



**UESB**

**ASPECTOS DA BIOLOGIA FLORAL RELACIONADOS À  
PRODUÇÃO DE SEMENTES E FRUTOS DE PINHA (*Annona  
squamosa* L.)**

**GENEROSA SOUSA RIBEIRO**

**2006**

GENEROSA SOUSA RIBEIRO

**ASPECTOS DA BIOLOGIA FLORAL RELACIONADOS À  
PRODUÇÃO DE SEMENTES E FRUTOS DE PINHA (*Annona  
squamosa* L.)**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia - UESB - *Campus* de Vitória da Conquista - BA , para obtenção do título de Mestre em Agronomia - Área de concentração em Fitotecnia.

Orientador:

Cláudio Lúcio Fernandes Amaral, *D.Sc.*

Co-orientadora:

Tiyoko Nair Hojo Rebouças, *D.Sc.*

VITÓRIA DA CONQUISTA  
BAHIA - BRASIL  
2006

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DO SUDOESTE DA BAHIA**  
**PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM AGRONOMIA**  
**Área de concentração em Fitotecnia**  
**Campus de Vitória da Conquista – BA**

**DECLARAÇÃO DE APROVAÇÃO**

**Título: Aspectos da Biologia Floral Relacionados à Produção de Sementes e Frutos de Pinha (*Annona squamosa* L.)**

**Autora:** Generosa Sousa Ribeiro

**Orientador:** Cláudio Lúcio Fernandes Amaral

**Co-orientadora:** Tiyoko Nair Hojo Rebouças

Aprovada como parte das exigências para obtenção de Título de MESTRE EM AGRONOMIA, ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM FITOTECNIA, pela Banca Examinadora:

Prof. Cláudio Lúcio Fernandes Amaral, *D.Sc*, UESB

Prof. Cláudio Roberto da Nóbrega Amorim, *D.Sc*, UEFS

Prof. Abel Rebouças São José, *D.Sc*, UESB

Data de realização: 23 de fevereiro de 2006

Estrada do Bem Querere, Km 04 – Caixa Postal 95 – Fone/fax: (77) 3424  
8731 – Vitória da Conquista – Bahia – CEP: 45083-900 – e-mail:  
mestrado@uesb.br

A Cristo Jesus

Que, subsistindo em forma de Deus, não se considerou igual a Deus, coisa a que se devia apegar. Antes, a si mesmo se esvaziou, assumindo a forma de servo, tornando-se semelhante aos homens. E, reconhecido em figura humana, humilhou-se a si mesmo tornando-se obediente até a morte, e morte de cruz! Tudo por amor a mim.

**DEDICO**

## AGRADECIMENTOS

Ao meu Deus, criador de todas as coisas, inclusive das anonáceas pelo grande amor inexplicável;

À UESB pela grande oportunidade que me deu de fazer esta Pós-graduação;

Ao meu esposo, Josineto pelo amor e dedicação;

Ao professor Dr. Cláudio Lúcio Fernandes Amaral, pelo apoio;

À professora Dr<sup>a</sup> Tiyoko Nair Hojo Rebouças, pela credibilidade;

Ao professor Dr. Abel Rebouças São José, pelo apoio incondicional;

À querida professora Dr<sup>a</sup> Eliane Marisa Dortas Maffei, cientista preciosa da UESB;

A minha querida amiga Dr<sup>a</sup> Ana Maria dos Santos Rocha, pelo incentivo e por acreditar no meu potencial;

A Job e família, pela gentileza em ter cedido sua propriedade para a realização dos experimentos.

Ao querido colega Obertal da Silva Almeida, pela amizade e auxílio constante;

Ao colega Odair Lacerda, pela valiosa contribuição nas análises estatísticas;

A todos os colegas da Biofábrica da UESB, em especial a Nilma Dias e Marinez Bonfim, pela colaboração;

Aos meus familiares, pelo incentivo;

À secretária do Mestrado, Angélica pela colaboração durante todo o curso.

Os meus mais sinceros agradecimentos.

“... as misericórdias do Senhor são as causas de não sermos consumidos. Porque as suas misericórdias não têm fim, renovam-se a cada manhã. Eu sei em quem tenho crido e também sei que é poderoso pra fazer mais do que tudo que pedimos ou pensamos... mais do que tudo que sonhamos... muito mais para mim e pra você...”

KLEBER LUCAS

## RESUMO

RIBEIRO, G. S. **Aspectos da biologia floral relacionados à produção de sementes e frutos de pinha (*Annona squamosa* L.)**. Vitória da Conquista – BA: Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2006. 67p. (Dissertação – Mestrado em Agronomia, Área de Concentração em Fitotecnia)\*.

As anonáceas são plantas nativas de regiões tropicais e subtropicais. Espécies do gênero *Annona* foram introduzidas no Brasil por volta de 1626, destacando-se a pinha (*A. squamosa* L.). Devido à boa adaptação às condições edafoclimáticas, a cultura da pinha difundiu-se em muitas regiões do país. Atualmente, o estado da Bahia tem se destacado como maior produtor, chegando a um total de 5.400 ha. Para garantir boa produtividade e qualidade dos frutos, levando em consideração o aprimoramento do manejo correto da cultura no que diz respeito à polinização artificial e para o fornecimento de dados que subsidiem programas de fitomelhoramento, principalmente auxiliando produtores da região sudoeste do estado da Bahia, o presente trabalho objetivou o estudo de aspectos da biologia floral, ligados à produção de sementes de *A. squamosa* L., relacionados às características de frutos com valor comercial. O estudo foi realizado em dois pomares comerciais da Região Sudoeste do Estado da Bahia, compreendendo as seguintes etapas: observação das características morfológicas das flores por 48 horas, visando a determinação da antese; coleta e armazenamento dos grãos de pólen em duas condições de temperatura (ambiente e entre 5°C e 7°C); análise da viabilidade dos grãos de pólen através da técnica de coloração por carmim acético a 2%; análise da germinabilidade dos grãos de pólen, utilizando meio de cultura básico acrescido com sacarose a 10% e polinização manual em 5 horários após a coleta dos grãos de pólen (1h, 12h, 24h, 48h e 72h). O delineamento experimental utilizado foi o inteiramente casualizado. Os resultados fornecidos pela análise de regressão e pela análise de variância permitiram concluir que: os grãos de pólen conservados em geladeira (5°C a 7°C) em até 12 horas após a coleta ainda estão viáveis, permitindo a produção de frutos com número de sementes e peso aceitáveis comercialmente, sendo às 5 horas da manhã o melhor horário para realização da polinização manual nas condições edafoclimáticas de Caraíbas/BA. Para as condições edafoclimáticas de Tanhaçu/BA, a antese ocorre às 5 horas da manhã.

**Palavras-chave:** viabilidade, grãos de pólen, polinização, pegamento de frutos

---

\*Orientador: Cláudio Lúcio Fernandes Amaral, *D.Sc.*, UESB e Co-orientadora: Tiyoko Nair Hojo Rebouças, *D.Sc.*, UESB.

## ABSTRACT

RIBEIRO, G. S. **Floral biology aspects related to the production of sugar apple seeds and fruits. (*Annona squamosa* L.)**. Vitória da Conquista – BA: Southwestern State University of Bahia, 2006. (Dissertation – Master's in Agronomy, Concentration Area in Phytotechny)\*.

Annonaceae are plants native to tropical and subtropical regions. Species from the genus *Annona* were introduced in Brazil around 1626, mainly sugar apple (*A. squamosa* L.). Due to the good adaptation under the edafoclimatic conditions, the sugar apple culture spread in many regions of the country. Nowadays, the State of Bahia has excelled as the greatest producer, reaching a total of 5.400 ha. In order to ensure good fruit productivity and quality, taking into account the correct culture management improvement as far as the artificial pollenization is concerned, to provide data which support phyto-improvement programs and mainly to help producers from the southwestern region of the State of Bahia, the current paper aimed at the study of floral biology aspects linked to the production of *A. squamosa* L. seeds and related to the characteristics of fruits with a commercial value. The study was carried out in two commercial orchards in the southwestern region of the State of Bahia comprising the following steps: observation of the morphological characteristics of the flowers during 48 hours in order to determine the anthesis; collection and storage of the pollen grains into two temperature conditions (ambient and between 5 and 7°C); analysis of the germinability of pollen grains by using basic culture medium increased with sucrose at 10% and manual pollenization in 5 times after collecting the pollen grains (1h, 12h, 24h, 48h and 72h). The experimental design used was the randomized one. The results provided by the regression analysis and by the variance analysis enabled the conclusion that: the pollen grains preserved in a refrigerator (5 to 7°C) until 12 hours after the collection, are still viable enabling the production of fruits with commercially accepted seed number and weight, 5 hours a.m. being the best time for manual pollenization in the edafoclimatic conditions of Caraíbas/BA. Under the edafoclimatic conditions of Tanhaçu/BA, the anthesis occurs at 5 hours a.m.

**Key-words:** viability, pollen grains, fruit take

---

\*Advisor: Cláudio Lúcio Fernandes Amaral, *D.Sc.*, UESB and Co-advisor: Tiyoko Nair Hojo Rebouças, *D.Sc.*, UESB.



## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1</b> - Botão floral de <i>Annona squamosa</i> L. ....	19
<b>Figura 2</b> - Pistilos e estames de <i>A. squamosa</i> L. ....	19
<b>Figura 3</b> - Flor de <i>A. squamosa</i> L. em fase feminina .....	21
<b>Figura 4</b> - Flor de <i>A. squamosa</i> L. em fase masculina .....	21
<b>Figura 5</b> - Polinização manual .....	37
<b>Figura 6</b> - Sacos de papel envolvendo as flores polinizadas .....	37
<b>Figura 7</b> - Horário da antese em flores de pinha. Tanhaçú - Bahia .....	40
<b>Figura 8</b> - Flor no estágio feminino/5 horas da manhã .....	40
<b>Figura 9</b> - Flor no estágio masculino/4 horas da manhã.....	41
<b>Figura 10</b> - Horário de passagem para a fase masculina em flores de pinha Tanhaçú – Bahia.....	41
<b>Figura 11</b> - Grãos de pólen de pinha viáveis corados .....	43
<b>Figura 12</b> - Grãos de pólen de pinha viável (A) e inviável (B) .....	43
<b>Figura 13</b> - Número de grãos de pólen viáveis em função dos horários após a coleta e sob armazenamento em condições de temperatura ambiente.....	46
<b>Figura 14</b> - Número de grãos de pólen viáveis em função dos horários após a coleta e sob armazenamento em condições de temperatura entre 5 a 7°C .....	46
<b>Figura 15</b> - Percentual de germinação (GPA) e viabilidade (VPA) dos grãos de pólen armazenados em condições de temperatura ambiente.....	49
<b>Figura 16</b> - Percentual de germinação (GPG) e viabilidade (VPG) dos grãos de pólen armazenados em condições de temperatura entre 5 a 7°C.....	49

<b>Figura 17</b> - Aspecto geral de grãos de pólen de pinha com germinação de tubo polínico.....	50
<b>Figura 18</b> – Tubos polínicos emitidos 1 hora após a coleta do pólen armazenado sob condições de temperatura ambiente.....	50
<b>Figura 19</b> -Tubos polínicos emitidos 1 hora após a coleta do pólen sob condições de temperatura entre 5 a 7°C.....	51
<b>Figura 20</b> - Cultura de pólen 24 horas após a coleta submetida à temperatura entre 5 a 7°C.....	51
<b>Figura 21</b> - Número de tubos polínicos em função dos horários após a coleta do pólen e sob duas condições de temperatura. Caraíbas – Bahia.....	52
<b>Figura 22</b> - Número de tubos polínicos em função dos horários após a coleta do pólen e sob duas condições de temperatura. Caraíbas – Bahia.....	52

## LISTA DE TABELAS

- Tabela 1** - Características químicas do solo da área experimental às profundidades de 0-20cm e 20-40cm em Tanhaçú – Bahia.....28
- Tabela 2** - Características químicas do solo da área da segunda fase do experimento à profundidade de 0-20cm em Caraíbas – Bahia.....30
- Tabela 3** - Características físicas do solo da área da segunda fase do experimento à profundidade de 0-20cm em Caraíbas – Bahia.....31
- Tabela 4** - Viabilidade de grãos de pólen de pinheira em função de seu armazenamento em geladeira e horas após a coleta. Caraíbas – Bahia.....44
- Tabela 5** - Números de grãos de pólen viáveis de pinha em função de seu armazenamento em temperatura ambiente e horas após a coleta. Caraíbas – Bahia.....44
- Tabela 6** - Germinação de pólen de *A. squamosa* conservado em duas condições de temperatura e quatro horários de incubação. Caraíbas – Bahia.....48
- Tabela 7** - Influência de dois horários e duas condições de armazenamento de pólen no número de sementes em frutos de pinha produzidos em Caraíbas – Bahia.....55
- Tabela 8** - Influência de dois horários e duas condições de armazenamento de pólen no peso dos frutos de pinha produzidos em Caraíbas – Bahia.....55

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	14
2. REFERENCIAL TEÓRICO .....	16
2.1 Aspectos gerais das anonáceas .....	16
2.2 Caracterização botânica .....	17
2.3 Melhoramento genético em anonáceas .....	23
2.4 Polinização .....	24
2.5 Classificação dos frutos para o mercado .....	26
3. MATERIAL E MÉTODOS .....	27
3.1 Área experimental da 1º etapa do experimento .....	27
3.2 Tratos culturais .....	27
3.3 Condução da primeira etapa do experimento .....	29
3.4 Área experimental da segunda etapa do experimento .....	29
3.5 Tratos culturais .....	32
3.6 Condução da segunda etapa do experimento .....	32
3.7 Condução da terceira etapa do experimento .....	34
3.8 Coleta de dados correspondente à terceira etapa do experimento .....	38
3.9 Análises estatísticas .....	38
4. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	39
Determinação da antese .....	39
Viabilidade dos grãos de pólen .....	42
Emissão de tubos polínicos .....	45
Número de sementes e peso de frutos em função dos horários de polinização e pólen armazenado .....	53
5. CONCLUSÕES .....	56
6. REFERÊNCIAS .....	57
7. APÊNDICE .....	68

## 1. 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 cherimólia (*A. cherimola* MILL.) e a atemóia (híbrido de *A. squamosa* com a *A. cherimolia*).

Em muitas regiões do planeta, o cultivo da pinha (*A. squamosa* L.) abrange grande importância econômica. No Brasil, é a espécie mais cultivada, juntamente com a graviola (*A. muricata* L.). 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.

Para Lederman e Bezerra (1997), as regiões mais quentes, pouco chuvosas e com estação seca bem definida são as mais favoráveis para o cultivo da pinha. Esses são aspectos muito importantes para garantir a boa produtividade e a qualidade dos frutos; entretanto, o tamanho e a aparência – fatores determinantes do preço da pinha – dependem fundamentalmente da técnica de polinização utilizada, razão pela qual esta é considerada a principal característica para a sua produção comercial.

Segundo Nogueira (2002), a cultura da pinha no Brasil apresenta boas perspectivas econômicas. Mas, apesar de ser uma alternativa promissora para os fruticultores de algumas regiões do Estado da Bahia, existem poucos trabalhos e, conseqüentemente, poucas informações relacionadas às características agrônômicas e biológicas dessa fruta, o que desfavorece a produção em larga escala e com qualidade. Assim, o desenvolvimento de estudos que forneçam subsídios para o correto manejo da cultura e que auxiliem programas de melhoramento genético são extremamente necessários para garantir a produtividade e a longevidade dos

pomares. Conforme Junqueira (2004), o retorno econômico no cultivo da pinha depende desses fatores, já que são altos os custos para implantação e manutenção dos pomares.

Segundo Peña e outros (2002), a ausência de polinizadores resulta em uma produção menor que 5% da capacidade da planta. 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 e outros, 2003). Essas técnicas compreendem três principais métodos de polinização manual: bomba de polinização; pólen pré-colhido e pólen colhido do dia (SILVA, 2000). Porém, quando utilizadas inadequadamente, os frutos não conseguem atingir o tamanho, peso e a forma aceitável no mercado.

Para obtenção de sucesso na aplicação das técnicas de polinização artificial, aspectos da biologia floral devem receber uma atenção especial, principalmente os estudos da viabilidade e da germinabilidade dos grãos de pólen, correlacionando à formação de sementes nos frutos.

O aprimoramento do manejo correto da cultura da pinha, no que diz respeito à polinização artificial, e o fornecimento de dados que subsidiem programas de melhoramento genético podem auxiliar produtores a aumentar a sua produção comercial. Assim, este trabalho objetiva o estudo de aspectos da biologia floral – como a viabilidade, germinação do pólen e produção de sementes de *A. squamosa* L. – relacionados às características de frutos com valor comercial nas condições climáticas dos municípios de Tanhaçu e Caraíbas, ambos localizados no Sudoeste do Estado da Bahia.

## 2. REFERENCIAL TEÓRICO

### 2.1 Aspectos gerais das anonáceas

As anonáceas são plantas que têm origem em países tropicais e subtropicais (SÃO JOSÉ, 1997; FERREIRA, 1997). São classificadas botanicamente como pertencentes ao Reino Vegetal; Divisão Angiospermae; Classe Dicotyledoneae; Ordem Magnoloales e Família Annonaceae. Entre as espécies dessa família, destacam-se: a pinha (*A. squamosa* L.), a graviola (*A. muricata* L.), a cherimólia (*A. cherimola* MILL.) e a atemóia (híbrido de *A. squamosa* com a *A. cherimola*), sendo estas da Subfamília Annonoideae (MANICA, 1997).

As espécies do gênero *Annona* foram introduzidas no Brasil, por volta de 1626, pelo Conde de Miranda (ARAÚJO e outros, 1999).

Donadio (1997) afirmou que no cultivo dessas espécies há elevada importância econômica em muitas regiões do planeta, sendo a pinha e a graviola as mais cultivadas no Brasil, por serem frutos saborosos e comercialmente aceitáveis. O consumo da pinha se dá por meio de frutos frescos; já a graviola, além de ter seus frutos consumidos *in natura*, tem sua polpa industrializada para a produção de sucos e sorvetes.

O cultivo comercial da pinha tende a crescer à medida que se conhece melhor sua cultura. Questões como o plantio, a poda, a polinização e a adubação, associadas a irrigação, temperatura e tipo de solo são determinantes para o sucesso da produtividade. Entretanto, segundo Sousa (2005), as tecnologias utilizadas pela maioria dos produtores ainda são carentes de pesquisas científicas que lhes confirmem técnicas mais adequadas para o manejo da cultura.

Segundo Melo (2001), a estimativa de áreas cultivadas de *A. squamosa* L. no Brasil chega a 10.000 ha. Nogueira (2002) diz que as condições edafoclimáticas no país são as responsáveis pelo bom

desenvolvimento da cultura da pinha, aumentando a perspectiva de mercado. Com uma área que ultrapassa os 5.400 ha, o estado da Bahia detém o título de maior produtor de pinha do país. As áreas baianas ocupantes das maiores plantações abrangem a região da Chapada Diamantina Setentrional e Submédio e Baixo São Francisco (SOUSA, 2005; KIILL e COSTA, 2004; DIAS, 2003). Na região Sudoeste, a produção é representada, principalmente, pelos municípios de Anagé, Caraíbas e Tanhaçu.

## **2.2 Caracterização botânica**

A espécie *A. squamosa* L. apresenta plantas lenhosas, com porte arbóreo ou arbustivo variando de 4 a 6 m de altura (KIILL e COSTA, 2003). Suas folhas, de cor verde-clara, são lanceoladas e medem de 6 a 7 cm de comprimento. O fruto é caracterizado como um sincarpo ovóide ou cordiforme, com 5 a 10 cm de diâmetro e peso de até 800 g. É formado por numerosas sementes de coloração preta, cobertas por uma polpa branca de sabor agradável (FERREIRA, 1997; MANICA, 1997; GOMES, 1972; DONADIO e outros, 1998).

*A. squamosa* apresenta flores que variam de 20 a 35 mm de comprimento, 0,68 g de peso, 8,2 mm de diâmetro e cerca de um pedicelo de 1 a 2 cm; na sua base larga ocorre a inserção de 3 sépalas, recobrimdo parcialmente a base das 3 pétalas externas, grandes e carnosas (Figura 1). As pétalas do verticilo interno, característica singular das espécies desse gênero, são completamente atrofiadas. As três pétalas unem-se na base, adquirindo um aspecto triangular (DIAS, 2003; SILVA, 2000).

Na parte basal das três pétalas, encontram-se os órgãos sexuais, formados por vários estames, distribuídos ao redor de um grande número de pistilos inseridos em uma estrutura com formato de cúpula (Figura 2), formada pelo pedicelo (VIDAL HERNANDEZ, 1993).

Quando as flores ainda estão fechadas, os pistilos apresentam uma coloração marrom claro e tornam-se brilhantes quando ocorre a maturidade



sexual, possibilitando a receptividade do estigma mesmo antes da abertura da flor. Nessa fase de maturidade, o estigma libera um líquido viscoso que serve para prender o grão de pólen no momento da polinização (GARDIAZABAL e ROSENBERG, 1993).

O gineceu é sincárpico e unilocular, constando de grande número de carpelos concrecentes e monospermos, podendo variar de 50 a 150. Tal variação ocorre em consequência do tamanho da flor. Os carpelos são fecundados individualmente e, posteriormente, soldam-se pelo tecido conectivo intercarpelar. Os estames, em número de 150 a 200 por flor, apresentam filetes curtos e duas anteras bitecas (KAVATI e PIZZA JÚNIOR, 1997) e liberam os grãos de pólen a partir de algumas horas depois da antese.

Geralmente, o sistema de reprodução nos vegetais superiores, como é o caso das anonáceas, ocorre sexuadamente. No sistema sexual autogâmico, os gametas masculinos e femininos de um mesmo organismo fundem-se, dando origem aos seus descendentes e caracterizando a autofecundação. Já no sistema alogâmico ocorre o cruzamento entre organismos distintos, embora sejam da mesma espécie. No sistema misto, pode ocorrer tanto a autogamia como a alogamia (WENDT, 2005).



**Figura 1** - Botão floral de *Annona squamosa* L. - Ribeiro (2005).

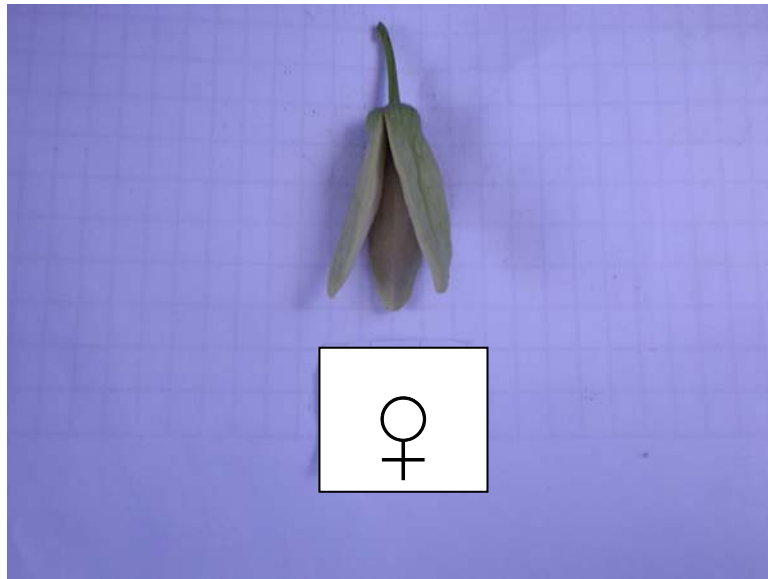


**Figura 2** - Pistilos e estames de *Annona squamosa* L. - Ribeiro (2005).

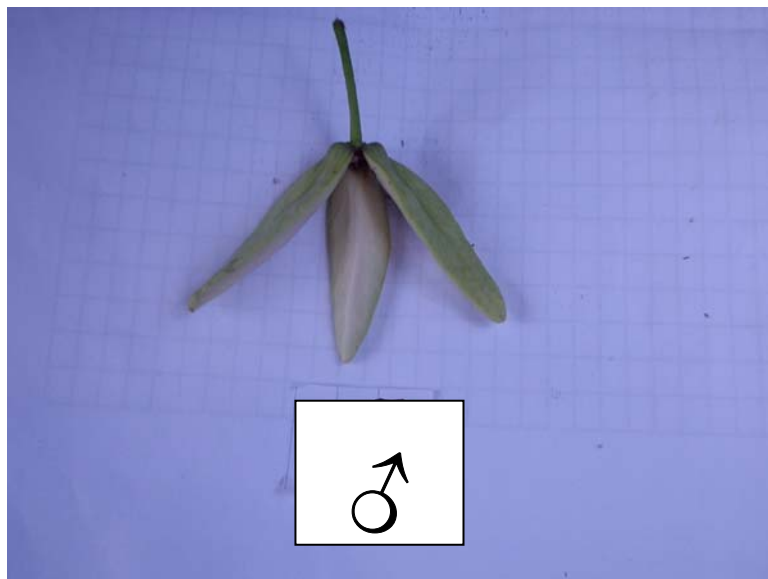
Nas anonáceas, o sistema de reprodução é caracterizado como alogâmico. Embora suas flores sejam anatomicamente perfeitas, Kavati (1997) diz que o amadurecimento sexual das partes masculina e feminina em diferentes momentos caracteriza o fenômeno da dicogamia, nesse caso, a dicogamia protogínica, que se dá quando a maturidade sexual das estruturas reprodutoras femininas ocorre antes e a das estruturas reprodutoras masculinas depois. Nessas condições, é quase nula a ocorrência da autofecundação (LEDERMAN e BEZERRA, 1997; ARAÚJO e outros, 1999). De acordo com o exposto por Vidal Hernandez (1993), a inexistência de autopolinização ocorre devido ao grande espaço de tempo entre a maturidade sexual feminina e a masculina, associadas ao formato anatômico das flores, que não favorece a polinização pelo vento ou por insetos maiores, como as abelhas. Esse mesmo fenômeno ocorre com as flores da atemóia (Tokunaga, 2000) e da cherimólia (BONAVENTURE, 1999; AGUSTIN e ALVITER, 1996; SCHOEDER, 1995). Assim, o sistema reprodutivo dessas espécies influencia diretamente sua baixa produtividade.

As flores têm surgimento nos ramos de crescimento anual. Elas podem ser laterais, terminais ou opostas às folhas, surgindo durante todo o período da floração. Frequentemente, as flores novas aparecem em direção ao ápice dos ramos e as flores da porção basal dos ramos desenvolvem-se por completo (LEDERMAN e BEZERRA, 1997).

Segundo Kumar e outros, (1977) a fase floral da pinha dura aproximadamente 35 dias. No início de seu desenvolvimento, a gema floral, que tem um formato anatômico oval, se diferencia da gema vegetativa, que é larga. Logo após essa fase, ocorre uma lentidão no crescimento do botão floral. Essa lentidão é superada pela aceleração, quando o botão alcança cerca de 15mm. Ao passo que se desenvolve, o botão floral adquire cor verde opaco (LEDERMAN e BEZERRA, 1997).



**Figura 3** - Flor de *A. squamosa* L. em fase feminina - Ribeiro (2005).



**Figura 4** - Flor de *A. squamosa* L. em estágio masculino-Ribeiro (2005).

O período de duração, que vai do aparecimento da gema até a pré-antese, ocorre entre 60 e 82 dias, conforme ESCOBAR e outros (1986). Para esses autores, a abertura floral – período no qual a flor se apresenta no estágio feminino – tem seu início a partir do topo das flores; seu desenvolvimento completo expõe os pistilos e os estames, devido à flexão que as pétalas fazem para baixo. Do início desse processo até a abertura total da flor leva-se mais ou menos um dia. As pétalas se desprendem da base e caem cerca de 2 a 3 dias após a abertura floral.

Os fatores climáticos da localidade onde a planta está inserida influenciam a ocorrência da abertura floral (CAVALCANTI, 1993), que compreende a fase em que é conferida à flor seu estágio feminino (Figura 3). Segundo Manica (1997), a antese ocorre da meia noite até as primeiras horas do dia. Mas, segundo Kiill e Costa, (2003), nas condições climáticas de Petrolina/Pernambuco, a antese ocorre aproximadamente às 17 horas; daí até o meio dia do dia seguinte, os estigmas estão receptivos aos grãos de pólen. Depois desse período, perdem a capacidade de receptividade (LEDERMAN e BEZERRA, 1997).

O estágio masculino da flor da pinha (Figura 4) tem seu início quando o estigma perde a receptividade e caracteriza-se no momento em que ocorre a deiscência das anteras. Essa fase geralmente se define entre as 4h e as 6h da manhã, permanecendo assim até as 10h da manhã (LEON, 1987; ARAÚJO e outros, 1999).

Para Kiill & Costa (2003), a duração da flor no estágio feminino acontece num período de 20 horas, igual à duração da flor no estágio masculino. Já para Peña e outros (2002), a fase masculina das flores da pinha só ocorre 24 horas após ter atingido o estágio feminino.

### **2.3 Melhoramento genético das anonáceas**

O estudo de aspectos da biologia floral, associado ao sistema reprodutivo das espécies vegetais, é de fundamental importância para dar base aos programas de melhoramento genético e conservação de germoplasma. Ferreira e outros (2004) dizem que o estudo do sistema reprodutivo delinea estratégias que otimizam a amostragem da variabilidade genética. Segundo Kiil e Costa (2003), é importante que os estudos da biologia floral das espécies de anonáceas ocorram localmente, devido às variações climáticas de região para região. Ainda segundo esses autores, os estudos servem como base para programas de fitomelhoramento.

Um dos aspectos da biologia floral mais importantes a serem avaliados em um programa de melhoramento é a viabilidade dos grãos de pólen, pois, de acordo com Sousa e outros (2002), eles são o material básico utilizado nas técnicas de hibridação.

De acordo com Donadio (1997b), na cultura da pinha não existem praticamente variedades melhoradas e as perspectivas para a seleção ou introdução de variedades são os principais pontos para a melhoria da espécie. Para Mahdeem (1990), dentre os objetivos do melhoramento das anonáceas estão a qualidade, a aparência, a consistência dos frutos, a produtividade e a viabilidade de pólen.

Segundo Melletti (2000), não há uma definição das variedades das anonáceas, com exceção da atemoia. Por esse motivo, nos cultivos, são identificadas apenas as espécies botânicas já conhecidas. Donadio (1998b) relata que, na maioria dos cultivos com fins comerciais, as plantas são propagadas através de sementes, fator positivo no que diz respeito à variabilidade genética. Segundo esse autor, as seleções são realizadas pelos próprios produtores e em alguns casos por instituições de pesquisa. Com relação à conservação de germoplasma, existem catalogadas cerca de 700 acessos (FERREIRA, 1997).

## 2.4 Polinização

Devido à anatomia e aos fenômenos fisiológicos das flores, entre eles o da dicogamia protogínica, e pela insuficiência de agentes polinizadores, tais como insetos ou ainda o vento, constata-se que a polinização natural da *A. squamosa* é praticamente nula. Por esses motivos, no cultivo comercial dessa espécie, a polinização artificial torna-se extremamente necessária.

Em trabalho realizado por Rubi (1997) foi avaliado o grau de competência das técnicas de polinização artificial em anonáceas de interesse comercial. Os resultados superaram os dados de trabalhos que avaliaram a polinização natural, como afirma o trabalho realizado por Lemos e outros (1999), segundo os quais, apesar da floração da pinha apresentar uma grande quantidade de flores, o pegamento de frutos é muito pequeno devido à baixa polinização dos carpelos. Esses mesmos autores estimaram que apenas 5 a 10% dos frutos são formados, considerando o total de flores. O número de sementes dos frutos de pinha varia de 50 a 150, em função do número de carpelos fecundados (NIETSCHE e outros, 2003).

Campos e outros (2004) realizaram trabalho com o objetivo de avaliar a influência da polinização natural comparada a outros métodos de polinização artificial, obtendo como resultado 0% de pegamento de frutos para os testes em que foi utilizada a autopolinização forçada. Cogez e Lyannaz (1996) dizem que a taxa de polinização natural comparada à artificial é nula.

As condições climáticas também influenciam diretamente o sucesso da polinização artificial. Segundo os relatos de Rosell e outros (1999), sob temperatura variando entre 20° C e 25° C, os tubos polínicos liberados pelos grãos de pólen demonstraram melhor desenvolvimento para a polinização da atemoia e da cherimolia. Por isso, sugeriram que essas temperaturas são também ideais para a cultura da pinha, uma vez que, para esta cultura, geralmente utilizam-se as mesmas técnicas de polinização da cherimólia.

Nesse contexto, segundo Silva (2000), para a polinização manual da pinha, faz-se necessária a coleta dos grãos de pólen, o que pode ocorrer das seguintes formas:

a) quando alcançam a fase feminina, as flores são coletadas, armazenadas em bandejas, dispostas em uma camada, e abrigadas em local fresco. Quando elas atingem a fase masculina, os grãos de pólen são coletados e levados para o campo; assim, as flores que se encontram no estágio fêmea são polinizadas, com o auxílio de um pincel número doze. Esta mesma técnica foi utilizada por Koga e outros (2000), sendo que as flores em estágio feminino foram colhidas a partir das 17 horas e espalhadas numa peneira de crivo fino sobre um papel de superfície lisa e guardadas em local seco. Na manhã seguinte, quando atingiram o estágio masculino, foram peneiradas e o pólen recolhido foi acondicionado em recipientes plásticos e levado para o campo. O pólen deve ser transportado para o campo numa caixa de isopor contendo gelo para manter a temperatura da geladeira (BONAVENTURE, 1999).

b) o pólen é coletado da mesma forma citada acima, mas, no momento apropriado, é colocado numa bombinha própria para realizar a polinização.

c) com a ajuda de um pincel número doze, o pólen é retirado de flores em fase masculina, sendo imediatamente transferido para flores que se encontram em fase feminina.

Bonaventure (1999) sugere, na polinização da cherimólia e da atemóia, que o pólen recolhido seja conservado em geladeira, em uma temperatura entre 3°C e 7°C; assim, pode ser utilizado até as 13 horas do dia seguinte. Já para Kagueama e outros (2000), o pólen recolhido pode ser armazenado por até dois dias; após esse período, perde sua viabilidade. A capacidade de emitir tubo polínico é determinante no sistema reprodutivo dos vegetais.



## **2.5 Classificação dos frutos para o mercado**

Kavati (1997) afirmou que existe uma grande variabilidade genética nos pomares comerciais, devido à propagação via semente. Como consequência, ocorrem variações anatômicas nos frutos, os quais são classificados por peso e tamanho antes de sua comercialização. O mesmo autor relatou que o padrão de peso comercializável dos frutos de pinha pode variar entre 600g (maior peso) e 215g (menor peso). Os frutos encontrados em feiras livres ou centrais de abastecimento geralmente fogem desse padrão. Em uma pesquisa realizada por Sousa (2005) nas Centrais de Abastecimento da Região Metropolitana de Salvador-BA, constatou-se que o peso médio dos frutos varia entre 350g e 200g. De acordo com esses relatos, sugere-se que as técnicas de polinização podem não estar sendo empregadas de forma adequada pelos produtores do estado, fazendo-se necessário o desenvolvimento de estudos os auxiliem, visando o aumento da produção e, principalmente, da qualidade dos frutos.

### **3. MATERIAL E MÉTODOS**

#### **3.1 Área experimental da primeira etapa do trabalho**

Nesta etapa, o experimento foi conduzido na Fazenda Fruta Pão, município de Tanhaçu, sudoeste do estado da Bahia, localizada a 13° 58' 40,4" de latitude sul e 41°16' 42,1" de longitude oeste de *Greenwich*, com 450m de altitude. O clima da localidade é classificado como semi-árido, com vegetação típica, temperatura média anual de 23°C e índice pluviométrico médio de 624mm/ano. Foram realizadas análises químicas do solo, cujos resultados se encontram na Tabela 1.

O experimento foi realizado em pomar comercial de pinha, com 06 anos de idade. As plantas da área experimental foram propagadas sexualmente, sendo, por isso, compostas por vários genótipos. A altura e a largura médias de todas as plantas apresentavam uniformidade, sendo 3m de altura, 3m de diâmetro de copa e 8cm de diâmetro de tronco a 0,20m acima do solo. O espaçamento entre as plantas foi de 7,0 x 3,5.

#### **3.2 Tratos culturais**

O pomar foi irrigado por microaspersão, sendo distribuídos 30 litros de água por hora, em um período de 3 horas diárias. A nutrição compreendeu uma aplicação de 30 litros de esterco de curral por planta após a poda e adubação por cobertura, composta por 60g de uréia e 45g de cloreto de potássio, aplicados de 20 em 20 dias. O controle de plantas daninhas foi feito pela aplicação do herbicida glifosato de acordo às indicações do produtor.



**Tabela 1** - Características químicas do solo da área experimental às profundidades de 0-20 cm e 20-40 cm, em Tanhaçu, Bahia 2005\*

Prof.** (cm)	pH H <sub>2</sub> O	Mg/ dm <sup>3</sup>	cmol <sub>c</sub> /dm <sup>3</sup> de solo									% g/dcm <sup>3</sup>			
			P	K+	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>3+</sup>	Al <sup>3+</sup>	H+	Na +	S.B	t	T	V	m	PST
0-20 cm	7,5	9	0,42	2,8	1,2	0,0	1,2	-	4,4	4,4	5,6	79	0	-	7
20-40 cm	6,7	4	0,38	2,0	0,9	0,0	1,4	-	3,3	3,3	4,7	70	0	-	4

\* Análises realizadas no Laboratório de solos da UESB – Vitória da Conquista- Bahia

\*\* Profundidade

### **3.3 Condução da primeira etapa do experimento**

Esta etapa foi realizada no período de 11 a 13 de março de 2005 e consistiu no estudo da abertura floral, ou antese, visando a determinação de horários das fases feminina e masculina. Para este estudo, foram marcados 100 (cem) botões florais, escolhidos aleatoriamente, em duas linhas do pomar, que se encontrava em condições homogêneas.

Os botões florais, completamente fechados, foram marcados duas horas antes do início das observações com fita fluorescente para facilitar a identificação durante a noite. As observações e coleta de dados tiveram início às 17h, período em que as flores ainda estavam fechadas. A partir de então, as leituras foram feitas de duas em duas horas até às 17h, durante dois dias, perfazendo um total de 48 horas de observação.

Os dados coletados nesse período consistiram em anotações das modificações morfológicas de cada flor. A temperatura média ambiente variou entre 25 e 26°C durante o período de observação.

### **3.4 Área experimental da segunda etapa do trabalho**

Esta etapa foi conduzida na Fazenda Umbuzeiro, município de Caraíbas, Sudoeste do Estado da Bahia, localizada a 14° 46' de latitude sul e 41° 16' de longitude oeste de *Greenwich*, com 440m de altitude. O clima da localidade é classificado como semi-árido, com vegetação característica; a temperatura média anual é de 23°C e o índice pluviométrico médio é de 690mm/ano, com período chuvoso de novembro a janeiro. O solo da região é classificado como Cambissolo eutrófico Tb. Foram realizadas análises químicas e físicas do solo, cujos resultados se encontram, respectivamente, nas Tabelas 2 e 3.

**Tabela 2** - Características químicas do solo da área da segunda fase do experimento à profundidade de 0-20 cm, em Caraíbas - Bahia 2005\*.

Prof.** (cm)	pH H <sub>2</sub> O	Mg/ dm <sup>3</sup>	cmol/dm <sup>3</sup> de solo									% g/dcm <sup>3</sup>			
			P	K+	Ca <sup>2+</sup>	Mg <sup>3+</sup>	Al <sup>3+</sup>	H+	Na	S.B	t	T	V	m	PST
0-20 cm	7,3	11	0,61	3,8	1,7	0,0	1,0	-	6,1	6,1	7,1	86	0	-	10

\* Análises realizadas no Laboratório de solos da UESB – Vitória da Conquista- Bahia

\*\* Profundidade

**Tabela 3** - Características físicas do solo da área segunda fase do experimento à profundidade de 0-20 cm, em Caraíbas - Bahia 2005\*.

Identificação Profundidade (cm)	Frações de amostras total %			Composição granulométrica (tfsa g/Kg)				Classe Textural
	Calhaus 200-20 mm	Cascalho 20-2 mm	Terra fina < 2 mm	Areia grossa 2- 0,20 mm	Areia fina 0,2-0,05 mm	Silte 0,05- 0,002 mm	Argila < 0,002 mm	
0-20	0	2,0	98,0	169	404	147	280	Franco Argilosa

\* Análises realizadas no Laboratório de solos da Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia – Vitória da Conquista- Bahia.

O experimento foi realizado em pomar comercial de pinha, com 6 anos de idade. As plantas da área experimental foram propagadas sexualmente, sendo compostas por vários genótipos. A altura e a largura de todas as plantas apresentavam uniformidade, sendo 2,5m de altura, 2,5m de diâmetro de copa e 8cm de diâmetro de tronco a 0,20m acima do solo. O espaçamento entre as plantas foi de 5,0 x 3,0 e a irrigação feita por microaspersão.

### **3.5 Tratos culturais**

Durante a condução do experimento, o pomar foi irrigado por microaspersão, sendo distribuídos 30 litros de água por hora durante 3 horas diárias, sendo que nos dias de chuva não se aplicou tal tratamento. A nutrição compreendeu uma aplicação de 30 litros de esterco de curral por planta após a poda e adubação por cobertura, composta de 60g de uréia e 45g de cloreto de potássio e aplicada de 20 em 20 dias. O controle de plantas daninhas foi feito pela aplicação do herbicida glifosato. Para o controle da broca, foram realizadas pulverizações com inseticidas, quando se fez necessário.

### **3.6 Condução da segunda etapa do experimento**

Esta etapa foi realizada no período de 10 a 14 de abril de 2005 e consistiu no estudo da viabilidade e germinabilidade dos grãos de pólen em função de seu armazenamento em dois ambientes. Para este estudo, foram coletadas, às 17 horas, 500 flores em fase fêmea, escolhidas aleatoriamente em duas linhas do pomar, que se encontrava em condições homogêneas. As flores foram trazidas do campo para o laboratório da Biofábrica da UESB (Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia), acondicionadas em recipientes plásticos e resfriadas com gelo dentro de um isopor.



As flores coletadas foram deixadas em uma bandeja plástica, em camada única, à temperatura ambiente. A partir das 4h da manhã seguinte, período em que as flores se encontravam no estágio masculino, foram coletados os grãos de pólen, que consistiu na retirada das pétalas e no peneiramento da parte central da flor, composta de estames e pistilos. O peneiramento foi realizado com o auxílio de uma peneira de crivo fino. O pólen resultante da coleta foi dividido em partes iguais e disposto em recipientes plásticos que, depois de fechados, foram identificados como 'pólen geladeira' e 'pólen ambiente'. O frasco identificado como 'pólen ambiente' foi armazenado em uma prateleira sob condição de temperatura ambiente, em torno de 25°C, enquanto o pólen identificado como 'geladeira' foi para a segunda prateleira da geladeira, com uma temperatura entre 5°C e 7 °C.

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

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, ou seja, 100 (cem) grãos de pólen por lâmina foram escolhidos ao acaso, totalizando 10 lâminas e 1.000 (mil) grãos de pólen. Os grãos de pólen foram observados ao microscópio óptico, utilizando-se as objetivas de 10x e 40x. As lâminas foram fotografadas com câmera digital de 4.5 mega pixel. A temperatura média ambiente variou entre 24,5°C e 25,5 °C nos 4 dias de realização do experimento.

No teste de germinação, foi utilizado o meio de cultura padrão descrito por Brewbaker e Kwack (1963), composto de 1,27 mM de  $\text{Ca}(\text{NO}_3)_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ ; 0,87 mM de  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ; 0,99 mM de  $\text{KNO}_3$ ; 1,62 mM de  $\text{H}_3\text{BO}_3$ ; 0,7% de Agar com pH 7,0. O meio foi distribuído em placas de Petri. Ao meio de cultura foi adicionada sacarose a 10%, de acordo a metodologia utilizada por Loguercio, (2002). Após a semeadura do pólen, a placa de Petri foi deixada sob 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 e outros (2004). Foi acrescentada uma gota de azul-de-amã a 1% na lâmina, sendo feita a contagem de pólen germinado.

O delineamento experimental 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 10 lâminas e 1.000 (mil) grãos de pólen. Os grãos de pólen foram observados ao microscópio óptico e fotografados com câmera digital de 4.5 mega pixel. A temperatura média ambiente variou entre 24,5°C e 25,5 °C nos 4 dias de realização do experimento.

### **3.7 Condução da terceira etapa do experimento**

Esta etapa aconteceu na mesma localidade da segunda (Caraíbas-BA), no período de 26 a 30 de maio de 2005, e consistiu na polinização manual, em função do pólen armazenado em dois ambientes. Para este estudo, também foram coletadas 500 flores em fase fêmea, escolhidas aleatoriamente em duas linhas do pomar, o qual se encontrava em condições homogêneas às 17 horas. As flores foram conduzidas do campo para a sede da fazenda e, uma vez

aconditionadas em vasilhas plásticas, foram resfriadas com gelo dentro de um isopor.

A seguir, flores coletadas foram dispostas em uma bandeja plástica, em camada única, à temperatura ambiente. A partir das 4 horas da manhã do dia seguinte, período em que as flores se encontravam no estágio masculino, foram coletados os grãos de pólen, que consistiu na retirada das pétalas e peneiramento da parte central da flor, composta de estames e pistilos. O peneiramento foi realizado com o auxílio de uma peneira de crivo fino. O pólen resultante da coleta foi dividido em partes iguais e disposto em recipientes plásticos, os quais foram fechados e identificados como 'pólen geladeira' e 'pólen ambiente'. O frasco identificado como 'pólen ambiente' foi armazenado em uma prateleira sob temperatura ambiente; já o pólen identificado como 'geladeira' foi para a segunda prateleira da geladeira, sob temperatura entre 5°C e 7 °C.

Logo após a coleta do pólen, ou seja, às 5 horas da manhã, foram realizadas as primeiras polinizações manuais, com o auxílio de um pincel de pêlo de camelo número 12 (Figura 5). Antes de introduzir o pincel com o pólen, foi realizado o teste de receptividade, conforme metodologia descrita por Vithanage (1984), que consistiu no toque suave do estigma de cada flor, já que os estigmas receptivos apresentam viscosidade. Somente os estigmas receptivos foram polinizados. Os horários posteriores de polinização consistiram em 12h, 24h, 48h e 72h após a coleta do pólen, tanto para o que ficou submetido à temperatura ambiente quanto para o que foi resfriado.

Os tratamentos consistiram em horários de polinização (1h; 12h; 24h; 48h e 72h) e condições de armazenamento (geladeira e ambiente) após a coleta do pólen. O delineamento experimental foi inteiramente casualizado, com 5 tratamentos e 20 repetições. Após a coleta dos dados, observou-se que não houve pegamento dos frutos nos horários de 24h, 48h e 72h. Assim, nas avaliações dos frutos, foram considerados apenas os dois primeiros horários: de

1h e 12h nas duas condições de armazenagem do pólen, utilizando-se o esquema fatorial 2x2.

Após a polinização, cada flor foi envolvida com um saco de papel (Figura 6) para evitar contaminação com pólen estranho. Os sacos foram retirados duas semanas após a polinização. O desbaste dos frutos foi realizado 20 dias após a polinização, restando em cada planta somente os frutos polinizados. A temperatura média ambiente variou entre 25,5 e 26°C no período do experimento.



**Figura 5** - Polinização manual - Ribeiro (2005).



**Figura 6** - Sacos de papel envolvendo as flores polinizadas - Ribeiro (2005).

### **3.8 Coleta de dados correspondente à terceira parte do experimento**

Cinco frutos por parcela foram colhidos ao acaso, 110 dias após a polinização, para análise física. As análises foram realizadas no Laboratório de Biotecnologia da UESB. Na análise física, foi avaliado o peso do fruto e das sementes, com o auxílio de uma balança digital. A contagem do número de sementes foi feita manualmente.

### **3.9 Análise estatística**

Para os testes de viabilidade e germinação dos grãos de pólen, foi utilizada a análise de regressão. Já para avaliar a viabilidade e a germinação dos grãos de pólen, associados à produção de sementes e ao peso comercial 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.

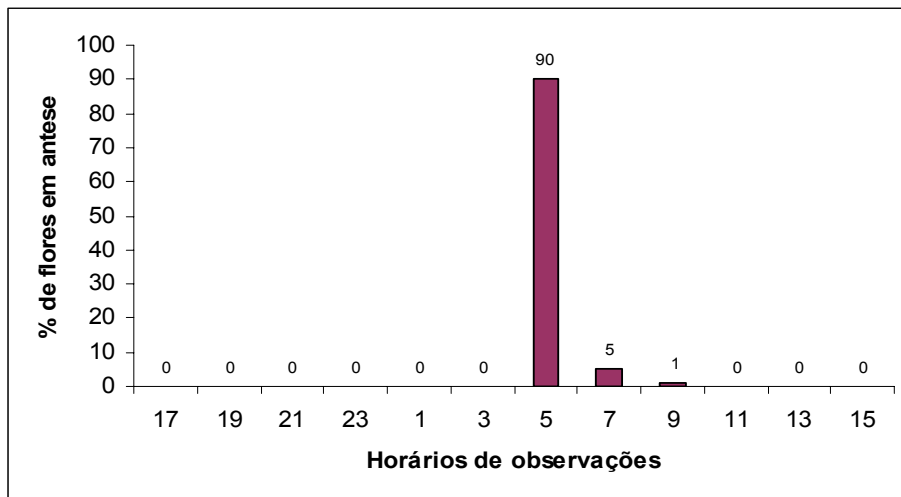
## 4. RESULTADOS E DISCUSSÃO

### 4.1 Determinação da antese

De acordo às observações realizadas na primeira etapa do experimento, a antese ocorreu às 5 horas da manhã em 90% das flores (Figura 7) marcadas, determinando-se assim o horário em que a flor atinge o estágio feminino na região (Figura 8). Esse resultado está de acordo ao trabalho realizado por Pereira e outros (2003), segundo os quais a partir das 5 horas da manhã a flor em estágio feminino já se encontra disponível para receber os grãos de pólen. Os referidos autores verificaram uma taxa de 83,33% de pegamento de frutos nas flores polinizadas nesse horário.

Resultados discordantes foram observados nas condições climáticas da Índia por Kumar e outros (1977). Eles observaram que a antese ocorre entre o período de 17:30h e 05:30h. Em trabalho realizado por Carvalho e Webber (2000), em flores de uma espécie da família das anonáceas, foi sugerido que a antese ocorre a partir das 2h da manhã. Já Kiil e Costa (2003) afirmaram que a antese para a espécie *Annona squamosa* é crepuscular ocorrendo por volta das 17h, o que está em desacordo com os resultados obtidos neste trabalho. Essas variações de horários da antese parecem estar vinculadas a questões climáticas, pois, segundo Lederman e Bezerra (1997), a abertura floral em *A. squamosa* pode variar de acordo ao clima, localidade e variedade.

A passagem do estágio feminino para o estágio masculino (Figura 9) ocorreu por volta das 4 horas da manhã em 100% das flores (Figura 10) que se encontravam no estágio feminino no dia anterior, sendo esta fase caracterizada pela abertura completa das flores e deiscência das anteras, a qual é a qual é bastante influenciada pelas condições climáticas da localidade.



**Figura 7** - Horário de antese em flores de pinha. Tanhaçú - BA, 2005.

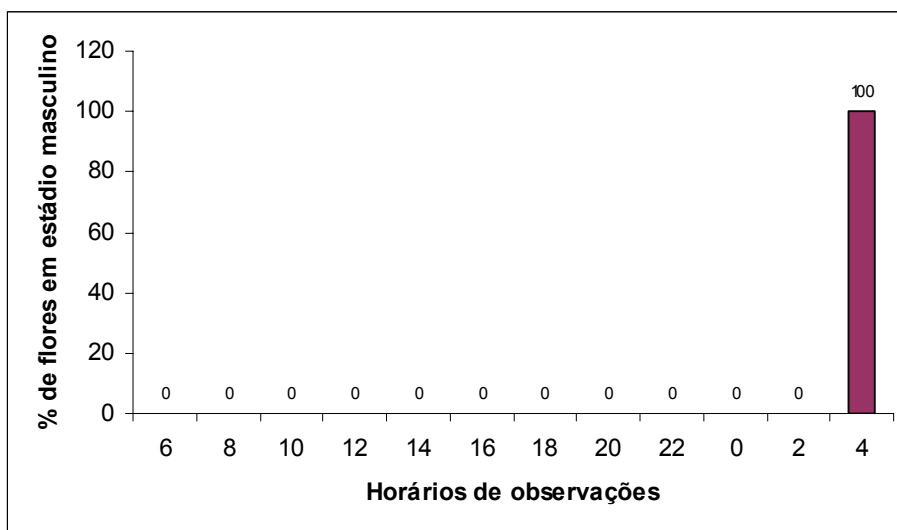


**Figura 8** - Flor no estágio feminino / 5 horas da manhã - Ribeiro (2005).





**Figura 9** - Flor no estágio masculino / 4 horas da manhã - Ribeiro (2005).



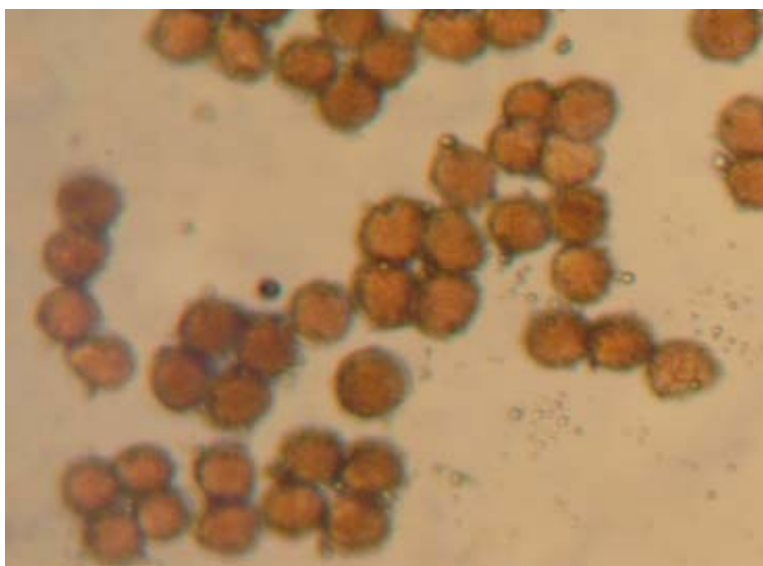
**Figura 10** - Horário de passagem para fase masculina em flores de pinha.  
Tanhaçú - BA, 2005.

As flores permaneceram no estágio masculino até, aproximadamente, as 11h da manhã, perdendo suas pétalas após esse período (Lederman e Bezerra, 1997). Carvalho e outros (2000) relataram que a fase masculina 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 foi também observado nesta pesquisa.

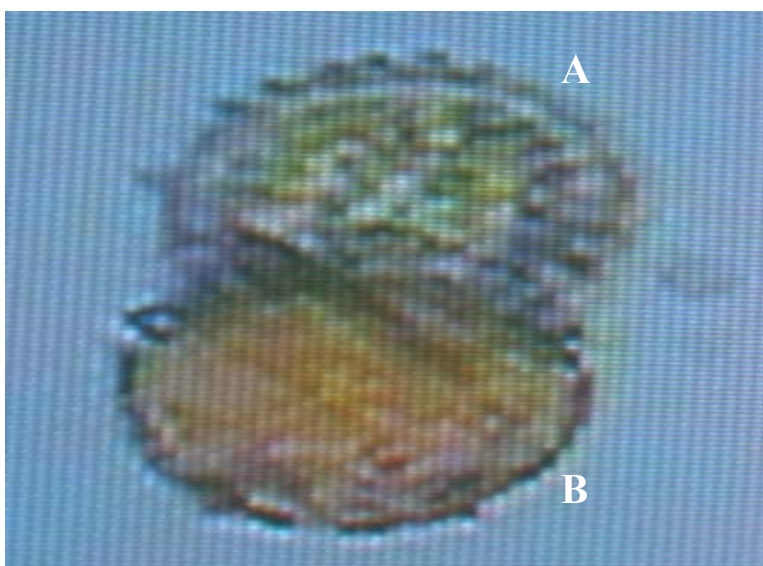
#### **4.2 Viabilidade dos grãos de pólen**

A viabilidade dos grãos de pólen de pinha está associada aos fatores climáticos da região onde está inserida. Entre esses fatores, a temperatura e a umidade exercem maior intervenção.

Segundo Alexander (1980), a análise da viabilidade dos grãos de pólen baseia-se em sua coloração (Figura 11) e na integridade do núcleo. Para Silva e outros (2001), grãos de pólen viáveis devem se apresentar coloridos pelo carmim acético e com formato regular; aqueles que não se encontrarem nessa condição devem ser considerados inviáveis (Figura 12). Com base nesses princípios, os resultados obtidos para o pólen de *A. squamosa* encontram-se nas Tabelas 4 e 5.



**Figura 11** - Grãos de pólen viáveis de pinha corados - Ribeiro (2005).



**Figura 12** - Grão de pólen de pinha inviável (A) e viável (B) – Ribeiro (2005).



**Tabela 4** - Viabilidade de grãos de pólen de pinheira em função de seu armazenamento em geladeira e horas após a coleta. Caraíbas - BA, 2005.

<b>Horas após a coleta do pólen/ armazenado em geladeira</b>					
	<b>1 hora</b>	<b>12 horas</b>	<b>24 horas</b>	<b>48 horas</b>	<b>72 horas</b>
<b>Pólen viável (%)</b>	93	85	79	70	65
<b>Pólen inviável (%)</b>	7	15	21	30	35

44

**Tabela 5** - Número de grãos de pólen viáveis de pinha em função de seu armazenamento em temperatura ambiente e horas após a coleta. Caraíbas -BA, 2005.

<b>Horas após a coleta do pólen/ armazenado sob condições ambiente</b>					
	<b>1 hora</b>	<b>12 horas</b>	<b>24 horas</b>	<b>48 horas</b>	<b>72 horas</b>
<b>Pólen viável (%)</b>	90	81	72	67	53
<b>Pólen inviável (%)</b>	10	19	28	33	47

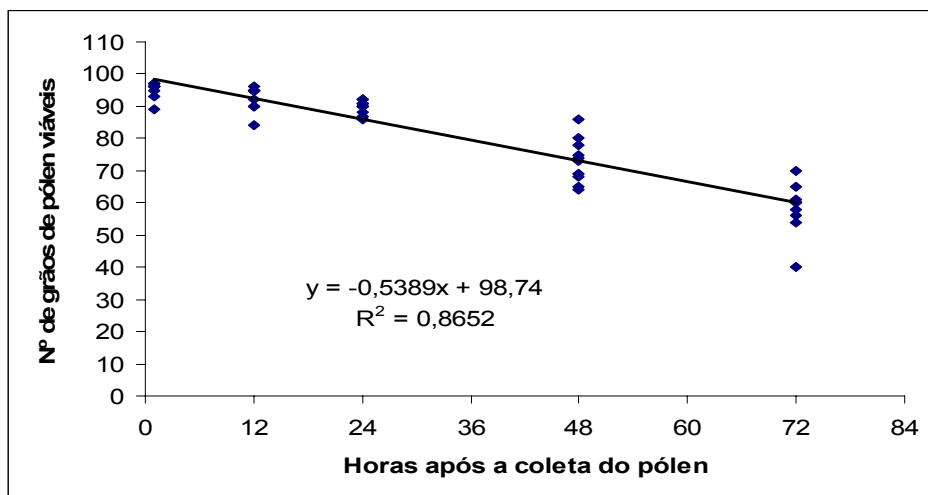
Os resultados para o teste de viabilidade demonstraram uma alta viabilidade nos três primeiros horários após a coleta do pólen, tanto para o que foi armazenado em geladeira como para o armazenado sob condições ambiente. Nos horários subseqüentes, houve uma queda nas taxas de viabilidade e os grãos de pólen, apesar de ainda viáveis, se encontravam deformados. Em trabalho realizado por Soares-Scott e outros, (2004) foi encontrada deformação em grãos de pólen e rompimento da parede celular, mesmo quando considerados viáveis por técnica de coloração. Para Biondo e Battistin, (2001), a alta viabilidade de grãos de pólen está relacionada ao alto potencial de fertilidade dos gametas masculinos.

A análise de regressão para o número de grãos de pólen viáveis (Figuras 13 e 14) demonstrou um efeito linear decrescente de forma lenta, tanto para o pólen armazenado em condições ambiente como para o armazenado em temperatura de 5°C a 7°C. Isso quer dizer 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 (72h após a coleta), uma quantidade significativa de grãos (mais de 50%) ainda se encontravam viáveis.

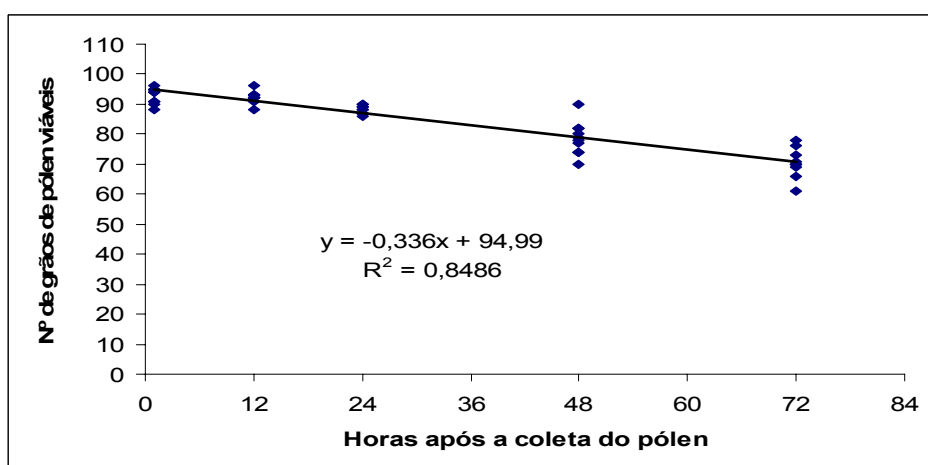
#### **4.3 Emissão de tubos polínicos**

Segundo Fávero (2004), a técnica de germinação dos grãos de pólen é considerada como forma direta de identificação de sua viabilidade, sendo a coloração uma forma indireta.

A germinação dos grãos de pólen de cada tratamento foi observada 2h após a inoculação no meio de cultura. Foi observado, em todos os tratamentos, um grande número de grãos de pólen com a membrana celular rompida. Silva (2000) relatou que as melhores temperaturas para o crescimento do tubo polínico são de 22°C e 30°C. Ainda conforme o autor, o crescimento do tubo polínico é comprometedor no pegamento dos frutos.



**Figura 13** - Número de grãos de pólen viáveis em função dos horários após a coleta e sob armazenamento em condições de temperatura ambiente. Caraíbas - BA, 2005.



**Figura 14** - Número de grãos de pólen viáveis em função dos horários após coleta e sob armazenamento em condições de temperatura entre 5 a 7°C. Caraíbas - BA, 2005.

Gomes e outros (2003) afirmaram que fatores como a temperatura, a umidade relativa do ambiente de armazenamento, bem como o grau de umidade dos próprios grãos de pólen, interferem na conservação dos mesmos. Azevedo e Pio (2002) acrescentam que o pH do meio de cultura onde

está sendo avaliada a emissão de tubos polínicos também exerce influência sobre seu crescimento. Ainda segundo esses mesmos autores, o crescimento do tubo submetido a condições *in vitro* geralmente não atinge o mesmo tamanho de quando cresce em condições naturais.

Esses relatos corroboram com os resultados encontrados na germinação, tanto dos grãos de pólen armazenado em geladeira quanto do pólen armazenado em condições ambientais; estes apresentaram taxa de germinação abaixo de 40% no primeiro horário de incubação, ocorrendo uma queda significativa nos horários posteriores (Tabela 6). Esses dados, quando comparados aos dados de taxa de viabilidade (Figuras 15 e 16), representam uma queda significativa na germinação de tubos polínicos. Soares-Scott e outros (2002), ao realizarem 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 e outros (2002) sugeriram que a viabilidade polínica expressa o potencial de germinação, mas não sua ocorrência.

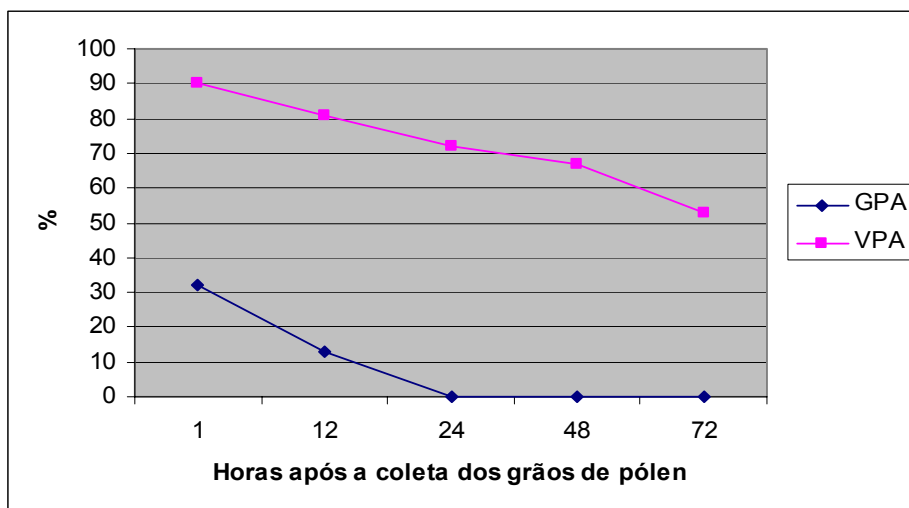
Para a contagem de tubos polínicos emitidos, foram considerados germinados os tubos duas vezes maiores que o grão de pólen (Figuras 17, 18, 19 e 20), conforme sugestão de Cavalcante e Bueno (2002).

A análise de regressão para o número de grãos de pólen germinados (Figuras 21 e 22) demonstrou um efeito linear decrescente, tanto para o pólen armazenado em condições ambiente como para o armazenado em temperatura entre 5°C a 7°C.

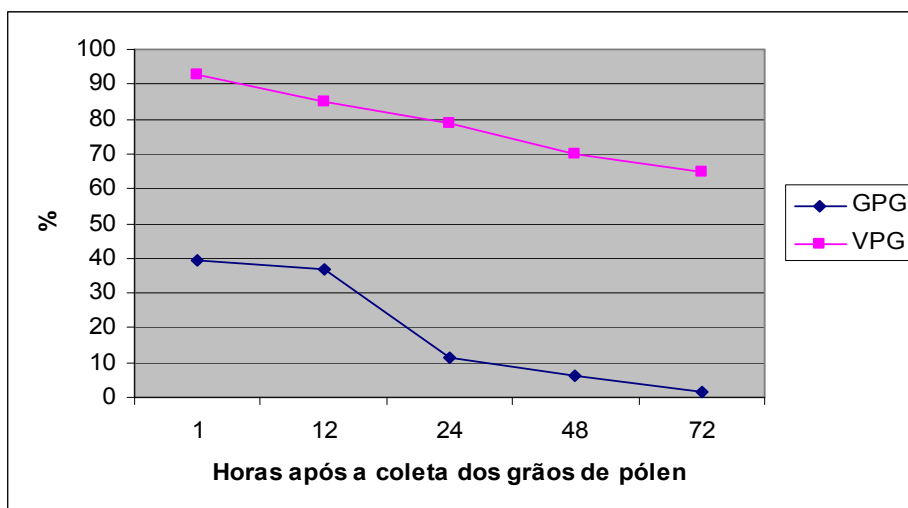


**Tabela 6** - Germinação de pólen de *A squamosa* L germinado e conservado em duas condições de temperatura em 4 horários de incubação. Caraíbas - Bahia, 2005.

<b>Horas após a coleta do pólen</b>					
<b>Condições</b>	<b>1 hora</b>	<b>12 horas</b>	<b>24 horas</b>	<b>48 horas</b>	<b>72 horas</b>
<b>Ambiente (%)</b>	32,2	13,1	0	0	0
<b>Geladeira (%)</b>	39,2	36,6	11,6	6,4	1,4



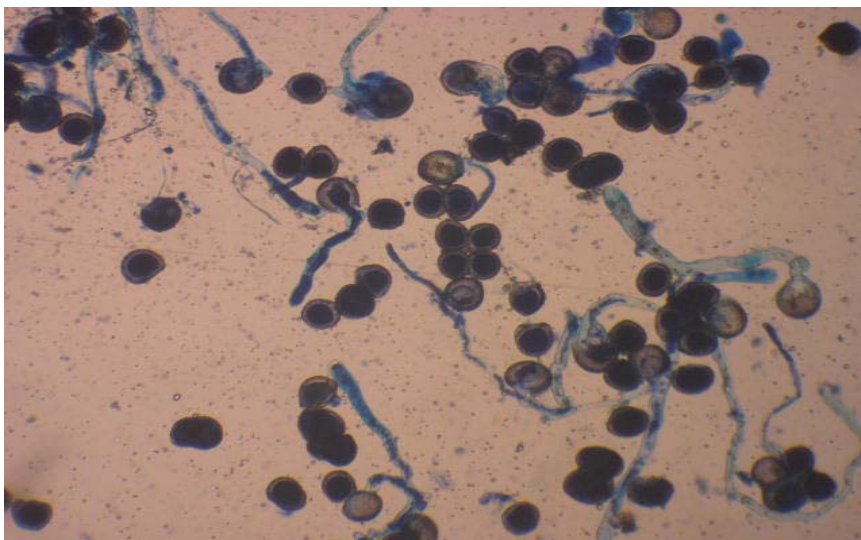
**Figura 15** - Percentual de germinação de tubos polínicos (GPA) e viabilidade (VPA) dos grãos de pólen armazenados em condições de temperatura ambiente.



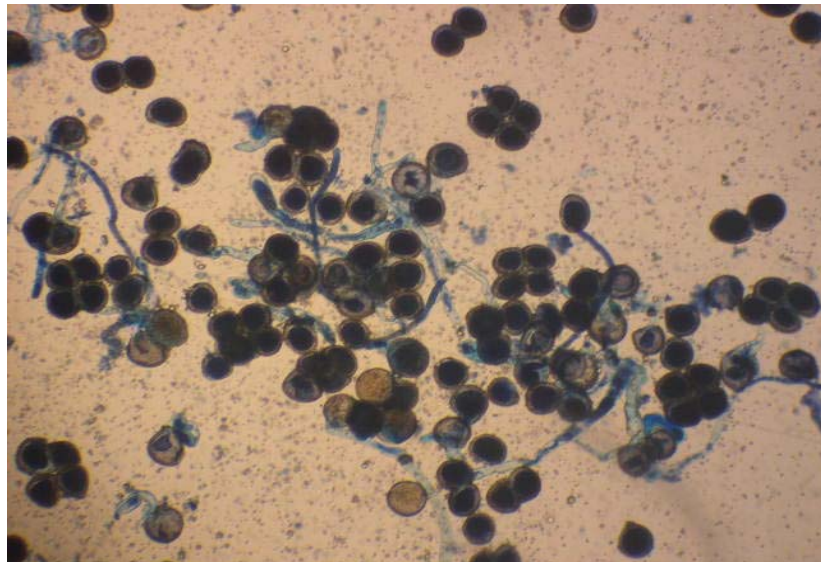
**Figura 16** - Percentual de germinação de tubos polínicos (GPG) e viabilidade (VPG) dos grãos de pólen armazenados em condições de temperatura entre 5°C e 7°C.



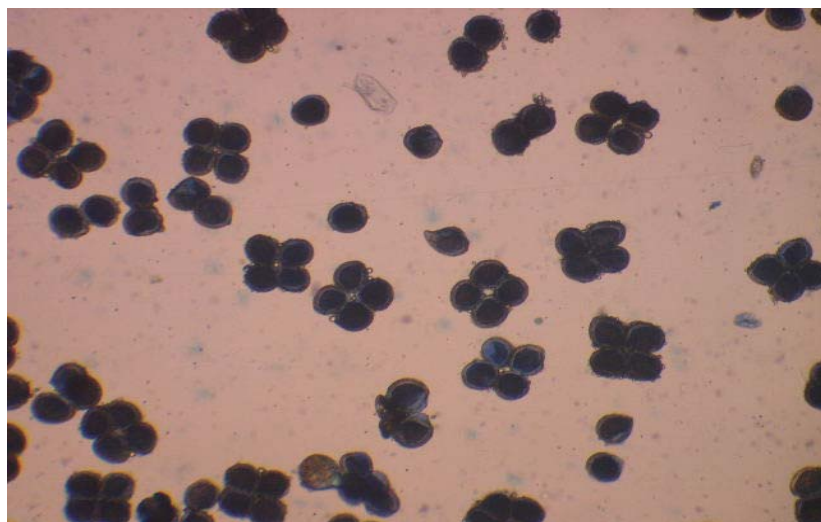
**Figura 17** - Aspecto geral de grão de pólen de pinha com germinação de tubo polínico - Ribeiro (2005).



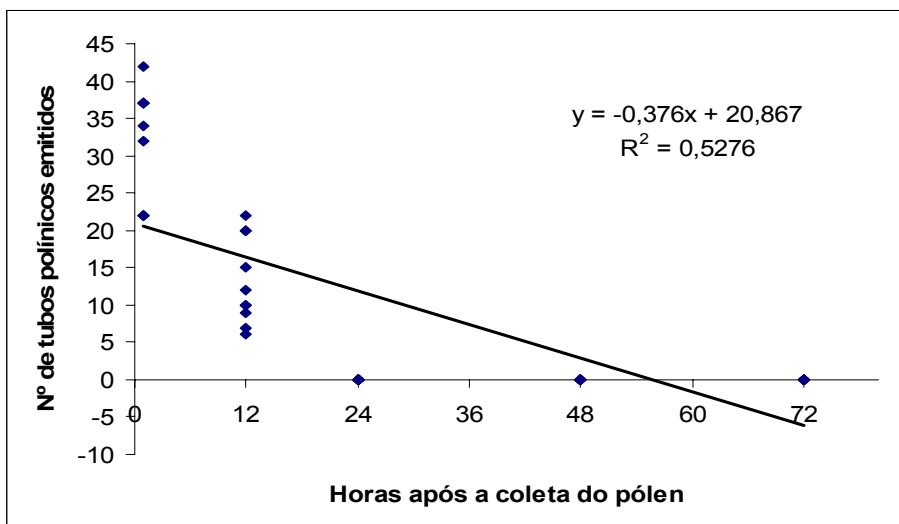
**Figura 18** - Tubos polínicos emitidos 1 hora após a coleta do pólen sob condição de temperatura ambiente - Ribeiro (2005).



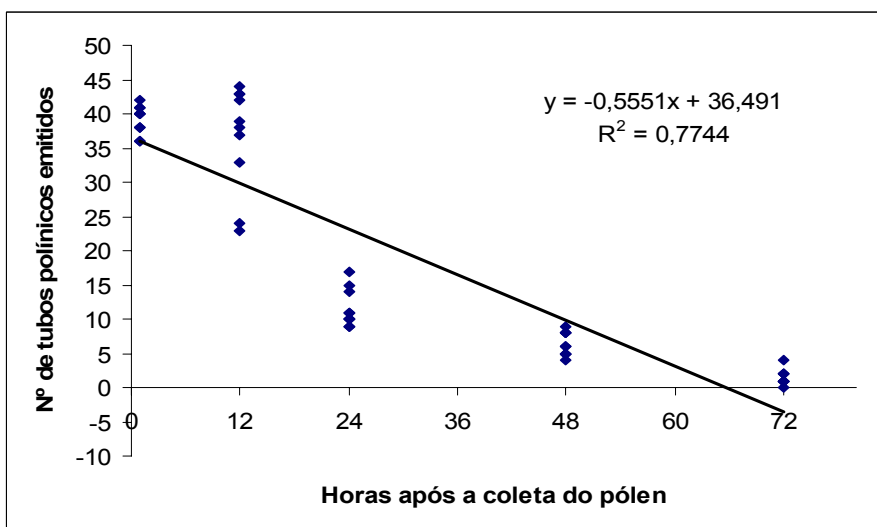
**Figura 19** - Tubos polínicos emitidos 1 h após a coleta do pólen sob condições de temperatura entre 5 a 7°C - Ribeiro (2005).



**Figura 20** - Cultura de pólen 24h após a coleta do pólen submetido à temperatura entre 5 a 7°C - Ribeiro (2005).



**Figura 21** - Número de tubos polínicos em função dos horários após a coleta do pólen e sob duas condições de temperatura. Caraíbas -Bahia, 2005.



**Figura 22** - Número de tubos polínicos em função dos horários após a coleta do pólen e sob duas condições de temperatura. Caraíbas – Bahia, 2005.

#### **4.4 Número de sementes e peso dos frutos em função dos horários de polinização e pólen armazenado**

A partir do 3º horário de polinização, não houve pegamento de frutos nas duas condições de armazenamento do pólen.

A média de sementes produzidas pela polinização realizada no primeiro horário após a coleta do pólen armazenado em condições ambiente e de refrigeração foi, respectivamente, 52 e 81,6 sementes. Levando em consideração os dados dos trabalhos realizados por Dias (2003), entende-se que esse número de sementes indica uma boa produtividade para a cultura da pinha. Já a polinização realizada 12 horas após a coleta do pólen nas duas condições de temperatura teve as respectivas médias de produção de 33,6 e 46,4 sementes. Esse número é baixo quando comparado ao número de sementes naturalmente produzido pela pinha (MANICA, 1997).

Observou-se, neste trabalho, que os frutos ficaram menores à medida que avançaram os horários de polinização após a coleta dos grãos de pólen. 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 (Tabela 7), 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 uma melhor interação entre o pólen armazenado em condições de temperatura entre 5°C 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°C a 7°C, conforme os dados demonstrados na Tabela 8.

Com esses resultados e levando em conta as condições propostas no experimento, sugere-se que o melhor horário para polinização artificial da pinha é o de 5h da manhã, ou seja, 1h após a coleta do pólen armazenado sob temperatura entre 5°C e 7°C.





**Tabela 7** - Influência de 2 horários e 2 condições de armazenamento de pólen no número de sementes em frutos de pinha produzidos em Caraíbas- Bahia, 2005.

<b>Condições</b>	<b>Tratamento 1</b>	<b>Tratamento 2</b>
<b>Geladeira</b>	81,6 <b>aA</b>	46,4 <b>bB</b>
<b>Temperatura ambiente</b>	52,6 <b>bB</b>	33,6 <b>bB</b>

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

55

**Tabela 8** - Influência de 2 horários e duas condições de armazenamento de pólen no peso dos frutos de pinha produzidos em Caraíbas- Bahia.

<b>Condições</b>	<b>Tratamento 1</b>	<b>Tratamento 2</b>
<b>Geladeira</b>	321,63 <b>aA</b>	144,22 <b>bB</b>
<b>Temperatura ambiente</b>	238,63 <b>bB</b>	227,02 <b>bB</b>

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

## 5. CONCLUSÕES

Ante as condições edafoclimáticas de Tanhaçu, no Sudoeste do Estado da Bahia, região na qual foi realizada a primeira etapa do presente trabalho, foi possível obter as seguintes conclusões:

- A antese da pinheira ocorre às 5 horas da manhã.
- As flores da pinheira passam do estágio feminino para o estágio masculino às 4 horas da manhã.

Para as condições edafoclimáticas de Caraíbas, no Sudoeste do Estado da Bahia, região na qual foram realizadas a segunda e a terceira etapas do presente trabalho, obtiveram-se como principais conclusões:

- Os grãos de pólen conservados em geladeira até 12 horas após a coleta ainda se encontram viáveis para produção de frutos com número de sementes e peso aceitáveis comercialmente.
- O melhor horário para polinização manual é 5 horas da manhã.
- Os grãos de pólen armazenados em geladeira por mais de 12 horas perdem sua capacidade germinativa.

## 6. REFERÊNCIAS

AGUSTIN, J. A.; ALVITER, A. R. **El cultivo de la chirimoya (*Annona cherimola* Mill.) em el Estado de Michoacan**. Universidad Autónoma Chapingo, Chapingo, México, 1996.

ALEXANDER, M. P. A. Versatile stain for polle fungi, yeast and bacteria. **Stain Technology**, v.55, p.13-18, 1980.

ALMEIDA, O. S.; SILVA, A. H. B.; SILVA, A. B.; SILVA, A. B.; AMARAL, C. L. F. Estudo da biologia floral e mecanismos reprodutivos do alfavação (*Ocimum officinalis* L.) visando o melhoramento genético. **Acta Scientiarum. Biological Sciences**. v.26, n.3, p.343-348, Maringá, 2004.

ARAÚJO, J. F.; ARAÚJO J. F.; ALVES, A. A. C. **Instruções técnicas para o cultivo da pinha (*Annona squamosa* L.)**. Salvador/BA: EBDA, 1999. 44p. (EBDA. Circular Técnica, n.7, setembro. 1999).

AZEVEDO, F. A.; PIO, R. M. Pollination influence on seeds production of murcott tangor. **Rev. Bras. Frutic**. v.24, n.2, Jaboticabal, agosto 2002.

BIONDO, E.; BATTISTIN, A. Comparação da eficiência de diferentes corantes na estimativa da viabilidade de grãos de pólen em espécies dos gêneros *Eriosema* (DC.) G. Don e *Rhynchosia* Lour (Leguminosae – Faboideae), nativas na Região Sul do Brasil. **Bioikos**. 2001. v.15, n.1, p.39-44.

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

BONAVENTURE, L. **A cultura da cherimólia e de seu híbrido a atemóia.** São Paulo: NOBEL, 1999. 182p.

CAMPOS, R. S.; LEMOS, E. E. P.; OLIVEIRA, J. F. FONSECA, F. K. P.; SANTIAGO, A. D.; BARROS, P. G. Natural, artificial and self pollination on fruit set of sugar apple (*Annona squamosa* L.) in Alagoas. **Rev. Bras. Fruticultura.** v.26 n.2 Jaboticabal agosto. 2004.

CARVALHO, P. S. de.; BEZERRA, J. E. F.; LEDERMAN, I. E.; ALVES, M. A. MELO NETO, M. L. de. Avaliação de genótipos de pinheira (*Annona squamosa* L.) no Vale do Rio Moxotó III – características de crescimento e produção – 1992 a 1997. **Rev. Bras. Frut.**, Jaboticabal, v.22, n.1, p.27-30, abr. 2000.

CARVALHO, R.; WEBBER. Biologia floral de *Unonopsis guatterioides* (A. D. C.) R. F. Fr., uma Annonaceae polinizada por Euglossini. **Ver. Bras. Bot.** São Paulo, v.23, n.4, p. 421-425, dez, 2000.

CAVALCANTE. K. L. Estudo da germinação dos grãos de pólen em meloeira (*Cucumis melo* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17, 2002. **Anais...** 2002. Belém.

CAVALCANTI, R. L. R. R. A cultura da pinha (*Annona squamosa* L.). In: ENCONTRO ESTADUAL DE FRUTICULTURA, 1, 1993, Cruz das Almas: EMBRAPA/CNPMPF, 1993. 159 p.

COGEZ H.; LYANNAZ, J. P. Hand pollination in sugar apple. **Fruits**. 49. p. 359-360, 1996.

DIAS, Nilma Oliveira. **Crescimento vegetativo, florescimento e frutificação da pinheira (*Annona squamosa* L.) em função de comprimentos de ramos podados**. Dissertação (Mestrado em Agronomia área de concentração em Fitotecnia). Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, 2003. 65p.

DIAS, N. O.; MATSUMOTO, S. N.; REBOUÇAS, T. N. H.; VIANA, A. E. S.; SÃO JOSÉ, A. R.; SOUZA, I. V. B. Influência da poda de produção em ramos de diferentes diâmetros no desenvolvimento vegetativo e reprodutivo da pinheira. **Revista Brasileira de Fruticultura**. Jaboticabal, v.25, n.1, p. 100-103, abril, 2003.

DONADIO, L. C. Situação atual e perspectivas das anonáceas. In: SÃO JOSÉ, A. R.; SOUSA, I.V.B.; MORAIS, O. M.; REBOUÇAS, T. N. H. (Editores). **Anonáceas, produção e mercado ( pinha, graviola, atemóia e cherimólia)**. Vitória da Conquista: DFZ/UESB, 1997. p.07-19.

DONADIO, L. C. Melhoramento de atemóia e cherimoia. In: SÃO JOSÉ, A. R.; SOUSA, I.V.B.; MORAIS, O. M.; REBOUÇAS, T. N. H. (Editores). **Anonáceas, produção e mercado (pinha, graviola, atemóia e cherimólia)**. Vitória da Conquista: DFZ/UESB, 1997b. p.42-46.

DONADIO, L. C.; NACHTIGAL, J. C.; SACRAMENTO, C. K. do. Pinha. In: **Frutas exóticas**. Jaboticabal: FUNEP, 1998, p.191-193.

DONADIO, L. C. Recursos genéticos de espécies frutíferas no Brasil. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 15. 1998b. **Conferências...** Poços de Caldas. Universidade Federal de Lavras.

ESCOBAR, W. T.; ZARATE, R. D. R.; BASTIDAS, A. Biología floral y polinización artificial del guanabano *Annona muricata* L. En condiciones del Valle del Caca, Colombia. **Acta Agronomica**, v.36, n.1, p.7-20, 1986.

FÁVERO, A. P.; **Cruzabilidade entre espécies silvestres de *Arachis* visando à introgressão de genes de resistência a doenças no amendoim cultivado**. 2004. 165p. Tese (Doutorado em Agronomia: Genética e Melhoramento de Plantas) Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz. Piracicaba.

FERREIRA, F. R. Germoplasma de anonáceas. In: SÃO JOSÉ, A. R.; SOUSA, I.V.B.; MORAIS, O. M.; REBOUÇAS, T. N. H. (Editores). **Anonáceas, produção e mercado (pinha, graviola, atemóia e cherimólia)**. Vitória da Conquista: DFZ/UESB, 1997, p.36-41.

FERREIRA, M. A J. da F.; QUEIROZ, M. A de; VENCOSKY, R.; BRAZ, L. T.; VIEIRA, M. L. C. **Implicações da expressão sexual e do sistema reprodutivo de melancia em programas de pré-melhoramento**. ( Boletim de pesquisa e desenvolvimento). Embrapa. Brasília, outubro 2004. n.65, p. 24.

FIORAVANÇO, J. C.; PAIVA, M. C. Tratos culturais. In: MANICA, I. **Fruticultura- cultivo das anonáceas ata- cherimólia- graviola**. Porto Alegre: Avangraf, 1994. p.63-67.

GARDIAZABAL, F. I.; ROSENBERG, G. M. **El cultivo del chirimoyo**. Valparaíso: Ediciones Universitárias de Valparaíso, 1993. 145p.

GOMES, R. P. **Fruticultura Brasileira**. 2. ed. São Paulo: Nobel, 1972. 445p.

GOMES, R. P.; RASEIRA, M. C. do; BAUDET, S. T. P. Armazenamento do grão de pólen de cebola (*Allium cepa* L.). **Rev. Brasileira de Sementes**. Jul 2003, v.25, n.1, p.14-17.

JUNQUEIRA, R. M.; GUERRA, J. G. M.; ALMEIDA, D. L.; RIBEIRO, D. L. R.; MARTELLETO, L. A.P.; RIBAS, R. G. T.; OLIVEIRA, F. L. Efeitos de coberturas vivas permanentes do solo e da polinização artificial no desempenho produtivo da pinha (*Annona squamosa* L.) sob manejo orgânico. In: **Comunicado técnico 73**. Rio de Janeiro, Embrapa, 2004.

KAGUEAMA A.; MATSUE, A. M.; NOGUEIRA, N. A. M.; KAVATI, R.; PELINSON, G. J. B. Armazenamento de material polinizante para polinização artificial em fruta-do-conde (*Annona squamosa* L.). CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, **16 Anais...** Fortaleza, Embrapa, 2000. 1 Cd-Rom.

KAVATI, R.; PIZA JÚNIOR, C. de T. Formação e manejo do pomar de fruta-do-conde, atemóia e cherimóia. In: SÃO JOSÉ, A. R.; SOUSA, I.V.B.; MORAIS, O. M.; REBOUÇAS, T. N. H. (Editores). **Anonáceas, produção e**

**mercado (pinha, graviola, atemóia e cherimóia).** Vitória da Conquista: DFZ/UESB, 1997. p.75- 83.

KAVATI, R.; SAVAZAKI, E. T.; KAMEYAMA, C. Estudos sobre a ocorrência de auto-incompatibilidade em material clonal de fruta-do-conde (*Annona squamosa* L.). **Congresso Brasileiro de Fruticultura, 16.** Anais... Fortaleza, Embrapa, 2000. 1 CD-ROM..

KIILL, L. H. P.; COSTA, J. G. da. 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.

KOGA, P. S.; NOGUEIRA, N. A. M.; KAVATI, P.; PELISON, G. J. B. Qualificação de material polinizante na polinização artificial de fruta do conde (*Annona squamosa* L.). In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 16, 2000, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: Embrapa Agroindústria tropical, 2000. CD-ROM.

KUMAR, R., HODA, M. N., SINGH, D. K. Studies on the floral biology of custard apple (*Annona squamosa* L.). **Indian Journal of Horticulture**, Indian, v. 34, n.3, p.252-256. 1977.

LEDERMAN, I. E.; BEZERRA, J. E. F. Indução e polinização de anonáceas . In: SÃO JOSÉ, A. R.; SOUZA, I. V. B.; MORAIS, O. M.; REBOUÇAS, T. N. H. **Anonáceas, produção e mercado (Pinha, Graviola Atemóia e Cherimóia).** Vitória da Conquista, BA: DFZ/UESB, 1997. p.142-149.



LEMOS, E. E. P.; PEREIRA, P. C. C.; CAVALCANTE, R. L. R. Artificial pollination of soursop (*Annona muricata* L.), to improve fruit yield and quality. In: Congresso Internacional de Anonáceas, 2., Tuxtla Gutiérrez, Chiapas, México. **Anais**. 1999. p. 97.

LEON, A. J. **Botánica de los cultivos tropicales**. San José: Serviço editorial IICA. 1987. 445p.

LINSLEY, E. C.; CAZIER, M. A. Further observation on bees which take pollen from plants of genus *Solanum*. **Pan Pacific Entomologist**, San Francisco, v.39, n.1, p. 1-18, 1963.

LOGUERCIO, L. L. Pollen treatment in high osmotic potential: a simple tool for *in vitro* preservation and manipulation of viability in gametophytic populations. **Braz. Journal Plant Physiology**, v. 14, n.1, p. 65-70, jan./abr. 2002.

LORENZON, M. C. A.; ALMEIDA, E. C. Viabilidade e germinação do pólen de linhagens parentais de cebola híbrida. **Pesq. Agropec. Bras.** v.32, n.4, p.345-349, Brasília, abril 1997.

MAHDEEN, H. Other Annonaceous fruits. In: **Fairchild Tropical Garden, Tropical Fruit World**, v.4, n.1, p.18-20, 1990.

MANICA, I. Taxonomia, Morfologia e Anatomia das Anonáceas. In: SÃO JOSÉ, A. R.; SOUSA, I. V .B.; MORAIS, O. M.; REBOUÇAS, T. N. H. (Editores). **Anonáceas, produção e mercado (pinha, graviola, atemóia e cherimólia)**. Vitória da Conquista: DFZ/UESB, 1997. p.75- 83.

MELETTI, L. M. M. Anonáceas. In: \_\_\_\_\_ **Propagação de frutíferas tropicais**. Guaíba: Agropecuária, 2000, p.86-203.

MELO, Marcelo Rosa. **Polinização natural e artificial da cherimóia e da atemóia no Estado de São Paulo**. 2001. 62 f. Tese (Mestrado em Agricultura Tropical e Subtropical) – Instituto Agronômico de Campinas, Campinas.

MELO, M. R.; POMMER, C.; KAVATI, R. Polinização artificial da atemóia com diversas fontes de pólen comparada com a natural. **Bragantia**, v.61, n.3, p.231-236, 2002.

NIETSCHÉ, S.; PEREIRA, M. C. T.; ROCHA, M. V.; DURÃES, N. N.; MOTA, W. F. da.; GONÇALVES, V. D.; BRAZ, L. C.; ABREU, S. C.de.; LIMA, C. de. Diferentes horários de polinização artificial no pegamento e qualidade de frutos de pinheira (*Annona squamosa* L.) no norte de Minas gerais.

NOGUEIRA, A. S.; CARVALHO, A. J. C.; PESSANHA, P. G. O.; MARINHO, C. S. 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...** CBO: 2002.

PEÑA, J. E.; NADEL, H.; BARBOSA-PEREIRA. M.; SMITH, D. Pollinators and pests of *Annona species*. In: PEÑA, J. E.; SHARP, J. L.; WYSOKI, M. Tropical fruit pests and pollinators: biology, economic importance, natural enemies and control. **Oxon: CABI**, 2002. p.197-221.

PEREIRA, M. C. T.; NIETSCHÉ, S.; SANTOS, F. S.; XAVIER, A. A.; CUNHA, L. M. V.; NUNES, C. F. SANTOS, A. A. Efeito de horários de

polinização artificial no pegamento e qualidade de frutos de pinha (*Annona squamosa* L.). **Rer. Bras. Fruticultura**. v.25, n.2, p.203-205, Jaboticabal-SP, agosto 2003.

ROSELL, P.; HERRERO, M., GALAN, V. Pollen germination of cherimoya (*Annona cherimola* Mill.). In vivo characterization and optimization of in vitro germination. **Scientia Horticulturae**, v.81, p.251-265, 1999.

RUBI, M. A.; MARTINEZ, A. M.; LÓPEZ, L. L. Polinización manual en chirimoya y su relación com producción y características del fruto. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE ANONÁCEAS, 1, 1997. Chapingo, México. **Memórias...** Chapingo: Universidad Autónoma de Chapingo, p.19-27.

SÃO JOSÉ, A. R. Aspectos generables de las anonáceas en Brasil. In: CONGRESSO INTERNACIONAL DE ANONÁCEAS, 1997, Chapingo, México. **Memórias...** Chapingo: Universidad Autónoma de Chapingo. 1997. p.92-103.

SCHROEDER, C. A. Pollination strategy in the cherimola. In: THE SIXTH CONFERENCE OF THE AUSTRALASIAN COUNCIL ON TREE AND NUT CROPS INC, 1995, Lismore, NSW, Australia. 1995. p. 11-15.

SILVA, Aristonildo Cezar da. **Épocas de poda e métodos de polinização na produção da pinheira (*Annona squamosa* L.)**. 2000. 101 f. Tese (Mestrado em Fruticultura)-Escola de Agronomia, Universidade Federal da Bahia, Cruz das Almas.

SILVA, A. C. da; SÃO JOSÉ, A. R.; VIANA, A. E. S. 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, julho, 2001.

SOARES-SCOTT, M. D.; BENTO, M. M.; PIEROZZI, N. I.; MELETTI, L. M. M.; ARAGÃO, W. M.; SCARANARI, C. Análise de viabilidade do pólen para auxiliar o programa de produção de híbridos de coqueiro (*Cocos nucifera* L.). . In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 17, Belém. **Anais...** CBO: 2002.

SOUSA, S. A. **Cultura da pinheira: caracterização de frutos, germinação e atributos de qualidade requeridos pelo sistema de comercialização**. 2005. 58 f. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Escola de Agronomia - Universidade Federal da Bahia. Cruz das Almas.

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

TOKUNAGA, T. **A cultura da atemóia**. Campinas: CATI, 2000. 80p. (boletim técnico 233).

VIDAL HERNÁNDEZ, L. **La reproducción sexual y multiplicación vegetative de las anonáceas**. Xalapa, Veracruz: Universidade Veracruzana, Facultad de Ciencias Agrícolas, 1993. 35p.

VITHANAGE, H. I. M. V. Pollen-stigma interactions: Development and Cytochemistry of Stigma Papillae and their Secretions in *Annona squamosa* L. (Annonaceae). **Annals of Botany**. 1984. v. 54, p.153-167.

WENDT, Simone Neumann. **Genética de populações em *Ilex paraguayensis* St. Hil.** 2005. 121 f. Tese (Doutorado em Processos Biotecnológicos) – Universidade Federal do Paraná. Curitiba.

## APÊNDICE

**Apêndice 1** - Resumo da análise de variância e dos coeficientes de variação para número de sementes (NS) e peso dos frutos (PF).

FV	GL	Quadrados médios	
		NS	PF
<b>Tratamento</b> <sup>1</sup>	1	3672,05*	157371,5405**
<b>Condições</b> <sup>2</sup>	1	2184,05*	650,9405
<b>Tratamento x condições</b>	1	328,05	13421,3805*
<b>Resíduo</b>	16	447,55	2213,3060
<b>CV</b>		39,51	19,74

<sup>1</sup> (2 horários)

<sup>2</sup> (temperatura ambiente e entre 5 a 7°C)

\*\* Significativo a 1% de probabilidade, pelo teste F

\* Significativo a 5% de probabilidade, pelo teste F

