

## 13ª JORNADA DE PÓS-GRADUAÇÃO E PESQUISA

### BIOLOGIA REPRODUTIVA DA NESPEREIRA (ERIOBOTRYA JAPONICA LINDL.: ROSACEAE) EM FLORIANÓPOLIS, SANTA CATARINA, BRASIL

### REPRODUCTIVE BIOLOGY OF LOQUAT (ERIOBOTRYA JAPONICA LINDL.: ROSACEAE) IN FLORIANÓPOLIS, SANTA CATARINA STATE, BRAZIL.

Andre Amarildo Sezerino<sup>1</sup>, Afonso Inácio Orth<sup>2</sup>, José Luiz Petri<sup>3</sup>, Caroline de Fátima Esperança<sup>4</sup>, Gentil Carneiro Gabardo<sup>5</sup>, Cristhian Leonardo Fenili<sup>6</sup>

#### RESUMO

*Eryobotrya japonica*, conhecida como nespereira ou ameixa amarela é uma frutífera asiática amplamente cultivada. Para muitas espécies e culturas introduzidas no Brasil ainda não existem muitos estudos sobre a real importância dos polinizadores no incremento da frutificação, e da contribuição dessas na sobrevivência e manutenção das populações de polinizadores, sendo necessária a existência de informações seguras e confiáveis sobre o papel de cada uma das espécies envolvidas. Para tanto, estudos de caracterização do sistema reprodutivo pela razão pólen/óvulo, germinação de pólen *in vitro*, determinação do volume e a concentração do néctar potencial e instantaneamente disponível e o levantamento da diversidade de visitantes florais foram realizados. Pela razão pólen/ovulo, infere-se que a nespereira é xenogâmica. A germinação *in vitro* do pólen de *E. japonica* foi facilitada com a suplementação de 20% de sacarose. A oferta de pólen e néctar pelas flores desta espécie são variáveis associadas com a síndrome de melitofilia. Esta característica se comprova uma vez que os visitantes florais mais abundantes e os potenciais polinizadores pertencem ao grupo Hymenoptera: Apoidea, sendo

considerada a abelha doméstica *Apis mellifera* como o polinizador de maior importância.

Palavras-chave: Polinização; Polinizadores; Pólen; Néctar

## ABSTRACT

*Eryobotrya japonica*, known as loquat or yellow plum is a widely cultivated Asian fruit. For many species and cultures introduced in Brazil, there are not many studies on the real importance of pollinators in the growth of fruiting, and the contribution of those in the survival and maintenance of pollinator populations, requiring the existence of reliable information on the role of each of the species involved. For this characterization, studies of the reproductive system by pollen/ovule ratio, in vitro pollen germination, determining the volume and concentration of the nectar potential and instantly available and a survey of diversity of flower visitors were performed. The pollen/ovule ratio shows that loquat is a xenogamic specie. In *in vitro* germination of *E. japonica* pollen grains was facilitated by supplementation of 20% sucrose. The amount of pollen and nectar in the flowers of this species presente values associated with melittophily syndrome. This characteristic is proven by the more abundant floral visitors and potential pollinators belong to the group Hymenoptera: Apoidea, being the honeybee *Apis mellifera* considered as the pollinator with greater importance.

Keywords: Pollination; Pollinators; Pollen, Nectar.

## INTRODUÇÃO

A nespereira (*Eriobotrya japonica* Lindl.), conhecida popularmente como ameixa amarela, é uma árvore perenifólia pertencente a família Rosaceae, originária da região Sudoeste da China (CRANE; CALDEIRA, 2006). Apresenta inflorescência tipo panícula, com 10 à 50 flores por inflorescência. Cada flor apresenta cinco pétalas brancas, com uma média de 20 estames, cinco estigmas e cinco carpelos com dois óvulos cada (MCGREGOR, 1976).

Embora seja uma frutífera tipicamente subtropical, adapta-se bem em regiões de clima temperado e tropical (LIN et al., 1999). As maiores regiões produtoras estão localizadas nos países Asiáticos e no continente americano. O Brasil é produtor de destaque, sendo o estado de São Paulo, estado líder na produção nacional, produzindo cerca de 185 mil toneladas anualmente (PIO et al., 2007).

Para se obter uma boa frutificação é necessário que haja boa polinização e conseqüente fertilização das flores. A interação planta-polinizador resulta no sucesso reprodutivo da planta, ou seja, a alocação de recursos tróficos pelas flores da planta aos

insetos garante a transferência de pólen tanto na autopolinização quanto na polinização cruzada (LUNAU, 2004). Muitas plantas de importância econômica dependem de insetos para incrementar sua produção (TOLEDO et al., 2003) e a polinização insuficiente resulta no insucesso reprodutivo e conseqüentemente num impacto econômico negativo na fruticultura (PELLETIER et al., 2001; PIAS; GUITIÁN, 2006).

Poucas cultivares de nespereira apresentam mecanismos de auto-incompatibilidade, produzindo frutos mesmo quando autopolinizadas. Entretanto, a polinização cruzada favorece o aumento da frutificação efetiva, além do aumento no tamanho, peso e qualidade dos frutos formados (CRESCIMANNO, 1958).

Para muitas espécies e culturas introduzidas no Brasil ainda não existem muitos estudos sobre a real importância dos polinizadores no incremento da frutificação, e da contribuição dessas na sobrevivência e manutenção das populações de polinizadores.

Entretanto, é necessária a existência de informações seguras e confiáveis sobre o papel de cada uma das espécies de visitantes florais a fim de se determinar quais são os polinizadores efetivos e a sua real importância no incremento das taxas de frutificação, assim como a importância dos recursos tróficos ofertados pelas flores desta planta para a manutenção das populações de polinizadores.

Portanto, o objetivo deste trabalho foi avaliar o sistema reprodutivo de *E. japonica*, buscando levantar os visitantes florais potenciais polinizadores, assim como quantificar os recursos tróficos ofertados pelas flores.

## **MATERIAL E MÉTODOS**

Os estudos foram conduzidos em uma região antropomorfizada na região central do município de Florianópolis, Santa Catarina.

O sistema reprodutivo preferencial foi caracterizado por meio de inferência da relação pólen/óvulo proposta por Cruden (1977). A estimativa do número de grãos de pólen produzido por flor foi realizada pela diluição de quatro anteras em tubos microtubos com 0,5 mL de ácido láctico a 85%, de duas flores ensacadas na pré-antese em cinco indivíduos, totalizando 10 flores. A contagem do número de grãos de pólen por flor foi realizada em duas amostras de 1,5 µL de cada microtubo, totalizando 20 repetições. Estas amostras foram separadas em lâminas reticuladas e observadas sob microscópio óptico com aumento de 100 vezes (KEARNS; INOUE, 1993). O número de óvulos foi determinado pelo corte da parede do ovário de 15 flores, seguindo a contagem dos mesmos sob estereomicroscópio (16 X de aumento).

Foi avaliada a germinação *in vitro* de grãos dos grãos de pólen da nespereira. Foram coletadas anteras de flores em pré-antese, as quais foram secas em estufa por 48 horas a 40°C e maceradas com o cabo de um pincel para a liberação dos grãos de pólen. Estes foram semeados em placas de petri com meio de cultura solidificados com ágar (0,7%) em três diferentes concentrações de sacarose: 0, 10 e 20% e a porcentagem de germinação avaliada em quatro períodos. Foram realizadas oito repetições de cada tratamento.

Determinou-se o volume e a concentração do néctar potencial e instantaneamente disponível (*nectar standing crop*) (DAFNI, 1992). A avaliação do néctar potencial foi realizada em flores (n=30) de cinco plantas distintas. As flores foram ensacadas na pré-antese e avaliadas após 24 horas com o auxílio de tubos microcapilares com capacidade de 2µL. A avaliação do néctar instantaneamente disponível aos polinizadores foi realizada em três diferentes horários: às 09h00, às 12h00 e às 15h00. Foram utilizadas 6 flores não ensacadas por planta em 5 plantas (n=30) em cada horário de amostragem, totalizando 90 amostragens. A fórmula utilizada para quantificar o volume foi a proposta por Dafni (1992):  $VN = (CN \times VM)/CM$ , onde VN é o volume de néctar (µL); CN é o comprimento da coluna de néctar no capilar (mm); VM é o volume do capilar calibrado (µL); e CM é comprimento do microcapilar (mm). A concentração do néctar foi medida com um refratômetro portátil com escala de 0 a 50% °BRIX.

Os dados coletados foram submetidos a análise de variância paramétrica e posterior teste Tukey ( $\alpha = 0,05$ ) para a comparação das médias.

O levantamento da diversidade de insetos visitantes florais foi realizado por observações naturalísticas, em dois dias distintos, por duas horas no período matutino e por duas horas no período vespertino em cada dia, totalizando oito horas de observações. Também foi avaliado o comportamento dos visitantes florais por ocasião da abordagem e partida das flores, observando-se, em especial, se o corpo dos visitantes tocava as anteras e os estigmas das flores.

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

Foram encontrados 97.506,5 grãos de pólen por flor. A germinação dos grãos de pólen *in vitro* mostrou ser afetada pela concentração de sacarose no meio de cultivo. Na tabela 1 é possível observar a porcentagem de germinação de grãos de pólen frescos (retirados da planta e avaliados após 24 horas).

Tabela 1. Percentagem média da germinação de grãos de pólen de *E. japonica* no decorrer de quatro horas em diferentes concentrações de sacarose no meio de cultura.

	Médias de germinação (%)		
	% sacarose		
	0%	10%	20%
1 hora	25,8 c	42,0 a	37,6 b
2 hora	32,3 b	49,0 a	46,8 a
3 hora	48,5 b	52,4 b	65,0 a
4 hora	49,0 c	63,5 b	70,4 a

Médias seguidas de letras diferentes nas linhas diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey ( $p \leq 0,05$ ).

Observou-se que após quatro horas o tratamento com 20% de sacarose apresentou o melhor desempenho. Meios de cultura com um agente solidificante (ágar ou gelatina) têm sido utilizados com sucesso na germinação do pólen de muitas espécies. Segundo Stanley e Linskens (1974), o agente solidificante propicia, além da facilidade de incorporação de açúcar ou outros estimulantes de germinação, umidade relativa constante e condições aeróbicas adequadas para uma boa germinação. Os principais componentes do meio de cultura utilizados na maioria dos trabalhos têm sido os carboidratos e substâncias estimulantes de germinação como micronutrientes e hormônios. Alguns autores consideram os carboidratos meramente uma fonte de energia para o crescimento do tubo polínico (DORMAN, 1976), enquanto outros o consideram como principal fator de controle da pressão osmótica (BHOJWANI; BHATNAGAR, 1974).

Foi observado nas flores de *E. japonica* 10 óvulos por flor. A razão pólen óvulo encontrada foi de 9.750,65 grãos de pólen para cada óvulo. De acordo com a classificação proposta por Cruden (1977), esta é uma planta xenogâmica. Segundo o autor, espécies xenogâmicas apresentam polinização cruzada, protrandria ou auto-incompatibilidade, e a maioria requer um polinizador. Tais características são diferentes das citadas por Crescimanno (1958), o qual relata que apenas poucas cultivares de nespereira apresentam mecanismos de auto-incompatibilidade, produzindo frutos mesmo quando autopolinizadas.

Foi observado que o nectário situa-se localizado na região da base da flor, local este onde o néctar é secretado e fica disponível aos visitantes florais (Figura 1).



Figura 1. Néctar armazenado na base da flor de *E. japonica* (seta).

O volume médio de secreção de néctar durante o período de 24 horas (néctar potencial) foi de  $5,875 \pm 3,13 \mu\text{L flor}^{-1}$ , sendo que os valores mínimo e o máximo observados foram de  $0,696 \mu\text{L}$  e  $14,814 \mu\text{L flor}^{-1}$  respectivamente. A concentração média de sacarose no néctar potencial foi  $22,0 \pm 8,301^\circ$  Brix nas flores avaliadas. De acordo com Wolf (2006), flores polinizadas por abelhas apresentam produção diária de néctar entre 0,2 e 5,8  $\mu\text{L}$ , e concentração de açúcar no néctar de  $25,9 \pm 12,8\%$ , confirmando a síndrome de melitofilia desta espécie.

As análises mostraram diferença estatística significativa no néctar instantaneamente disponível nos três períodos de avaliação (Tabela 2). A concentração de sacarose no néctar foi quantificada nos períodos matutino e ao meio dia. Às 15:00 não foi possível realizar a leitura pois o volume de néctar disponível foi nulo ou muito abaixo da capacidade mínima de leitura do refratômetro.

Tabela 2. Volume e concentração de açúcares (°Brix) no néctar instantaneamente disponível em *E. japonica* em três diferentes horários do dia em Florianópolis, SC. 2009.

	09h00	12h00	15h00
Volume (µL)	3,414 ± 3,44 a	0,028 ± 0,132 b	0,002 ± 0,009 c
°Brix	9,13 ± 1,45	18,5*	-

Médias seguidas por letras diferentes nas linhas diferem significativamente entre si pelo teste de Tukey, ( $p \leq 0,05$ ). \* Não foi apresentado o desvio padrão pois só foi possível realizar uma leitura devido a quantidade de néctar ser insuficiente para realizar a leitura nas outras amostragens.

Foi possível observar que pela manhã, o volume de néctar instantaneamente disponível é maior do que no decorrer do dia. Tal fato pode estar relacionado a não haver o consumo deste recurso pelos visitantes florais nas primeiras horas do dia. Com o aumento da intensidade de visitação observa-se a diminuição da disponibilidade de néctar. De acordo com Castellanos e Thompson (2002), os nectários são tecidos secretores ativos que regulam, de forma independente, o volume e a concentração do néctar e que está sujeito a fatores fisiológicos e/ou ecológicos. Um dos fatores ecológicos mais importantes é a temperatura, a qual interfere de maneira significativa na evaporação da água presente no néctar, acarretando no aumento da concentração de açúcares.

Quanto aos visitantes florais, foram observados indivíduos pertencentes as ordens Hymenoptera, Diptera e Lepidoptera, com uma significativa predominância da ordem Hymenoptera (Figura 2).

Dentro dos Hymenoptera, foi observada uma grande abundância das abelhas domésticas *Apis mellifera*. Estas abelhas apresentaram comportamento de forrageio adequado para a polinização, onde na maioria das vezes em que visitavam as flores tocavam os estigmas, ou seja, realizava visitas legítimas. Esta grande abundância de abelhas domésticas sobre as flores da nespereira também foi citada por Freihat et al (2008) onde os autores relatam que 85% dos visitantes florais de *Eriobotrya japonica* eram *Apis mellifera*.





Figura 2. Visitantes florais de *E. japonica* em Florianópolis, SC. 2009. a- *Apis mellifera*; b- *Xylocopa frontalis*; c- *Trigona spinipes*; d- Syrphidae; e- Pieridae; f- Halictidae; g-Vespidae.

Também foram observadas visitas legítimas das mamangavas *Xylocopa frontalis*. Devido a coleta de pólen por vibração e o tamanho robusto, esta espécie de abelha mostrou-se como um polinizador bastante eficiente apesar de sua abundância ser menor do que a de *A. mellifera*.



As abelhas *Trigona spinipes* foram observadas coletando néctar e pólen sem danificar a estrutura das flores e também foram consideradas potenciais polinizadores.

Foram observadas poucas visitas de abelhas da família Halictidae, mas esta pode ser um polinizador potencial uma vez que também apresenta coleta de pólen por vibração.

Dentro da família Vespidae foram observadas duas espécies de vespas coletoras de pólen, mas estas não apresentavam comportamento adequado à polinização.

Assim como as vespas, os pierídeos (Lepidoptera) e os sirfídeos (Diptera) encontrados não foram considerados polinizadores devido ao comportamento inadequado e a baixa abundância.

## **CONCLUSÃO**

Grãos de pólen da nespereira germinam *in vitro* preferencialmente com a concentração de 20% de sacarose;

Flores de *Eryobotrya japonica* ofertam néctar em quantidades associadas a síndrome de melitofilia;

Os visitantes florais mais abundantes e os potenciais polinizadores pertencem ao grupo Hymenoptera: Apoidea, sendo a abelha doméstica *Apis mellifera* considerada como o polinizador de maior importância.

## REFERÊNCIAS

- BHOJWANI, S.S.; BHATNAGAR, S.P. **The embryology of angiosperms**. New Delhi: Skylark Printers, 264 p., 1974.
- CASTELLANOS, M. C.; WILSON, P.; THONSON, J. D. Dynamic nectar replenishment in flowers of *Penstemon* (Scrophulariaceae). **American Journal of Botany**. v.69, n.1, p.122-134, 2002.
- CRANE, J. H.; CALDEIRA, M. L. **Loquat Growing in the Florida Home Landscape**. Institute of Food and Agricultural Sciences, University of Florida. 2006. Disponível em: <<http://edis.ifas.ufl.edu/pdffiles/MG/MG05000.pdf>>. Acessado em: 25/11/2009.
- CRESCIMANNO, F.G. Inviestigations on the flower biology of the loquat. **Riv. Orto-florofruitic Ital.** 83, 1958.
- DORMAN, K.W. **The genetics and breeding of southern pines**. Washington: USDA. Forest Service, 407 p., 1976.
- FREE, J. B. **Insect pollination of crops**. London: Academic Press. 1970.

- FREIHAT, N. M. et al. Fruit set and quality of loquats (*Eriobotrya japonica*) as effected by pollinations under sub-humid Mediterranean. **Scientia Horticulturae**. v.117, n. 1, p. 58-62, 2008.
- JOLY, A. B. **Botânica: Introdução à taxonomia vegetal**. 12. ed. São Paulo: Companhia Editora Nacional, v.4. 1998.
- McGREGOR, S. E. **Insect pollination of cultivated crop plants**. Washington: United States Department of Agriculture, 1976.
- SOKAL, R. R., F. J. ROHLF. **Biometry**. 3rd ed. W. H. Freeman, New York. 1995.
- WILLIAMS, I. H. Insect pollination and crop production: a European perspective. In: KEVAN, P. G.; IMPERATRIZ-FONSECA, V. L. (eds.) **Pollinating bees: the coservation link between agriculture and nature**. 2 ed. Brasília: MMA. 2006.
- McGREGOR, S. E. **Insect pollination of cultivated crop plants**. Washington: United States Department of Agriculture, 1976.
- LUNAU, K. Adaptative radiation and coevolution – pollination biology case studies. *Organisms, Diversity & Evolution*, v. 4, 2004.
- PELLETIER, L.; BROWN, A.; OTRYSKO, B. McNEIL, J.N. Entomophily of the Cloudberry (*Rubus chamaemorus*). **Entomologia Experimentalis et Applicata**, v.101, 2001.
- PÍAS, B.; GUITIÁN, P. Breeding System and Pollen limitation in the masting tree *Sorbus aucuparia* L. (Rosaceae) in the NW Iberian Peninsula. **Acta Oecologica**, v.29, n.1, p. 97-103, 2006.
- PIO, R.; DALL' ORTO, F.A.C.; BARBOSA, W.; CHAGAS, E. A.; OJIMA, M.; CIA, P. Produção de cultivares de nespereira na região Leste paulista. **Pesquisa agropecuária brasileira**, Brasília, v. 42, n. 7, 2007. Disponível em: <[http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0100-204X2007000700020&lng=en&nrm=iso](http://www.scielo.br/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0100-204X2007000700020&lng=en&nrm=iso)>. Acessado em 14 Jul. 2016.
- STANLEY, R. G.; LINSKENS, H. F. **Pollen: biology, biochemistry and management**. Berlin: Springer-Verlag, 307 p. 1974.
- TOLEDO, V.A.A.; FRITZEN, A.E.T.; NEVES, C.A.; RUVOLO-TAKASUSUKI, M.C.C; SOFIA, S.H.; TERADA, Y. Plants and pollinating bees in Maringá, State of Paraná, Brazil. **Braz. arch. biol. technol.**, v.46, n.4, p. 705-710, 2003.
- WOLFF, D. Nectar sugar composition and volumes of 47 species of Gentianales from a Southern Ecuadorian Montane Forest. **Annals of Botany**, v.97, p.767-777, 2006.