

Aspectos da biologia floral relacionados à produção de frutos de pinha (*Annona squamosa* L.)

Generosa Sousa Ribeiro^{1*}, Abel Rebouças São José², Tiyoko Nair Hojo Rebouças² e Cláudio Lúcio Fernandes Amaral³

¹Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Estrada do Bem Querer, Km 4, 45083-900, Vitória da Conquista, Bahia, Brasil.

²Departamento de Fitotecnia e Zootecnia, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, Bahia, Brasil.

³Departamento de Ciências Biológicas, Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, Bahia, Brasil.

*Autor para correspondência. E-mail: genna@uesb.br

RESUMO. O Estado da Bahia é o maior produtor de pinha no Brasil, apresentando uma área produtiva que ultrapassa os 5.400 ha. Para a boa produtividade e qualidade dos frutos, estudos relacionados à polinização são fundamentais e fornecem dados que subsidiam programas de fitomelhoramento. Este trabalho objetivou o estudo de aspectos da biologia floral relacionados à produção de frutos de pinha. O estudo foi realizado em dois pomares comerciais da região Sudoeste do Estado da Bahia, compreendendo: observação do desenvolvimento floral; coleta e armazenamento dos grãos de pólen em duas condições de temperatura; análise da viabilidade e germinabilidade do pólen e polinização manual em cinco horários após a coleta do pólen. O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. Os resultados demonstraram que a antese ocorre às 5 horas da manhã nas condições edafoclimáticas avaliadas; os grãos de pólen permanecem viáveis por até 12 horas, permitindo a produção de frutos com peso comercial.

Palavras-chave: viabilidade, polinização, pegamento de frutos.

ABSTRACT. *Floral biology aspects related to the production of sugar apple (*Annona squamosa* L.) fruits.* The State of Bahia is the largest producer of sugar apple in Brazil, reaching a production area of 5,400 ha. In order to ensure good fruit productivity and quality, studies related to pollination are essential, and provide data that subsidize phyto-improvement programs. The objective of this work was the study of floral biology aspects linked to the production of sugar apple. The study was carried out in two commercial orchards in the Southwestern region of the State of Bahia, Brazil, comprising the following steps: observation of the morphological characteristics of the flowers; collection and storage of pollen grains under two temperature conditions; analysis of the viability and pollen germinability; and manual pollination at five different times after collecting the pollen grains. The experimental design used was entirely randomized blocks. The results provided by the regression analysis and by the variance analysis enabled the conclusion that: Anthesis occurs at 5 a.m., and that the pollen grains preserved in a refrigerator (5 to 7°C) are still viable up to 12 hours after collected, enabling the production of fruits with commercially accepted weight.

Key words: viability, pollination, fruit set.

Introdução

A família das anonáceas é composta por plantas nativas de regiões tropicais e subtropicais, dentre elas, algumas do gênero *Annona* são frutíferas e de interesse comercial, como a pinha (*A. squamosa* L.), a graviola (*A. muricata* L.), a cherimola (*A. cherimola* Mill.) e a atemóia (*A. squamosa* x *A. cherimola*) (São José, 1997; Ferreira, 1997; Silva *et al.*, 2001; Dias, 2003).

No Brasil, dentre as anonáceas, a pinha é a espécie mais cultivada, juntamente com a graviola (Donadio, 1997). Sua produção comercial tende a

crescer em áreas irrigadas do Nordeste, cujo clima é bastante positivo para o sucesso da cultura, pois favorece sua produção na entressafra, quando acompanhada de um manejo que utiliza técnicas apropriadas de plantio, poda, adubação e polinização. O Estado da Bahia detém o título de maior produtor de pinha do país, com uma área que ultrapassa 5.400 ha (Nogueira, 2002; Kill e Costa, 2003; Sousa, 2005).

Dentre as técnicas de manejo para a cultura, a polinização artificial é definitivamente uma das mais

importantes, uma vez que a autofecundação é insignificante para o gênero *Annona* (Pereira *et al.*, 2003). Em trabalho realizado por Rubi (1997), em que foi avaliado o grau de competência das técnicas de polinização artificial em anonáceas, os resultados obtidos superaram os dados de trabalhos que avaliaram a polinização natural. Para Lemos *et al.* (1999), apesar de a floração da pinha apresentar grande quantidade de flores, o pegamento de frutos é muito pequeno por causa da baixa polinização dos carpelos. Estes autores estimaram que apenas 5 a 10% dos frutos são formados, considerando o total de flores. Eles concluíram que, para a cultura da pinheira, é necessário o aprimoramento de técnicas de polinização artificial para melhor e maior produção comercial.

Para obtenção de sucesso na aplicação das técnicas de polinização artificial, a biologia floral da pinheira deve receber atenção especial, principalmente os estudos da viabilidade e da germinabilidade dos grãos de pólen, que são características associadas à formação de sementes e, conseqüentemente, frutos com boa formação e padrão comercial.

Visando ao aprimoramento do manejo da cultura da pinha, no que diz respeito à polinização artificial para fornecer dados que subsidiem programas de fitomelhoramento e que auxiliem produtores a aumentar a sua produção comercial, o presente trabalho objetivou o estudo de aspectos da biologia floral relacionados à produção de frutos de pinha (*A. squamosa*).

Material e métodos

O experimento foi dividido em três etapas: determinação da antese, estudo da viabilidade e germinabilidade dos grãos de pólen em duas condições de armazenamento e pegamento de frutos em função de duas condições de armazenamento dos grãos de pólen. Os trabalhos foram conduzidos em dois pomares comerciais, localizados na região sudoeste do Estado da Bahia: Tanhaçu (13°58'40" lat. Sul e 41°16'42" de long. Oeste) e Caraíbas (14°46' de lat. Sul e 41°16' de long. Oeste).

Visando à determinação da antese, estágio feminino e masculino das flores, foi realizado o estudo da abertura floral. Os botões florais, completamente fechados, foram marcados com duas horas de antecedência ao início das observações. As observações e coleta de dados tiveram início às 17 horas, período em que 100% das flores se encontravam fechadas. As observações foram realizadas de duas em duas horas, até as flores atingirem o estágio funcionalmente pistiladas. A

partir desse período, foram realizadas observações de uma em uma hora, até as flores atingirem o estágio funcionalmente estaminadas.

O estudo da viabilidade (coloração de material genético) e da germinabilidade (emissão de tubos polínicos) foi realizado em duas condições de armazenamento do pólen. Foram coletadas, às 17 horas, 500 flores em estágio funcionalmente pistiladas. O pólen foi coletado às 5 horas da manhã, ou seja, uma hora após as flores atingirem o estágio funcionalmente estaminadas. O pólen resultante da coleta foi dividido em partes iguais e disposto em recipientes plásticos que, depois de fechados com tampa plástica, foram identificados como "pólen refrigerado" e "pólen ambiente". O frasco identificado como "pólen ambiente" foi armazenado em uma prateleira em condição de temperatura ambiente, em torno de 25°C, enquanto o pólen identificado como "pólen refrigerado" foi armazenado na geladeira, com uma temperatura entre 5 a 7°C.

Às 5 horas da manhã, foram realizados os primeiros testes de viabilidade e germinação. Os horários posteriores de avaliação consistiram em 12, 24, 48 e 72 horas após a coleta, tanto para o pólen submetido à temperatura ambiente quanto para o pólen refrigerado.

Para a avaliação da viabilidade dos grãos de pólen, foi adaptada a técnica descrita por Linsley e Cazier (1963), que consistiu na coloração dos grãos de pólen, dispostos sobre lâmina de vidro, com carmim acético a 2%. O delineamento experimental para os testes de viabilidade foi o inteiramente casualizado, utilizando-se 100 (cem) grãos de pólen por lâmina. Os grãos de pólen foram observados ao microscópio óptico, utilizando-se as objetivas de 10 e 40x. Foram considerados viáveis os grãos que apresentaram coloração.

No teste de germinação, foi utilizado o meio de cultura padrão descrito por Brewbaker e Kwack (1963). Após a semeadura do pólen, a placa de Petri foi mantida em condições de temperatura ambiente (25°C), conforme recomendações de Lorenzon e Almeida (1997). A análise foi realizada duas horas após a semeadura. Para a visualização do tubo polínico, utilizou-se a técnica adaptada, descrita por Almeida *et al.* (2004). O pólen, disposto na placa, foi coletado com uma espátula e colocado sobre uma lâmina de vidro, sendo acrescentada, sobre esta, uma gota de azul-de-amã a 1%. A lâmina foi levada ao microscópio óptico e foi feita a contagem de pólen germinado, com o auxílio da objetiva de 10x. Foram considerados germinados aqueles que apresentaram tubo polínico com o tamanho igual ou superior ao

grão de pólen.

O delineamento experimental adotado para os testes de viabilidade e germinação foi o inteiramente casualizado com 100 (cem) grãos de pólen por lâmina, escolhidos ao acaso para serem avaliados quanto à viabilidade e emissão de tubo polínico, totalizando dez lâminas.

A primeira polinização manual foi realizada uma hora após a coleta do pólen, ou seja, às 5 horas da manhã, com o auxílio de um pincel de pêlo de camelo número 12. Antes da polinização, foi realizado o teste de receptividade, conforme metodologia descrita por Vithanage (1984). Os horários posteriores de polinização consistiram em 12, 24, 48 e 72 horas após a coleta do pólen.

Os tratamentos consistiram em horários de polinização após a coleta do pólen (1; 12; 24; 48 e 72 horas) e condições de armazenamento (refrigerador e ambiente). O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com cinco tratamentos e 20 repetições.

Os frutos foram colhidos 110 dias após a polinização. Foi avaliado o peso dos frutos e das sementes, com o auxílio de uma balança digital, e determinou-se o número de sementes por fruto.

Para os testes de viabilidade e germinação dos grãos de pólen, foi realizada a análise de regressão e, para avaliar a relação da viabilidade e a germinação com a produção de sementes e peso dos frutos, foi realizada a análise de variância; e a comparação das médias foi feita pelo teste Tukey, a 5% de probabilidade. As análises foram realizadas com o auxílio do Sistema de Análises Estatísticas e Genéticas (Saeg), versão 9.0.

Resultados e discussão

Determinação da antese

A antese ocorreu às 5 horas da manhã em 90% das flores marcadas, determinando-se o horário em que a flor atinge o estágio funcionalmente pistilado na região estudada. Este resultado está de acordo ao trabalho realizado por Pereira *et al.* (2003), segundo os quais, a partir das 5 horas da manhã, a flor em estágio feminino já se encontra apta para receber os grãos de pólen. Os autores verificaram uma taxa de 83,33% de pegamento de frutos nas flores polinizadas nesse horário.

A passagem do estágio feminino para o estágio masculino ocorreu por volta das 4 horas da manhã em 100% das flores que se encontravam no estágio feminino no dia anterior, sendo esta fase caracterizada pela abertura completa das flores e deiscência das anteras. Carvalho *et al.* (2000)

relataram que o estágio masculino nas espécies protogínicas das anonáceas ocorre entre 3 e 6 horas da manhã por ocasião do início da liberação dos grãos de pólen, o que também foi observado nesta pesquisa.

Esses dados são de extrema importância para auxiliar produtores que, costumeiramente, na região estudada, dão início às atividades de polinização manual entre 6 e 7 horas da manhã. De acordo com esse estudo, o horário de polinização poderia iniciar às 5 horas da manhã, aproveitando melhor o pólen disponível.

Viabilidade dos grãos de pólen

A análise de regressão para o número de grãos de pólen viáveis demonstrou efeito linear decrescente, tanto para o pólen armazenado em condição ambiente como para o armazenado em temperatura de 5 a 7°C (Figura 1). Estes resultados indicam que, à medida que avançam as horas, após a coleta do pólen, seus grãos vão, gradativamente, perdendo sua viabilidade. No experimento ora apresentado, até o último horário avaliado (72 horas após a coleta), uma quantidade significativa de grãos (65%) ainda se encontrava viável.

Segundo Alexander (1980), a análise da viabilidade dos grãos de pólen se baseia em sua coloração e na integridade do núcleo. Para Almeida *et al.* (2004), grãos de pólen viáveis devem apresentar-se coloridos pelo carmim acético e com formato regular; aqueles que não se encontrar nessa condição devem ser considerados inviáveis.

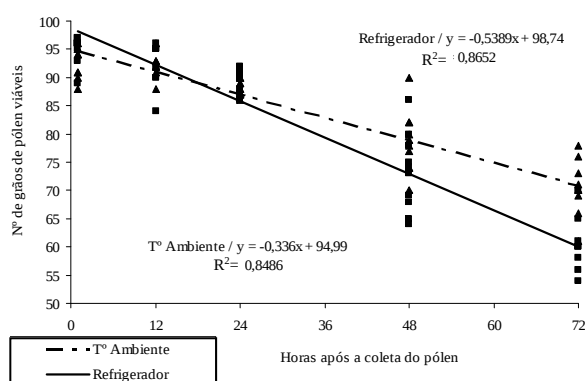


Figura 1. Número de grãos de pólen viáveis em função das horas após a coleta e em armazenamento em condições de refrigeração e de temperatura ambiente.

Emissão de tubos polínicos

Os grãos de pólen apresentaram taxa de germinação abaixo de 40% no primeiro horário de incubação, ocorrendo queda significativa nos horários posteriores. Os dados da germinação dos tubos polínicos (Tabela 2) apresentam uma queda

significativa quando comparados aos dados de viabilidade (Tabela 1). Soares-Scott *et al.* (2002), ao realizar testes de viabilidade e germinação de pólen de coco, observaram que, apesar da alta viabilidade dos grãos de pólen, a emissão de tubos polínicos foi relativamente baixa, levando-os à conclusão de que as condições de processamento e estocagem diminuem a capacidade de emissão de tubos polínicos, mesmo sendo considerados viáveis. Já, Souza *et al.* (2002) sugeriram que a viabilidade polínica expressa o potencial de germinação, mas não sua ocorrência.

Tabela 1. Viabilidade de grãos de pólen da pinheira em função de seu armazenamento em refrigerador, temperatura ambiente e horas após a coleta do pólen.

	Horas após a coleta do pólen				
	1 hora	12 horas	24 horas	48 horas	72 horas
'Pólen refrigerado' (%)	93	85	79	70	65
'Pólen ambiente' (%)	90	81	72	67	53

Tabela 2. Germinabilidade de grãos de pólen da pinheira em função de seu armazenamento em refrigerador, temperatura ambiente e horas após a coleta do pólen.

	Horas após a coleta do pólen				
	1 hora	12 horas	24 horas	48 horas	72 horas
'Pólen refrigerado' (%)	32,2	13,1	0	0	0
'Pólen ambiente' (%)	39,2	36,6	11,6	6,4	1,4

A análise de regressão para o número de grãos de pólen viáveis e germinados (Figuras 1 e 2) demonstrou efeito linear decrescente, tanto para o pólen armazenado em condições ambiente, como para o armazenado em temperatura entre 5 a 7°C.

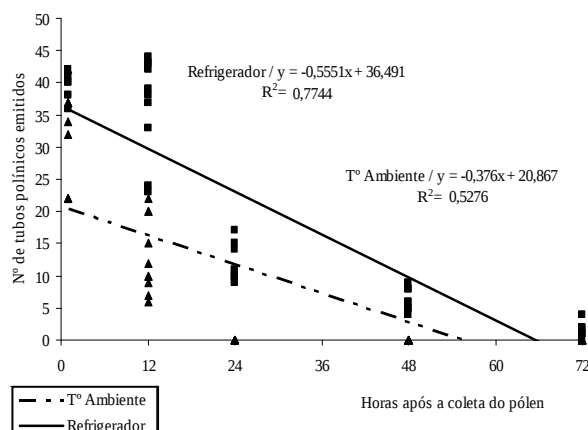


Figura 2. Número de tubos polínicos em função dos horários após a coleta do pólen e em duas condições de temperatura.

Número de sementes e peso dos frutos

A média de sementes por fruto produzidas pela polinização realizada no primeiro horário após a coleta do pólen armazenado em condições ambiente

e de refrigeração, foi, respectivamente, de 52 e 81,6%. Levando em consideração os dados dos trabalhos realizados por Dias (2003), entende-se que esse número de sementes indica boa qualidade do fruto da pinheira. Já a polinização realizada 12 horas após a coleta do pólen, nas duas condições de temperatura, apresentou as médias de produção de 33,6 e 46,4% de sementes, respectivamente, e também são aceitáveis comercialmente (Souza, 2005).

O peso dos frutos variou em função dos horários de polinização, indicando que quanto maior o tempo de armazenamento do pólen, menor será o peso dos frutos. Neste caso, não é interessante, do ponto de vista econômico, que o pólen seja armazenado por mais de 12 horas. Lederman e Bezerra (1997) afirmaram que os grãos de pólen armazenados por mais de um dia perdem sua viabilidade.

Com os resultados obtidos pela análise de variância, relacionados às características de número de sementes produzidas nos dois primeiros horários de polinização, não houve influência do pólen armazenado em condições ambiente. Por outro lado, houve melhor interação entre o pólen armazenado em condições de temperatura entre 5 e 7°C e o primeiro horário de polinização, resultando na maior produção de sementes do experimento. Já, o peso total dos frutos não sofreu influência dos horários de polinização, nem do modo como o pólen foi acondicionado, tanto no ambiente quanto em temperatura de 5 a 7°C, conforme os dados demonstrados na Tabela 3.

Tabela 3. Influência de dois horários e duas condições de armazenamento do pólen da pinheira no número de sementes e peso (g) de frutos de pinha.

Condições	Número de sementes	
	1 hora	12 horas
'Pólen refrigerado'	81,6 aA	46,4 bB
'Pólen ambiente'	52,6 bB	33,6 bB

Condições	Peso de frutos	
	1 hora	12 horas
'Pólen refrigerado'	321,63 aA	144,22 bB
'Pólen ambiente'	238,63 bB	227,02 bB

Médias seguidas de mesma letra maiúscula na linha e minúscula na coluna, não diferem entre si pelo teste Tukey a 5% de significância.

Conclusão

A antese das flores da pinheira ocorre às 5 horas da manhã; as flores da pinheira alcançam estágio funcionalmente pistilado a partir das 5 horas da manhã, e estágio funcionalmente estaminado a partir das 4 horas da manhã, nas condições edafoclimáticas de Caraíbas Estado da Bahia; quando armazenados em refrigerador, os grãos de pólen da pinheira permanecem viáveis por até 12 horas, podendo produzir frutos aceitáveis comercialmente.

Referências

- ALEXANDER, M.P.A. Versatile stain for pollen fungi, yeast and bacteria. *Stain Techn.*, Baltimore, v. 55, p. 13-18, 1980.
- ALMEIDA, O.S. *et al.* Estudo da biologia floral e mecanismos reprodutivos do alfavacão (*Ocimum officinalis* L.) visando ao melhoramento genético. *Acta Sci. Biol. Sci.*, Maringá, v. 26, n. 3, p. 343-348, 2004.
- BREWBAKER, J.L.; KWACK, B. H. The essential role of calcium ion in pollen germination and tube growth. *Am. J. Bot.*, St. Louis, v. 50, p. 859-865, 1963.
- CARVALHO, P.S. *et al.* Avaliação de genótipos de pinheira (*Annona squamosa* L.) no Vale do Rio Moxotó III – características de crescimento e produção – 1992 a 1997. *Rev. Bras. Frutic.*, Jaboticabal, v. 22, n. 1, p. 27-30, 2000.
- DIAS, N.O. *Crescimento vegetativo, florescimento e frutificação da pinheira (Annona squamosa L.) em função de comprimentos de ramos podados*. 2003. Dissertação (Mestrado em Agronomia)–Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, 2003.
- DONADIO, L.T. Situação atual e perspectiva das ananáceas. In: SÃO JOSÉ, A.R. *et al.* *Anonáceas, produção e mercado (pinha, graviola atemóia e cherimólia)*. Vitória da Conquista: DFZ/Uesb, 1997. p. 07-19.
- FERREIRA, F.R. Germoplasma de anonáceas. In: SÃO JOSÉ, A.R. *et al.* *Anonáceas, produção e mercado (pinha, graviola atemóia e cherimólia)*. Vitória da Conquista: DFZ/Uesb, 1997. p. 142-149.
- KILL, L. H. P.; COSTA, J.G. Biologia floral e sistema de reprodução de *Annona squamosa* L. (Annonaceae) na região de Petrolina-PE. *Ciência Rural*, Santa Maria, v. 33, n.5, p.851- 856, setembro/outubro. 2003.
- LEDERMAN, I.E.; BEZERRA, J.E.F. Indução e polinização de anonáceas. In: SÃO JOSÉ, A.R. *et al.* (Ed.). *Anonáceas, produção e mercado (pinha, graviola atemóia e cherimólia)*. Vitória da Conquista: DFZ/Uesb, 1997. p. 142-149.
- LEMOES, E.E.P. *et al.* Artificial pollination of soursop (*Annona muricata* L.), to improve fruit yield and quality. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE ANONÁCEAS, 2., 1999, Chiapas. *Anais...* Chiapas: Tuxtla Gutiérrez, 1999. p. 97.
- LINSLEY, E.C.; CAZIER, M.A. Further observation on bees which take pollen from plants of genus *Solanum*. *Pan Pacific Entomol.*, San Francisco, v. 39, n. 1, p. 1-18, 1963.
- LORENZON, M.C.A.; ALMEIDA, E.C. Viabilidade e germinação do pólen de linhagens parentais de cebola híbrida. *Pesq. Agropecu. Bras.*, Brasília, v. 32, n. 4, p. 345-349, 1997.
- NOGUEIRA, A.S. *et al.* Épocas de poda e métodos de polinização na cultura da pinha (*Annona squamosa* L.) no norte do Estado do Rio de Janeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17., Belém. *Anais...* 2002.
- PEREIRA, M.C.T. *et al.* Efeito de horários de polinização artificial no pegamento e qualidade de frutos de pinha (*Annona squamosa* L.). *Rev. Bras. Frutic.*, Jaboticabal, v. 25, n. 2, p. 203-205, 2003.
- RUBI, M.A. *et al.* Polinización manual en chirimoya y su relación con producción y características del fruto. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE ANONÁCEAS, 1, 1997, Chapingo, *Memórias...* Chapingo: Universidad Autónoma de Chapingo, p.19-27.
- SÃO JOSÉ, A.R. Aspectos generables de las anonaceas em Brasil. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE ANONÁCEAS, 1., 1997, Chapingo. *Anais...* Universidad Autónoma del Chapingo, 1997. p. 92-103.
- SILVA, A. C. *et al.* Efeito de métodos de polinização no pegamento de frutos e na produção da pinheira. *Magistra*, Cruz das Almas, v. 13, n. 2, p. 73-76, 2001.
- SOARES-SCOTT, M.D. *et al.* Análise de viabilidade do pólen para auxiliar o programa de produção de híbridos de coqueiro (*Cocos nucifera* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17., 2002, Belém. *Anais...* Belém: [s.n.], 2002. p. 32-33.
- SOUZA, M.M. *et al.* Microsporogênese e micropametogênese associadas ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em maracujazeiro-amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *Flavicarpa* Degener). *Cienc. Agrotec.*, Lavras, v. 26, n. 6, p. 1209-1217, 2002.
- SOUZA, S.A. Cultura da pinheira: caracterização de frutos, germinação e atributos de qualidade requeridos pelo sistema de comercialização. 2005. Dissertação (Mestrado em Ciencias Agrarias)-Escola de Agronomia, Universidade Federal da Bahia. Cruz das Almas, 2005.
- VITHANAGE, H.I.M.V. Pollen-stigma interactions: development and cytochemistry of Stigma Papillae and their secretions in *Annona squamosa* L. (Annonaceae). *Ann. Bot.*, Londres, v. 54, p. 153-167, 1984.

Received on July 30, 2007.

Accepted on October 18, 2007.