

Nota científica

Testes de campo para a polinização controlada da flor do cupuaçuzeiro*

Isaac Cohen Antonio**, Nelcimar Reis Sousa**, Cley Donizeti M. Nunes***

*Trabalho realizado com recursos da Embrapa. **Embrapa-CPAA. Manaus (AM). Caixa Postal 319. CEP 69.011-970, Manaus (AM), Brasil. E-mail: ica@cpaa.embrapa.br. ***Embrapa Clima Temperado. Caixa Postal 403. CEP 96.001-970, Pelotas (RS), Brasil.

Resumo

Testes de campo foram realizados comparando materiais para o isolamento em polinizações controladas das flores de cupuaçuzeiro [*Theobroma grandiflorum* (Willdenow ex Sprengel) Schumann]. O melhor material encontrado foi o saco de plástico transparente com 100 x 250 x 0,2 mm ou 130 x 250 x 0,2 mm, contendo, no seu interior, um copo de plástico transparente de 180 mL sem o fundo, para dar sustentação. Várias polinizações controladas foram feitas nos diferentes estádios de abertura da flor para constatar a receptividade do estilete-estigma, observando-se que a maior receptividade ocorre quatro horas após o início da antese.

Palavras-chave adicionais: *Theobroma grandiflorum*; polinização artificial; materiais para isolamento; receptividade do estigma.

Abstract

ANTONIO, I.C.; SOUSA, N.R.; NUNES, C.D.M. Field tests for controlled pollination of cupuassu flowers. **Científica**, Jaboticabal, v.32, n.1, p.82-84, 2004.

Field tests were realized comparing insulating material for isolating cupuassu flowers (*Theobroma grandiflorum* (Willdenow ex Sprengel) Schumann) in controlled pollination. The best material found has a transparent plastic cup without the bottom inside a transparent plastic bag with 100 x 250 x 0,2 mm or 130 x 250 x 0,2 mm to give support. Several controlled pollinations were made in different stages of flower opening to test the stigma receptivity. The best stigma receptivity was observed four hours after flower anthesis starts.

Additional keywords: *Theobroma grandiflorum*; artificial pollination; isolating material; stigma receptivity.

Introdução

O cupuaçuzeiro é uma fruteira da Amazônia muito consumida na região, por causa de seu sabor e do uso da polpa para elaboração de sucos, sorvetes, cremes, compotas, geléias, licores, iogurtes, biscoitos e diversos tipos de doces; as sementes são usadas para fabricação de delicioso chocolate. Sua produção ainda não passa da escala regional, mas cresce na proporção em que a fruta ganha mercado no Brasil e no exterior.

Em plantios comerciais e programas de melhoramento genético, é comum o baixo índice de fecundação e pegamento dos frutos. ADDISON & TAVARES (1951) foram os primeiros a usarem polinização artificial em cruzamentos entre as espécies do gênero *Theobroma* que ocorrem na Amazônia, usando a técnica que emprega tubos de vidro e sacos de pano com celofane e arame de cobre.

Em cacau, Pound, citado por AREVALO & SORIA (1975), foi o primeiro a desenvolver a técnica de polinização artificial. AREVALO & SORIA (1975) testaram a eficiência de cinco métodos de polinização artificial em cacau na Costa Rica, conseguindo maior eficiência com a polinização manual

individual. MARTIN (1982) constatou que a compatibilidade entre clones é fundamental para se obter sucesso na polinização artificial; este autor obteve aumento de 40% em relação à autopolinização, mas cerca de 85% dos frutos se perderam. AREVALO & SORIA (1975) e MARTIN (1982) efetuaram as polinizações às 7 horas e das 6 às 10 horas, respectivamente, usando o horário como referência para a receptividade do estigma e viabilidade do pólen. Hurtado, citado por MARTIN (1982), obteve 282% de aumento em relação à polinização livre, mas houve perda de 60% dos frutos.

Em seringueira, Dijkman, citado por GONÇALVES et al. (1983), relatou índices de sucesso na polinização artificial de 3 a 5% na Malásia; Ehret, citado por GONÇALVES et al. (1983), mencionou uma percentagem aproximada de 15% de sucesso no Vietnã, e GONÇALVES et al. (1983) alcançaram um índice em torno de 2 a 2,5%. Esses baixos índices são atribuídos às condições edafoclimáticas, incidência do mal-das-folhas, chuva, estado nutricional da planta e incompatibilidade genética. No entanto, a ausência de trabalhos sobre biologia reprodutiva, enfocando a viabilidade do pólen e a receptividade do estigma da seringueira na Amazônia, onde foram conduzidos os trabalhos de melhoramento genético no Brasil, deixa uma

interrogação sobre o melhor período para se realizarem as polinizações.

Em cupuaçuzeiro, FALCÃO & LLERAS (1983) verificaram 0,89% de flores que produziram frutos imaturos e 0,55% de flores efetivas (que produziram frutos maduros). MACHADO & RETTO JUNIOR (1991) encontraram 0,7%, e Venturieri (1994), citado por VENTURIERI & RIBEIRO FILHO (1995), 0,16% de flores efetivas na região de Manaus (AM).

Alguns trabalhos foram realizados para elucidar a biologia reprodutiva do cupuaçuzeiro por FALCÃO & LLERAS (1983), MACHADO & RETTO JUNIOR (1991), SILVA et al. (1993), Venturieri (1994), citado por VENTURIERI & RIBEIRO FILHO (1995), VENTURIERI & RIBEIRO FILHO (1995) e NEVES et al. (1996).

Para desenvolver técnicas de polinização artificial, é necessário conhecer o modo de reprodução das plantas e os mecanismos que o controlam. O conhecimento do tempo em que o pólen permanece viável e da receptividade do estigma é de fundamental importância para o sucesso da polinização controlada.

Neste trabalho, foram testados materiais para isolamento das flores e comparados diferentes estádios de abertura da flor, com o objetivo de contribuir para o desenvolvimento de uma técnica de campo adequada para polinização artificial de *Theobroma grandiflorum*.

Material e métodos

O trabalho foi realizado no Campo Experimental da Embrapa-CPPA, situado no km 30 da Rodovia AM-010, município de Manaus (AM), entre as latitudes sul de 2° 51' 07" e 2° 54' 10", e longitudes oeste de 59° 57' 20" e 60° 01' 03".

Para verificar a receptividade do estilete-estigma, efetuaram-se, em dias limpos, 531 polinizações em 15 plantas de pé-franco, com pólen fresco de um mesmo progenitor que se mostrou compatível em testes preliminares, coletado no início da antese (Tabela 1), para evitar contaminações. Foram feitas 103 polinizações para cada estádio e, para verificar se o estigma permanece receptivo por mais de 4 horas após o início da antese, foram polinizadas apenas 19 flores, 12 horas depois de iniciada a antese, por causa do anoitecer, quando ficou impraticável fazer as polinizações, e 100 polinizações, 18 horas depois. Para verificar qual o melhor material para isolamento das flores, foram feitos testes de campo e laboratório com sacos de papel manteiga do tipo para pipoca, celofane, voal e tecido de algodão cru trançado, sobre "bob" nº 07 usado como armação, preso no ramo da flor com arame fino.

Os botões florais coletados do progenitor masculino eram conservados em placa de Petri com papel de filtro umedecido e usados, no máximo, por 2 horas. Os estames foram retirados com uma pinça de ponta fina e esfregados várias vezes no estilete-estigma do progenitor feminino. Após cada polinização, as pinças eram flambadas e ensacadas, para evitar contaminações.

Tabela 1 – Caracterização dos estádios da antese do botão floral em dias limpos. *Table 1 – Characterization of the stages of the anthesis of the flower bud in clear days.*

Estádio	Caracterização
1- Antes da antese	Botão floral intumescido, com todas as sépalas soldadas.
2- Início da antese	Botão floral apresentando pelo menos uma fissura em uma das soldaduras das sépalas.
3- Duas horas após o início da antese	Botão floral com duas ou mais sépalas desprendidas e expansão das pétalas começando a distender.
4- Quatro horas após o início da antese	Flor completamente aberta com a expansão das pétalas totalmente distendidas.
5- Doze horas após o início da antese	Flor completamente aberta com a expansão das pétalas totalmente distendidas, cogula afastada.
6- Dezoito horas após o início da antese	Flor completamente aberta com a expansão das pétalas totalmente distendidas e sem vigor.

Nas polinizações realizadas após o início da antese, tomou-se o cuidado de isolar as flores antes da antese, com sacos de plástico transparente de 100 x 250 x 0,2 mm ou 130 x 250 x 0,2 mm, contendo um copo de plástico transparente de 180 mL sem o fundo, para dar sustentação. O saco de plástico foi rasgado nas extremidades soldadas, até a altura do copo, formando duas tiras, as quais serviam para amarrar o material isolador no ramo da flor. Nas outras polinizações, o isolamento foi feito após as flores serem polinizadas.

Os resultados das polinizações foram observados mais de dois dias após a polinização, quando as flores não fecundadas já haviam caído da planta (VENTURIERI, 1993).

Resultados e discussão

Os resultados dos testes de campo com os materiais de isolamento mostraram que os sacos de papel resistiram razoavelmente às chuvas, porém foram danificados por insetos, principalmente grilos e gafanhotos. O isolamento com celofane sobre o "bob" mostrou-se muito trabalhoso, e os tecidos de voal e algodão cru trançado não foram aprovados no teste da solução aquosa de pólen de *Theobroma grandiflorum*, a qual foi filtrada através desses tecidos e observada ao microscópio. Muitos grãos de pólen passaram pelas malhas dos tecidos, mostrando a ineficiência contra a prevenção de contaminações de grãos de pólen carregados pela água das chuvas. Para usar os tecidos como isolamento, teria de ser feita uma impermeabilização com parafina. O isolamento com sacos de plástico transparente e copos plásticos transparente mostrou-se mais prático e barato, além de o material poder ser reutilizado.

O resultado do teste da viabilidade do estigma pode ser visto na Tabela 2. Como as flores abrem, na sua maioria, entre as 12 e 16 horas (MACHADO & RETTO JUNIOR, 1991 e Venturieri, 1994, citado por VENTURIERI & RIBEIRO FILHO, 1995)

Tabela 2 – Resultado do teste de campo para a viabilidade do estilete-estigma do cupuaçuzeiro. *Table 2 – Result of the field test for viability of the style-stigma of cupuassu flower.*

Estádio da flor polinizada	Número de polinizações	Fecundações (%)	Frutos com 90 dias (%)
Antes da antese	103	54,37	62,50
Início da antese	103	66,02	35,29
2h após o início da antese	103	82,52	34,12
4h após o início da antese	103	90,29	53,76
12h após o início da antese	19	47,37	44,44
18h após o início da antese	100	8,00	-

e por ser encontrado pequeno número de flores iniciando a antese após as 16 horas, foram feitas apenas 19 polinizações. Intervalos menores do que 12 horas após o início da antese fariam com que a polinização fosse executada antes do nascer do sol, o que seria pouco prático. Em decorrência da diminuição da receptividade com o passar do tempo e porque, após 18 horas do início da antese, ela é muito pequena, julgamos desnecessário testar intervalos maiores.

O teste de qui-quadrado, considerado por PIMENTEL GOMES (1987) como sendo o melhor teste não-paramétrico e de uso mais generalizado, foi significativo com 5%, 1% e 0,1% de probabilidade para 5 Graus de Liberdade, demonstrando que a receptividade do estilete-estigma, para os diferentes estádios em que foram feitas as polinizações, não é a mesma, pois o valor do qui-quadrado de 71,0972 foi maior que 20,52 para 0,1% de probabilidade com 5 Graus de Liberdade. A maior receptividade ocorreu 4 horas após o início da antese, com 93 fecundações das 103 polinizações efetuadas, quando se esperavam 62, com valor de χ^2 igual a 15,651; a menor ocorreu 18 horas após o início da antese, com 8 fecundações das 100 polinizações efetuadas, quando se esperavam 60 fecundações, com valor de χ^2 igual a 45,135 (Tabela 3).

Tabela 3 – Teste de qui-quadrado (χ^2) para receptividade do estilete-estigma em diferentes horários. *Table 3 – Test of χ^2 for receptivity of the style-stigma at different times.*

Estádio	Fecundações observadas	Fecundações esperadas	χ^2
Antes da antese	56	61,88	0,559
Início da antese	68	61,88	0,605
2 horas após	85	61,88	8,638
4 horas após	93	61,88	15,651
12 horas após	9	11,41	0,509
18 horas após	8	60,07	45,135

$\chi^2 = 71,0972$ com 5 G.L. e Nível de Significância = $6,06182 \times 10^{-14}$.

Conclusões

Para a região de Manaus, o melhor material para isolamento das flores para polinização controlada do cupuaçuzeiro é o saco de plástico transparente com o copo de plástico transparente sem o fundo, como armação.

A maior receptividade do estilete-estigma, nas condições de Manaus, ocorre quatro horas após o início da antese. Para maior possibilidade de sucesso, recomenda-se fazer a polinização artificial com o botão floral neste estádio.

Referências

ADDISON, G. O'Neill; TAVARES, R.M. **Observações sobre as espécies do gênero *Theobroma* que ocorrem na Amazônia.** Belém: Intituto Agrônomo do Norte, 1951. 41p. (Boletim Técnico, 25).

AREVALO, A.R.; SORIA, J. Evaluación de cuatro metodos de polinizacion artificial en el aumento de producción de cacao (*Theobroma cacao* L.). In: INTERNATIONAL COCOA RESEARCH CONFERENCE, 5., 1975, Ibadan, Nigeria. **Actes...** Ibadan: Cocoa Producers' Alliance, 1975. p.79-84.

FALCÃO, M. de A.; LLERAS, E. Aspectos fenológicos, ecológicos e de produtividade do cupuaçu – *Theobroma grandiflorum* (Willd. ex Spreng.) Schum. **Acta Amazonica**, Manaus, v.13, n.5-6, p.725-735, 1983.

GONÇALVES, P. de S.; PAIVA, J.R. de; SOUZA, R.A. de. **Retrospectiva e atualidade do melhoramento genético da seringueira (*Hevea spp.*), no Brasil e em países asiáticos.** Manaus, Embrapa-CNPDS. 1983. 69 p. (Documentos, 2).

MACHADO, G.M.E.; RETTO JUNIOR, A. da S. Estudo preliminar sobre a biologia floral do cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum* (Willd. ex. Spreng.) Schum.). **Revista da Universidade do Amazonas, Série Ciências Agrárias**, Manaus, v.1, n.1, p.11-14, 1991.

MARTIN, E.J. Efectos de polinización controlada en cacao. In: INTERNATIONAL COCOA RESEARCH CONFERENCE, 8., 1981, Cartagena. **Actes...** Cartagena: Cocoa Producers' Alliance, 1982. p.57-60.

NEVES, T.S.; MACHADO, G.M.E.; OLIVEIRA, R.P. Efeito do tipo e concentração de carboidratos e ácido bórico na germinação de grãos de pólen de cubiuzeiro e cupuaçuzeiro. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE FRUTICULTURA, 14.; REUNIÃO INTERAMERICANA DE HORTICULTURA TROPICAL, 42.; SIMPÓSIO INTERNACIONAL DE MIRTÁCEAS, 1., 1996, Curitiba. **Resumos/Abstracts...** Londrina: IAPAR. 1996. p.213.

PIMENTEL GOMES, F. **A Estatística moderna na pesquisa agropecuária.** 3. ed. Piracicaba: POTAFOS, 1987. 162p.

SILVA, R.M. da; NEVES, M.P.H. das; OLIVEIRA, R.P. de; MOTA, M.G. da C. Sistema reprodutivo do cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum*). Determinação da receptividade do estigma e estilete. In: CONGRESSO NACIONAL DE BOTÂNICA, 44., 1993, São Luís. **Resumos...** São Luís: Sociedade Botânica do Brasil, 1993. v.2, p.476.

VENTURIERI, G.A. **Cupuaçu:** a espécie, sua cultura, usos e processamento. Belém: Clube do Cupu, 1993. 108 p.

VENTURIERI, G.A.; RIBEIRO FILHO, A.A. A polinização manual do cupuaçuzeiro (*Theobroma grandiflorum*). **Acta Amazonica**, Manaus, v.25, n.3-4, p.181-192, 1996.