B. B.; MOREIRA, A. E. Viabilidade do pólen de maracujazeiro sob diferentes condições de armazenamento. **Ceres**, v. 47, p. 523-531, 2000.
- CASTRO, C. P.; PASSOS, E. E. M.; ARAGÃO, W. M. Fenologia de cultivares de Coqueiro-Anão nos tabuleiros costeiros de Sergipe. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 31, p. 13-19, 2009.
- DAFNI, A.; PACINI, E.; NEPI, M. Pollen and stigma biology. In: DAFNI, A.; KEVAN, P. G.; HUSBAND, B. C. (Eds.) **Practical Pollination Biology**. Cambridge: Enviroquest, 2005. p. 83-142.
- DRANSFIELD, J.; UHL, N. W., ASMUSSEN, C. B.; BAKER, W. J.; HARLEY, M. M.; LEWIS, C. E. **Genera Palmarum: the evolution and classification of palms**. Kew: Kew Publishing, 2008. p. 732.
- EINHARDT, P. M.; CORREA, E. R.; RASEIRA, M. C. Comparação entre métodos para testar a viabilidade de pólen de Pessegueiro. **Revista Brasileira de Fruticultura**, Jaboticabal, v. 28, n. 1, p. 5-7, 2006.
- ELOY, J. **Polinização, produção e qualidade de Butiá (*Butia odorata* Barb. Rodr.) Noblick&Lorenzi**. 2013. 61 f. Dissertação (Mestrado em Ciências) – Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2013.
- FARIA, J. P.; SIQUEIRA, E. M. A.; VIEIRA, R. F.; AGOSTINI-COSTA, T. S. Fruitsof *Butia capitata* (Mart.) Becc as goodsourcesof  $\beta$  -caroteneand provitamina. **Revista Brasileira de Fruticultura**, nesp., p. 612-617, 2011.
- FARIA, J. P. F.; ALMEIDA, F.; SILVA, L. C. R.; VIEIRA, R. F. V.; AGOSTINI-COSTA, T. S. Caracterização da polpa de *Butia capitata*. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 30, p. 820-822, 2008.
- FONSECA, R. S.; SIMÕES, M. O. M. Biologia Reprodutiva de *Butia capitata* (Mart.) no norte de Minas Gerais. In: CONGRESSO DE ECOLOGIA DO BRASIL, 7., 2005, Caxambu. **[Anais eletrônicos...]** Caxambu: Sociedade de ecologia do Brasil, 2005. Disponível em:< <http://www.ib.usp.br/viiceb/organizacao.html>> Acesso em: 18 jan. 2018
- FONSECA, R. S; RIBEIRO, L. M; SIMÕES, M. O. M; MENINI, G. C. O; JESUS, F. M.; REIS, S. B. Morfometria da flor e inflorescência de *Butia capitata* (Mart) Becc. (Arecaceae) em diferentes fases de desenvolvimento, no cerrado de Montes Claros -MG. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, p. 657-659, 2007.
- FORERO, D. C.; HORMAZA, P.; ROMERO, H. M. Phenological growth stages of African oil palm (*Elaeis guineensis*). **Annals of Applied Biology**, v. 160, p. 56-65, 2012.
- FOURNIER, L. A. Un método cuantitativo para La medición de características fenológicas en árboles. **Turrialba**, v. 24, n. 4, p. 422-423, 1974.

- FRANCHI, G. G.; NEPI, M.; PACINI, E. Partially hydrated pollen: taxonomical distribution, ecological and evolutive significance. **Plant Systematics and Evolution**, v. 234, n. 1-4, p. 211–227, 2002.
- GUILHERME, F. A. G.; VASCONCELOS, E. I.; COELHO, C. P.; RESSEL, K.; BATISTA, N. T. F.; SOUZA, L. F. Vegetative and reproductive phenology of *Butia purpurascens* Glassman (Arecaceae) under the effects of leaf harvesting. **Braz. J. Biol.**, v. 75, n. 1, p. 75-85, 2015.
- HANNA, W. W.; TOWILL, L. E. Long-Term Pollen Storage. **Plant Breeding Review**, v.13, p. 179-207, 1995.
- INMET - INSTITUTO NACIONAL DE METEOROLOGIA. **Estações automáticas**. Disponível em: <<http://www.inmet.gov.br/portal/index.php?r=estacoes/estacoesautomaticas>>. Acesso em: 17 jan. 2018.
- KEARNS, C. A.; INOUE, D. W. **Techniques for pollination biologists**. Niwot: University Press, 1993.
- LIMA, V. V. F.; SILVA, P. A. D.; SCARIOT, A. **Boas práticas de manejo para o extrativismo sustentável do coquinho azedo**. Brasília, DF: Embrapa Recursos Genéticos e Biotecnologia, 2010.
- LEGROS, S.; MIALET-SERRA, I.; CALIMAN, J. P.; SIREGAR, F. A.; CLÉMENT-VIDAL, A.; DINGKUHN, M. Phenology and growth adjustments of oil palm (*Elaeis guineensis*) to photoperiod and climate variability. **Annals of Botany**, v. 104, p. 1171-1182, 2009.
- LEITMAN, P.; SOARES, K.; HENDERSON, A.; NOBLICK, L.; MARTINS, R. C. **Arecaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. [Rio de Janeiro]: Jardim Botânico do Rio de Janeiro, 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB15704>>. Acesso em: 18 jul. 2017.
- LOPES, R. M.; SILVA, J. P.; VIEIRA, R. F.; SILVA, D. B.; GOMES, I. S.; AGOSTINI-COSTA, T. S. Composição de ácidos graxos em polpa de frutas nativas do cerrado. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 34, p. 635-640, 2012.
- LORA, J.; OTEYZA, M. A. P.; FUENTETAJA, P.; HORMAZA, J. I. Low temperature storage and in vitro germination of cherimoya (*Annona cherimola* Mill.) pollen. **Scientia Horticulturae**, v. 108, p. 91-94, 2006.
- MERCADANTE-SIMÕES, M. O.; FONSECA, R. S.; RIBEIRO, L. M.; NUNES, Y. R. F. Biologia reprodutiva de *Butia capitata* (Mart.) Beccari (Arecaceae) em uma área de cerrado no norte de Minas Gerais. **Unimontes Científica**, v. 8, p. 143-149, 2006.
- MORTAZAVI, S. M. H.; ARZANI, K.; MOIENI, A. Optimizing Storage and *In vitro* Germination of Date Palm (*Phoenix dactylifera*) pollen. **Journal of Agricultural Science and Technology**, v. 12, p. 181-189, 2010.
- MOURA, R. C.; LOPES, P. S. N.; BRANDÃO JUNIOR, D. S.; GOMES, J. G.; PEREIRA, M. B. Biometria de frutos e sementes de *Butia capitata* (Mart.) Beccari (Arecaceae), em vegetação natural no Norte de Minas Gerais, Brasil. *Biota Neotropica*, v. 10, p. 415-419, 2010.
- NADOT, S.; ALAPETITE, E.; BAKER, W. J.; TREGGAR, J. W.; BARFOD, A. S. The palm family (Arecaceae): a microcosm of sexual system evolution. **Botanical Journal of the Linnean Society**. v. 182, p. 376-388, 2016.
- OSTROROG, D. R. V.; BARBOSA, A. A. A. Biologia reprodutiva de *Geonoma brevispatha* Barb. Rodr. (Arecaceae) em mata de galeria inundável em Uberlândia, MG, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 32, n. 3, p. 479-488, 2009.
- PALLAS, B.; MIALET-SERRA, I.; ROUAN, L.; CLÉMENT-VIDAL, A.; CALIMAN, J-P.; DINGKUHN, M. Effect of source/sink ratios on yield components, growth dynamics and structural characteristics of oil palm (*Elaeis guineensis*) bunches. **Tree Physiology**. v. 33, p. 409–424, 2013.
- PERERA, P. I. P.; HOCHER, V.; WEERAKOON, L. K.; YAKANDAWALA, D. M. D.; FERNANDO, S. C.; VERDEIL, J. L. Early inflorescence and floral development in *Cocos nucifera* L. (Arecaceae: Arecoideae). **South African Journal of Botany**, v. 76, p. 482-492, 2010.

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

ROSA, L.; CASTELLANI, T. T.; REIS, A. Biologia reprodutiva de *Butia capitata* (Martius) Beccarivar.odorata (Palmae) na restinga do município de Laguna, SC. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 21, p. 281-287, 1998.

SOUZA, A. P. R. Desempenho agrônômico do coquinho azedo em cinco safras. 2016. 48 f. Dissertação (Mestrado em Produção Vegetal) – Instituto de Ciências Agrárias, Universidade Federal de Minas Gerais, Montes Claros, 2016.

SOUZA, M. M.; PEREIRA, T. N. S.; MARTINS, E. R. Microsporogênese e microgametogênese associadas ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em maracujazeiro amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* degener). **Ciência e Agrotecnologia**, v. 26, n. 6, p. 1209-1217, 2002.

TIGHE, M. E. **Manual de recolección y manejo de polen de pinus tropicales y subtropicales procedentes de rodales naturales**. 1. ed. Raleigh, NC, USA: NC State University, 2004. 20 p.

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

WOITTIEZ, L. S.; WIJK, M. T. V.; SLINGERLAND, M.; NOORDWIJK, M. V.; GILLER, K. E. Yield gaps in oil palm: A quantitative review of contributing factors. **European Journal of Agronomy**, v. 83, p. 57-77, 2017.

ZAPATA, T. R.; ARROYO, M. T. K. Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest in Venezuela. **Biotropica**, v. 10, p. 221-230, 1978.