



UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA

este exemplar corresponde a redução final da tese
defendida pela candidata HÉLIDA BRUNO NOGUEIRA BORGES
e aprovada pela comissão julgadora.

BIOLOGIA REPRODUTIVA DE QUATRO ESPÉCIES DE
MELASTOMATACEAE

HÉLIDA BRUNO NOGUEIRA BORGES

DISSERTAÇÃO APRESENTADA AO
INSTITUTO DE BIOLOGIA DA
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE
CAMPINAS, PARA OBTENÇÃO DO
TÍTULO DE MESTRE EM CIÊNCIAS
BIOLÓGICAS, ÁREA DE BIOLOGIA
VEGETAL.

ORIENTADOR: PROF. DR. GEORGE JOHN SHEPHERD

B644b

13595/BC

CAMPINAS - SÃO PAULO
1991

UNICAMP
BIBLIOTECA GERAL

Aos meus pais e irmãos
dedico este trabalho

AGRADECIMENTOS

A todos que contribuíram direta ou indiretamente para a realização deste trabalho, agradeço.

Agradeço em especial ao professor George John Shepherd pela orientação e paciência,

Ao professor Alfredo Elio Cocucci pelo auxílio na interpretação dos dados embriológicos,

A professora Marília de M. Castro pelo auxílio na interpretação dos dados anatômicos,

As professoras Marlies Sazima, Angela Borges Martins e Neusa Taroda pela leitura crítica e sugestões durante a pré-banca,

Aos professores e funcionários do Departamento de Botânica pela gentileza,

Aos funcionários Wilma C. Ferraz, Maria Odeti F. Pedrossantti e Sebastião H. Militão pela colaboração durante a coleta dos dados,

Ao Conselho Nacional de Pesquisas Científicas (CNPq) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de São Paulo (FAPESP) pelo apoio financeiro,

A Carmen Silvia Zickel pela iniciação no universo dos computadores e grande amizade,

Ao Luciano Paganucci, Maria Eugênia Amaral e Ligia Tobias pelas fotografias e amizade,

Aos demais amigos que acompanharam e participaram da elaboração deste trabalho sempre com respeito, companheirismo e alegria.

C O N T E Ú D O

	PÁGINA
RELAÇÃO DE FIGURAS	i
RELAÇÃO DE TABELAS	iv
1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAIS E MÉTODOS	8
3. RESULTADOS	15
3.1 - Caracterização de populações	15
3.2 - Caracterização morfológica	17
3.3 - Reprodução vegetativa	21
3.4 - Fenologia da floração	23
3.5 - Sistema de polinização	26
3.6 - Viabilidade dos grãos de pólen	36
3.7 - Tubo polínico	42
3.8 - Sistema reprodutivo	45
3.9 - Aspectos embriológicos	52
3.10 - Razão pólen/óvulo	63
4. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO	64
5. RESUMO	84
6. ABSTRACT	87
7. BIBLIOGRAFIA	90

RELAÇÃO DE FIGURAS

FIGURA	PÁGINA
1. Aspecto geral da flor. A - <i>M. elegans</i> Cogn.; C - <i>M. theaezans</i> (Bonpl.) Cogn.; E - <i>L. australis</i> (Cham.) Cogn.; F - <i>M. discolor</i> DC. Vista lateral dos estames. B - <i>M. elegans</i> Cogn.; D - <i>M. theaezans</i> (Bonpl.) Cogn.	19
2. Corte anatômico de rizoma de <i>M. theaezans</i> (Bonpl.) Cogn.. me - medula; xp - xilema primário; xs - xilema secundário; fc - faixa cambial; fs - floema secundário; fp+p - floema primário e periciclo; e - endoderme; pc - parênquima cortical; p - periderme.....	22
3. Florescimento sequencial de <i>M. elegans</i> Cogn., <i>M. discolor</i> DC., <i>M. theaezans</i> (Bonpl.) Cogn. e <i>L. australis</i> (Cham.) Cogn. ao longo do ano de 1988/89.	24
4. Período de florescimento entre grupos de <i>M. discolor</i> DC. - 1988/89.	24
5. <i>M. elegans</i> Cogn. - A. estigma, auto-polinização 12hs; B. reação de incompatibilidade, auto-polinização 24hs; C. base do estilete, polinização cruzada 12hs; D. estilete, polinização cruzada 24hs. <i>M. discolor</i> DC. - E. estigma, auto-polinização 24hs; F. estilete, auto-polinização 24hs. <i>M. theaezans</i> (Bonpl.) Cogn. - G. estigma e estilete, auto-polinização 13hs.....	43
6. Precipitação total e temperatura média mensal- 1988/1989 (Região de Campinas -Instituto Agronômico de Campinas -IAC)	46
7. <i>M. elegans</i> Cogn. - A. telófase meiótica II na microesporogênese; B. tétrade de micrósporas; C. gametófito masculino trinucleado; D. tétrade de megásporas com a calaza funcional; E. saco embrionário binucleado; F. saco embrionário tetranucleado; G.	

- megagametófito maduro, octonucleado. M. discolor DC. - H,I,J. tétrade de micrósporas com distinto grau de aborto; K,L. tétrade de megásporas com a calazal funcional; M. conjunto de grãos de pólen abortados com apenas um viável em estágio de microgametófito binucleado. 54
8. *M. elegans* Cogn. - A,B. tétrade de megásporas com a calazal funcional; C. microgametófitos maduros; D. saco embrionário tetranucleado; E. saco embrionário octonucleado. 56
9. *M. discolor* DC. - A. dois embriões adventíceos com aproximadamente seis células; B. descarga de um tubo polínico; C. megagametófito octonucleado imaturo; D. poliembrionia adventícea; E. megametófito octonucleado maduro; F. pró-embrião adventíceo com aproximadamente 12 células; Ti. tegumento interno; cn. massa de células nucelares que servem de suporte ao embrião; S. suspensor. 57
10. *M. discolor* Cogn. - A. megagametófito octonucleado; B. conjunto de grãos abortados; C. descarga de um tubo polínico; D,E. pró-embrião adventíceo com aproximadamente oito células; e-endotélio 58
11. *L. australis* (Cham.) Cogn. - A,B. tétrade de micrósporas; C. micrósporo; D. microgametófito binuclear; E. conjunto de grãos de pólen viáveis e abortivos; F. saco embrionário binucleado; G. díade- meiose I da megaesporogênese; H. tétrade de megásporas com a calazal funcional; I. pró-embrião adventíceo com seis células; J. saco embrionário tetranucleado, polo calazal necrótico; K. pró-embrião bicelular, endosperma nuclear com aproximadamente 16 núcleos; L. megagametófito maduro. 61
12. *L. australis* (Cham.) Cogn. - A. tétrades de micrósporas; b. grãos de pólen abortados e apenas dois viáveis; C. pró-embrião adventíceo com seis células; D. saco embrionário tetranucleado abortado. 62

13. Sistema reproductivo - análise inter específica 65

RELAÇÃO DE TABELAS

TABELA	PAGINA
1. Viabilidade do pólen de <i>M. elegans</i> Cogn. - 1988/89	37
2. Viabilidade do pólen de <i>M. discolor</i> DC. - 1988	38
3. Viabilidade do pólen de <i>M. discolor</i> DC. - 1989	39
4. Viabilidade do pólen de <i>M. theaezans</i> (Bonpl.) Cogn. - 1988/89 ..	40
5. Viabilidade do pólen de <i>L. australis</i> (Cham.) Cogn. - 1988/89 ..	41
6. Crescimento de tubos polínicos em <i>M. elegans</i> Cogn.	44
7. Sistema reprodutivo de <i>M. elegans</i> Cogn. - percentagem de frutos formados em 1988/89	47
8. Taxa de polinização natural em <i>M. elegans</i> Cogn. - 1989	48
9. Sistema reprodutivo de <i>M. discolor</i> DC. - percentagem de frutos formados em 1988/89	49
10. Sistema reprodutivo de <i>M. theaezans</i> (Bonpl.) Cogn. - percentagem de frutos formados em 1988/89	50
11. Sistema reprodutivo de <i>L. australis</i> (Cham.) Cogn. - percentagem de frutos formados em 1988/89	51
12. Percentagem de frutos formados a partir de botões em <i>L. australis</i> (Cham.) Cogn. - 1989	52
13. Razão pólen/óvulo inter específica	63
14. Características reprodutivas das espécies estudadas	83

1. INTRODUÇÃO

Uma das características fundamentais dos organismos vivos é a capacidade de reprodução. Esta é a condição para perpetuação de populações e espécies ao longo do tempo e o único meio de multiplicação, aumento em número e colonização de novos territórios (GRANT, 1981).

Na maioria dos animais e em muitos vegetais a reprodução está ligada à sexualidade. A distinção básica entre estes dois aspectos, reprodução e sexualidade, existe de uma forma velada em animais e plantas superiores. Nestes organismos, sexualidade significa que são necessários dois indivíduos para desenvolver o processo de reprodução e que na sua ausência um indivíduo sózinho poderia assegurar utilizando algum método vegetativo (GRANT, 1981).

Nos vegetais a sexualidade se expressa através da separação das funções masculinas e femininas em diferentes indivíduos (dioiccia), ou na reunião destas funções na mesma flor (hermafroditismo) ou na mesma planta (monoiccia). Muitas vezes a sexualidade nestas espécies está mesclada com a capacidade de gerar novos indivíduos a partir de meios assexuais. Sendo assim, em função das interrelações entre reprodução e sexualidade, convencionalmente associa-se estes aspectos indicando que as espécies vegetais apresentam reprodução sexuada e/ou assexuada.

A reprodução sexuada é viabilizada por mecanismos morfológicos, fisiológicos e/ou genéticos que promovem autofecundação ou fecundação cruzada. Por outro lado, a reprodução assexuada é marcada pela substituição da fecundação por replicação de

genótipos via crescimento vegetativo e/ou sementes originadas de óvulos não fecundados (agamospermia). A soma destes mecanismos, reunidos em diferentes combinações e número nas espécies, determina o que comumente referimos como sistema reprodutivo.

O sistema reprodutivo, através do controle da fecundação somado ao sistema meiótico, determina o grau de recombinação genética que é considerada a fonte principal da variabilidade presente nas espécies (GRANT, 1981). Esta premissa ressalta a importância da reprodução em estudos taxonômicos e evolutivos (BAWA et al., 1985a; HEYWOOD, 1970; RICHARDS, 1986; STACE, 1980); melhoramento (BAWA, 1976; FRANKEL & GALUN, 1977); programas de conservação genética (BRUNE & MELCHIOR, 1976; KAGEYAMA, 1987) e manejo de espécies, grupos taxonômicos ou comunidades vegetais (BULLOCK, 1985).

As florestas tropicais são consideradas como ecossistemas carentes de tais informações. Segundo BRAZIER et al. (1976) não existem dados satisfatórios sobre a extensão, composição, estrutura e ecologia das florestas naturais em países tropicais. Em consequência, este recurso continua a ser usado de um modo geralmente ineficiente e potencialmente desastroso. Embora se restringindo a espécies arbóreas, HAWKES (1976) salienta que existem apenas informações iniciais sobre o sistema reprodutivo destas espécies e que este fato também justifica a necessidade de conservação das florestas tropicais.

As poucas pesquisas desenvolvidas enfatizam a biologia reprodutiva de espécies arbustivas e, principalmente, de arbóreas (e. g. AUGSPURGER, 1980; BAWA, 1977; BULLOCK, 1982; TARODA & GIBBS, 1982). Para espécies herbáceas, trepadeiras e epífitas os dados são quase inexistentes. As informações coletadas nestes estudos, geralmente,

reforçam aquelas obtidas para comunidades vegetais tropicais.

A nível de comunidades existem trabalhos abrangendo aspectos reprodutivos em floresta tropical semi-decídua (BAWA, 1974); floresta tropical decídua (BULLOCK, 1985; RUIZ & ARROYO, 1978), floresta tropical úmida (BAWA, 1979; 1985a) e floresta tropical de altitude (SOBREVILA & ARROYO, 1982). Os resultados indicam que a fecundação cruzada (xenogamia) é bem representada nestas áreas, uma vez que predominam espécies hermafroditas e monóicas auto-incompatíveis e espécies dióicas. Cabe ressaltar que os dados se referem basicamente a espécies arbóreas e que observações sobre agamospermia foram desenvolvidas em um número limitado de espécies.

A reprodução das espécies tropicais normalmente é dependente da atuação dos animais como vetores de pólen. Para BAWA (1979), muitos aspectos da morfologia floral são uma manifestação do sistema de reprodução que prevalece por um lado, e do sistema de polinização por outro.

Em uma floresta tropical úmida na Costa Rica, BAWA et al. (1985b) avaliaram que cerca de 50% das espécies arbóreas possuem polinizadores com ampla distância de forrageamento. Em espécies cujos polinizadores exibem distância de forrageamento limitada, a variação temporal e espacial no oferecimento de recursos geralmente provoca o movimento de polinizadores inter-plantas. Para estes autores, com base apenas na dinâmica de polinização, não existem razões para suspeitar que auto-fertilização predomine em espécies arbóreas de florestas tropicais úmidas.

Embora as evidências experimentais ressaltem a importância da reprodução sexuada nas florestas tropicais, principalmente da

fecundação cruzada, não podemos desconsiderar a ocorrência de agamospermia e suas consequências sobre a ecologia das espécies que compõem estes ecossistemas. A presença de agamospermia em florestas tropicais foi detectada em espécies das famílias Bombacaceae (BAKER, 1960), Clusiaceae (HA et al., 1988), Dipterocarpaceae (KAUR et al. 1978) e Melastomataceae (RENNER, 1989).

Os estudos com Dipterocarpaceae, na Malásia, sugerem que a agamospermia pode ter uma frequência maior do que a suposta em florestas tropicais. KAUR et al. (1978), trabalhando com esta família, comprovaram a existência de agamospermia em 3 espécies e consideram a possibilidade para 21 outras que exibem poliembrionia. Os autores enfatizam que é impossível desprezar a contribuição da agamospermia tanto para a evolução de algumas das espécies estudadas quanto para a alta diversidade florística que caracteriza as florestas tropicais úmidas. BAKER et al. (1983) salientam que a probabilidade deste mecanismo ser comum em florestas tropicais aumenta quando consideramos que 30 gêneros tropicais foram incluídos em listagem das espécies agamospéricas de regiões temperadas (ver NYGREN 1954; 1967).

Estudos sobre reprodução vegetativa também são restritos para florestas tropicais. De acordo com BAKER et al. (1983) existe a suposição que espécies arbóreas com baixa produção de sementes e alta frequência de plântulas apresentam reprodução vegetativa. Conforme JANZEN (1980), na vegetação tropical o modo de reprodução assexuada mais evidente é a produção de longas raízes horizontais que, por sua vez, dão origem a brotos verticais. Ainda para o autor, este comportamento é observado basicamente em trepadeiras de florestas tropicais úmidas e pela maioria das plantas de florestas tropicais

decíduas.

Dentre as numerosas famílias que compõem a vegetação tropical, Melastomataceae se destaca pelo número de espécies, diversidade de hábitos de crescimento e ambientes ocupados, bem como pelas suas características reprodutivas. Ervas, arbustos, árvores, epífitas e trepadeiras estão presentes em savanas e florestas (BAWA, 1985a; HILTY, 1980; RENNER, 1984; SOBREVILA & ARROYO, 1982). No Brasil a família também ocupa os cerrados e campos rupestres (JOLY, 1975), campos de altitude, brejos e restingas (COGNIAUX, 1886-1888).

Em estudos no cerrado do Triangulo Mineiro, GOODLAND & FERRI (1979) apontam as Melastomataceae como um dos principais componentes da flora. Para os autores, "esta família não é significativa em termos mundiais absolutos, estando, portanto, super-representada no cerrado, o que a torna mais característica desta vegetação".

Quando em mata, as espécies desta família são observadas ocupando preferencialmente o sub-bosque (e.g. BAWA, 1985a; GENTRY & EMMONS, 1987). De acordo com GENTRY & EMMONS (1987) o sub-bosque, embora frequentemente negligenciado, é uma parte importante da comunidade. Os autores relatam que, em levantamentos realizados em cinco áreas de floresta tropical úmida, 21% a 47% das espécies amostradas estavam no sub-bosque. Também enfatizam que muitas espécies de insetos, pássaros e mamíferos estão restritos ao sub-bosque e as plantas que o compõem são a maior fonte de alimento para estes animais.

Em levantamento sobre a biologia reprodutiva da família, RENNER (1989) relaciona 22 espécies agamospérmicas, distribuídas em *Aciotis*, *Clidemia*, *Macairea*, *Maieta*, *Miconia* e *Rhexia*.

Miconia, com 11 espécies agamospérmicas, destaca-se como o gênero que abrange maior número de espécies com este sistema de reprodução.

Segundo RENNERT (1989) além da agamospermia, a família exibe como forma de reprodução xenogamia obrigatória e xenogamia facultativa, considerando 25 espécies auto-incompatíveis e 22 espécies auto-compatíveis observadas, respectivamente. Todavia, para a autora, existe a probabilidade que muitas das espécies julgadas auto-compatíveis sejam na realidade agamospérmicas, uma vez que não foi efetuada nenhuma tentativa para distinguir auto-compatibilidade de pseudogamia.

Embora tenha sido detectada dioiccia em algumas espécies, o hermafroditismo predomina como forma de sexualidade na família. O sistema de polinização para a maioria das espécies é melitófilo, desenvolvido principalmente por abelhas vibradoras. As exceções são as espécies polinizadas por morcegos, beija-flores e roedores que oferecem pólen e ainda néctar como recurso aos visitantes (RENNERT, 1989).

Um outro aspecto a ser observado para Melastomataceae diz respeito ao número de espécies que compõe esta família. A maioria dos pesquisadores concorda que a família apresenta um conjunto de características que a torna bem definida. Entretanto, em relação ao número de espécies as estimativas variam entre 3500 (BARROSO, 1984) a 4500 (WURDACK, 1980). Segundo BARROSO (1984) esta diferença reflete a difícil sistemática da família, em grande parte determinada pelos gêneros mal delimitados quanto ao número de espécies, como **Miconia** e **Leandra**.

Existe a possibilidade de que a diversidade de mecanismos empregados na reprodução da família (ver RENNER, 1989) está sendo um fator marcante na sua complexidade taxonômica.

Além do definido mérito ecológico e taxonômico para os trópicos, atualmente, a família assume um importante papel na recuperação de áreas degradadas na Serra do Mar, próximas ao município de Cubatão, SP. Em função da representatividade na flora local, resistência a poluentes atmosféricos e caráter pioneiro, foram indicadas 25 espécies da família Melastomataceae, incluindo *Leandra australis* (Cham.) Cogn. e *Miconia theaezans* (Bonpl.) Cogn., como elementos principais de um programa piloto de recomposição da vegetação nessas áreas (POMPÉIA et al. 1989).

Desta forma, considerando que pesquisas enfocando o tipo de reprodução de membros da família Melastomataceae poderão auxiliar em futuros trabalhos taxonômicos do grupo, bem como acrescentar informações acerca da biologia reprodutiva de espécies tropicais, foram desenvolvidos estudos com *Miconia discolor* DC., *M. elegans* Cogn., *M. theaezans* (Bonpl.) Cogn. e *Leandra australis* (Cham.) Cogn. em mata localizada próxima ao município de Campinas, SP.

Os estudos objetivaram caracterizar a biologia reprodutiva das espécies através de análise morfológica; avaliação da existência de reprodução vegetativa; viabilidade dos grãos de pólen; presença ou ausência de auto-incompatibilidade, via crescimento de tubos polínicos; emasculações e polinizações em campo; análise embriológica preliminar; razão pólen/óvulo e observações gerais sobre a floração e sistema de polinização.

2. MATERIAIS E MÉTODOS

As observações sobre aspectos reprodutivos de *Niconia discolor* DC., *N. elegans* Cogn., *N. theaezans* (Bonpl.) Cogn. e *Leandra australis* (Cham.) Cogn. foram realizadas no decorrer dos anos de 1988, 1989 e primeiro semestre de 1990.

Os estudos foram desenvolvidos na mata da Reserva Municipal "Fazenda Santa Genebra" situada à 22°50' S e 47°07' O, abrangendo cerca de 250 hectares e caracterizada como mesófila, semi-decídua e secundária.

Informações sobre precipitação e temperatura para a área nos anos de 1988 e 1989 estão reunidas no climatograma elaborado com dados cedidos pela Estação Meteorológica da Seção de Climatologia Agrícola do Instituto Agronômico de Campinas, SP.

As espécies apresentam suas populações, preferencialmente, em pontos da mata onde os solos são encharcados. Para cada espécie selecionou-se uma população, onde parte dos indivíduos foi etiquetada e analisada em relação à:

a. **Caracterização morfológica:** por meio de descrição das características morfológicas de estruturas vegetativas e reprodutivas;

b. **Reprodução vegetativa:** Através de escavações no solo em torno de dois ou até quatro indivíduos procurou-se avaliar a possível ligação destes com outros próximos por meio de estruturas vegetativas. Quando evidenciou-se ligação por estruturas subterrâneas estas foram coletadas, fixadas em FAA 50% e, em seguida, cortadas a mão livre

visando determinar se tinham origem caulinar ou radicular. Os cortes foram diafanizados em água sanitária 20%, lavados sucessivamente em água destilada e desidratados em álcool 20%, 30%, 50% e 70%. Posteriormente, foram coloridos em safranina 4% e azul astra 1% por dois minutos, desidratados em álcool 50%, 70%, 90%, 100% (2x), álcool-xilol (1:2), xilol e depositados em lâmina contendo bálsamo do Canadá.

c. **Fenologia da floração:** observou-se entre sete e quinze dias indivíduos ou grupos, e mensalmente a população. O período de florescimento individual foi definido pela quantidade de dias em que se registrou botões e flores em cinco indivíduos de *M. elegans* e cinco de *M. theaezans*. Para *M. discolor* e *L. australis* o período foi determinado pela quantidade de dias em que os indivíduos presentes nos grupos que compõem a população exibiram botões e flores. Os meses onde um número significativo de inflorescências (20%) exibiram flores, por indivíduo ou grupo, foram considerados picos de produção de flores.

d. **Sistema de polinização:** em uma inflorescência marcada registrou-se o horário de abertura das flores, fase de receptividade do estigma e disponibilidade dos grãos de pólen, cor, odor e disposição dos elementos florais ao longo do dia. Observou-se ainda o horário de visita, quantidade de indivíduos e comportamento dos visitantes. Posteriormente, foi verificado se o conjunto de características apresentadas pelas flores (síndrome) refletia interação com qualquer dos visitantes.

A receptividade de estigmas foi avaliada em campo pela presença ou não de exudado e em laboratório utilizando-se água

oxigenada (ZEISLER, 1938) e Sudam III (JOHANSEN, 1940).

Para todas as espécies algumas flores foram analisadas visando detectar a presença de osmóforos, de acordo com a técnica de VOGEL (1963).

Como apenas parte dos visitantes foram coletados, a avaliação dos "prováveis polinizadores" para cada espécie realizou-se, principalmente, a partir de observações em campo. As abelhas coletadas foram identificadas a nível de família seguindo a chave de identificação para Hymenopteros elaborada por BORROR & De LONG (1969). Aquelas do gênero *Epicharis*, bem como os Coleopteros e Hemipteros, foram identificados através de comparação com exemplares do Museu de História Natural da Universidade Estadual de Campinas - UNICAMP. As abelhas grandes, embora não coletadas, foram identificadas a nível de gênero por meio de comparações de aspectos morfológicos (cor, pilosidade, tamanho) e comportamentais com descrições elaboradas por BORROR & De LONG (1969):

e. **Viabilidade dos grãos de pólen:** determinada para cinco a dez botões coletados em fase de pré-antese em cinco a doze indivíduos. Cada botão teve todas as anteras retiradas, depositadas e esmagadas sobre uma lâmina contendo uma gota do corante carmin-acético (RADFORD et al., 1974).

Na contagem foram registrados o número de grãos viáveis e inviáveis em dez campos/lâmina. Em *M. elegans* e *M. theaezans* esse tipo de contagem foi efetuado somente para os indivíduos analisados quanto ao sistema de reprodução e nos demais, considerou-se um total de cinco campos/lâmina.

Em *M. discolor* a viabilidade foi avaliada também com azul de anilina em lactofenol, conforme indicado por HAUSER & MORRISON (1964), e testes de germinação. Para germinação coletou-se em tres indivíduos cinco botões cujas anteras foram esmagadas sobre uma lâmina microscópica contendo uma gota de água destilada visando a retirada dos grãos de pólen. Em seguida, com o auxílio de um pincel, os grãos foram espalhados sobre uma lâmina contendo agar (2%) e sacarose (10%, 20%, 30% ou 40%). As lâminas foram colocadas em gerbox com papel filtro umedecido e mantidas em germinador com 26°C e 90% de umidade relativa por períodos determinados de tempo (12, 24, 36 e 50 horas). Ao final de cada período foi aplicado carmin-acético sobre as lâminas objetivando melhor visualização e contagem dos grãos;

f. **Tubo polínico:** nas espécies de *Miconia* algumas flores polinizadas foram fixadas em FAA 80% após períodos variados de polinização. O crescimento de tubos polínicos no gineceu foi examinado em lâminas montadas seguindo técnica descrita por MARTIN (1959) e KHO & BAER (1968).

g. **Sistema reprodutivo** foi avaliado por meio dos seguintes tratamentos, desenvolvidos em flores iniciando a abertura ou recém abertas:

. auto-polinização espontânea: uma inflorescência foi apenas ensacada visando observar possível auto-polinização nas flores;

. auto-polinização manual: grãos de pólen coletados de várias flores no mesmo indivíduo foram depositados sobre o estigma de flores deste indivíduo com auxílio de um pincel (geitonogamia);

. polinização cruzada: grãos de pólen coletados de várias flores de outros indivíduos na população foram depositados sobre o estigma das flores de alguns indivíduos selecionados com auxílio de um pincel;

. teste para agamospermia: flores foram emasculadas e não polinizadas;

. controle: etiquetou-se uma ou mais inflorescências visando observar a polinização em condições naturais.

As flores submetidas a polinização cruzada e ao teste para determinar agamospermia foram emasculadas antes da abertura das anteras, evitando auto-polinização. Em todos os tratamentos, exceto o controle, as inflorescências foram ensacadas quando os botões estavam em fase anterior a pré-antese e após efetuadas as emasculações e polinizações. Os resultados foram considerados positivos com a formação de frutos contendo sementes.

Em *M. discolor* as flores foram submetidas à polinização cruzada com grãos coletados em diferentes grupos, nunca dentro do mesmo grupo.

Para *M. elegans* em 1989 registrou-se a quantidade de botões em duas inflorescências em fase jovem de dez indivíduos e após trinta dias estimou-se a taxa de polinização em condições naturais computando a quantidade de frutos formados. Neste ano a taxa de predação foi avaliada quantificando-se a quantidade de flores predadas e não predadas em uma inflorescência coletada em tres indivíduos.

Para *L. australis* estimou-se a produção de frutos originados a partir de botões, em 1989, através de contagem da quantidade de frutos em 95-100% das inflorescências de cada grupo;

h. **Análise embriológica preliminar:** através de diafanização de óvulos de *M. elegans* e cortes anômicos de botões em diversas fases de desenvolvimento para *M. discolor*, *M. elegans* e *L. australis*. Para *M. discolor* ainda efetuou-se cortes em flores e em *L. australis* em frutos imaturos. Alguns óvulos foram diafanizados seguindo técnicas descritas por RADFORD et al (1974).

Os botões, flores e frutos selecionados para cortes anômicos foram fixados em FAA 80% e desidratados em bateria de álcool (50%, 70%, 80%, 90% e 100%), álcool-xilol (2:1 e 1:2) e colocados em solução de xilol e parafina. Em seguida, cada material foi depositado em forma de papel contendo parafina líquida. Os blocos de parafina foram cortados em micrótomo com espessura entre 8 e 10 μ . O material cortado foi fixado em lâminas contendo esfregaço de albumina e corados com hematoxilina férrica segundo técnica de MEDINA & CONAGIN (1964);

i. **Razão pólen/óvulo:** determinada através da divisão da quantidade de grãos estimados pelo número de óvulos contados em cinco flores analisadas, para cinco indivíduos por espécie. As anteras de cada flor foram esmagadas em 1ml de ácido láctico e glicerina (3:1) (LLOYD, 1972), e, em seguida, foram tomadas duas amostras após agitação manual do meio. Os grãos foram computados nas dez sub-áreas de contagem de um hemacitômetro (Câmara de Neubauer) para ambas repetições. Posteriormente, avaliou-se a quantidade de grãos presentes no volume total da solução (1ml) seguindo as indicações de MAEDA (1985). A contagem do número de óvulos em microscópio estereoscópico ZEISS foi realizada nas flores em que se estimou a quantidade de grãos

de pólen.

Para cada espécie foi depositada uma exsicata no Herbário da Universidade Estadual de Campinas- UEC sob os seguintes números de registro: *M. discolor* UEC 21970; *M. elegans* UEC 23197; *M. theaezans* UEC 22839 e *L. australis* UEC 22840.

3. RESULTADOS

3.1 - CARACTERIZAÇÃO DAS POPULAÇÕES

3.1.1 - *Miconia elegans* Cogn.

A população estudada está localizada cerca de 10 a 15 metros distante da borda da mata, em local aberto. A espécie cresce formando touceiras, sendo cada uma delas considerada como um indivíduo. Foram computados um total de trinta indivíduos na população com uma distância média entre estes de cerca de 2 metros.

3.1.2 - *Miconia discolor* DC.

A espécie ocorre formando grupos com pequena distância entre indivíduos (ca.20cm). Foram identificados tres grupos (Grupos A, B, C) e o conjunto de grupos foi considerado uma população.

O grupo A concentra maior número de indivíduos. Foram computados setenta e quatro, sendo que até seis partem de um ponto comum. A maioria dos indivíduos apresenta pequena circunferência (ca.4cm) e altura até 1.7 metros. O indivíduo 1A apresenta maior circunferência (19cm) e altura (ca.2.5m) e está isolado à aproximadamente 5 metros do grupo. O grupo B reúne cerca de vinte e tres indivíduos, com até seis partindo de um ponto comum. Os indivíduos apresentam maior circunferência (ca.9cm) e alcançam em torno de 2.5 metros de altura. No grupo C foram computados vinte indivíduos. Todos com pequena circunferência (ca.3cm) e altura

inferior a 1.5 metros. Apenas dois indivíduos deste grupo produziram flores em 1988 e cerca de cinco indivíduos em 1989.

Os grupos estão presentes em locais parcialmente sombreados. Os grupos A e C situam-se na borda da mata, sendo que o segundo ocupa área não brejosa a cerca de 100 metros do primeiro. O grupo B está localizado 10 a 15 metros distante do grupo A em direção ao interior da mata.

3.1.3 - *Miconia theaezans* (Bonpl.) Cogn.

A população observada está presente no mesmo local ocupado pela população de *M. elegans*. Os indivíduos exibem menor porte, são eretos, sem ramificações na base e sombreados pelos de *M. elegans*. Foram computados cerca de vinte indivíduos em 1988 e quarenta em 1989, isolados ou em pequenos grupos com dois a cinco ramos. A distância média entre indivíduos isolados ou entre grupos é de 1.2 metros.

3.1.4 - *Leandra australis* (Cham.) Cogn.

A espécie ocorre de forma semelhante à observada para *M. discolor* e ocupa a mesma área.

Dos tres grupos identificados (A,B,C) o grupo A reúne maior número de indivíduos, cerca de vinte. Os indivíduos podem atingir 2 metros de altura com até quatro destes partindo de um ponto comum. No grupo B estão treze indivíduos com altura inferior à 1.2 metros, sendo que até sete partem de um ponto comum. O grupo C é formado por cerca de quinze indivíduos com cerca de 5 metros de altura. Foram observados

até oito partindo de um ponto comum. O grupo B está situado cerca de 8 metros da borda da mata e os grupos A e C situam-se 10 a 15 metros distantes da borda. O grupo C está 2 a 3 metros distante do A.

3.2 - CARACTERIZAÇÃO MORFOLÓGICA

Em *M. elegans* observou-se um gradiente em tamanho de flor, inflorescência e folha entre os indivíduos. Nesta espécie as folhas coletadas na porção superior da copa são, geralmente, menores que as da porção superior. O oposto é observado em *M. discolor*.

M. elegans mantém, a nível de indivíduo, certa coerência nas dimensões dos diferentes elementos morfológicos, isto é, aqueles cujas flores são menores apresentam também inflorescências e folhas menores, e vice-versa.

Miconia discolor exhibe diferenças entre grupos quanto ao hábito de crescimento, tamanho e cor do hipanto. Nos grupos A e C os indivíduos são decumbentes e os hipantos são menores (ca. 3mm), alongados e esverdeados. No grupo B os indivíduos crescem eretos, os hipantos apresentam cerca de 4mm e são campanulados e amarelados.

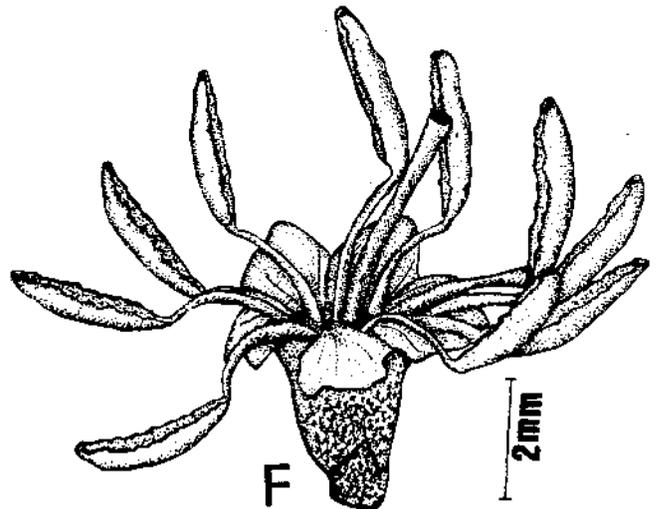
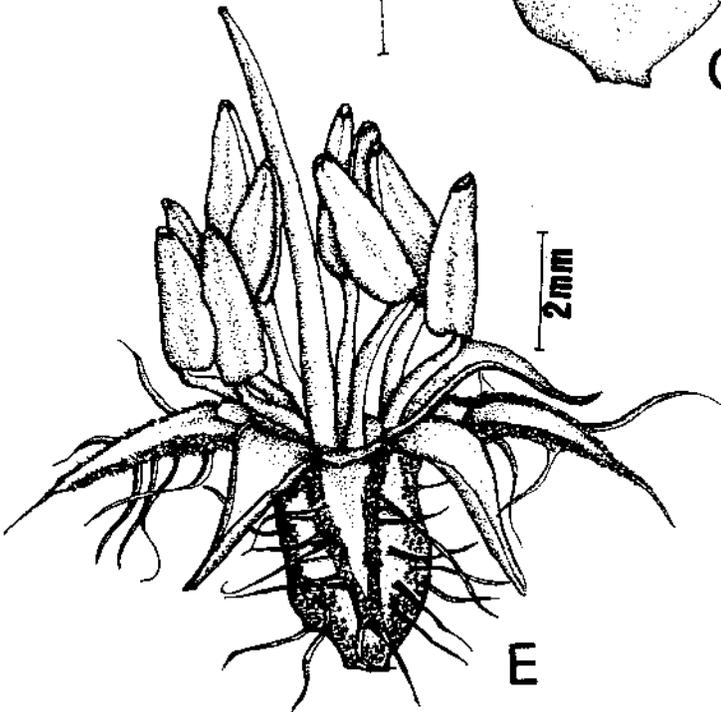
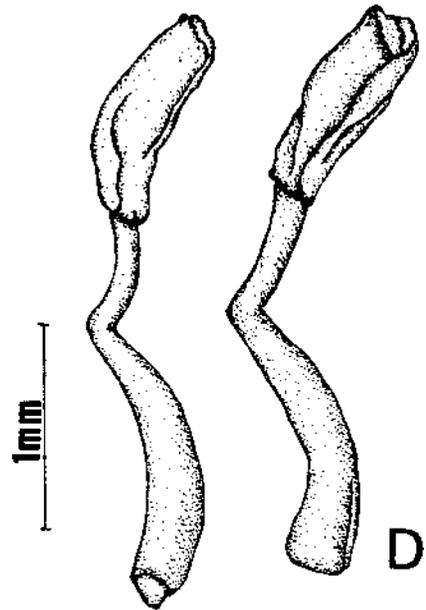
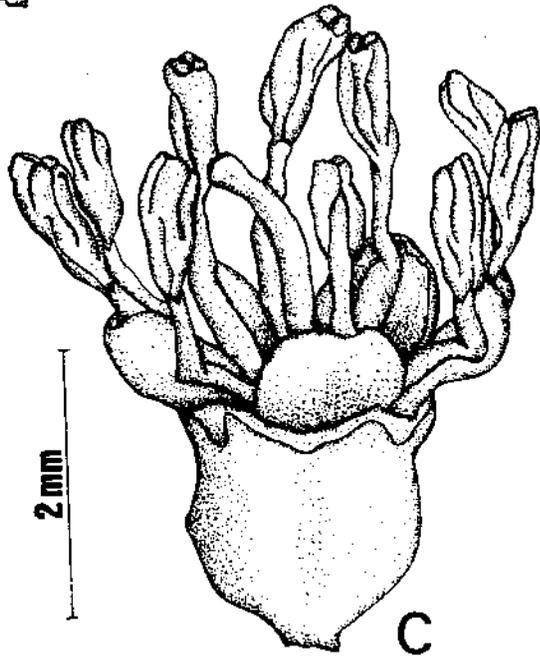
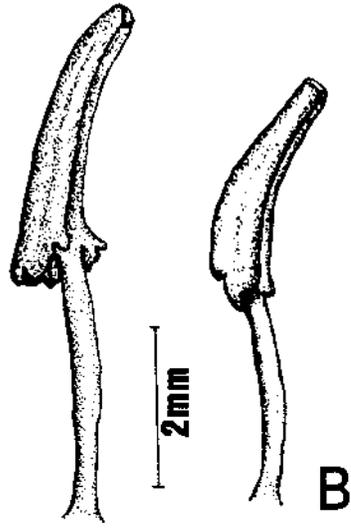
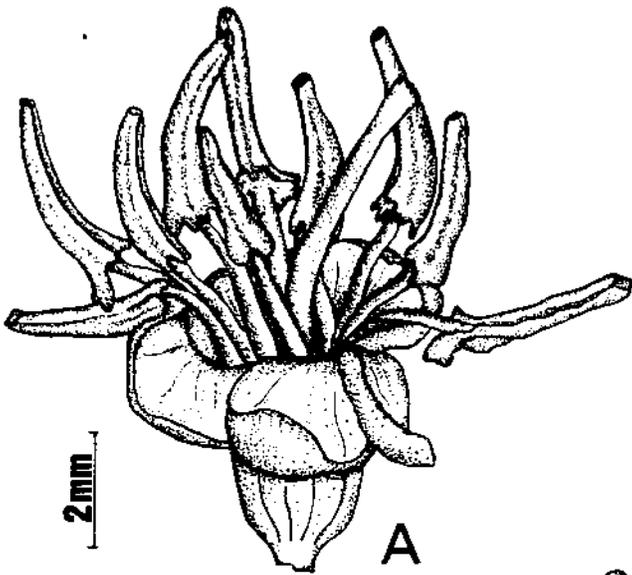
Para *M. theaezans* as variações são basicamente foliares, com diferenças no comprimento do pecíolo e nas dimensões e forma do limbo entre os indivíduos. Por outro lado, *L. australis* exhibe variação apenas intra grupos no tamanho das flores, cor das pétalas e nervação das folhas, podendo ser nérvias ou plinérvias.

3.2.1 - *Miconia elegans* Cogn.

Arbusto ereto com 2.0 a 3.0m de altura, formando touceiras com em média seis ramos por indivíduo. RAMOS glabros, superiormente comprimidos, inferiormente cilíndricos. FOLHAS glabras, pecioladas; pecíolos com 0.6-3.0cm de comprimento; limbo cartáceo, ovado-elíptico, levemente decurrente por todo o pecíolo, base levemente cuneada, ápice agudo a acuminado, triplinérvio, nervuras secundárias flexuosas, 6.0-18.5cm de comprimento e 3.4-9.0cm de largura. PANÍCULAS terminais, multifloras, glabras, com eixo de 8.0-24.0cm de comprimento. FLORES subsésseis, unibracteoladas, pentâmeras. CALICE com lacínios triangulares e agudos; hipanto campanulado, furfuráceo. PÉTALAS obovadas; ápice assimétrico e retuso. ESTAMES dispostos em duas séries alternadas, na série externa as anteras apresentam maior comprimento (ca.3mm) com a face ventral da base do conectivo bi-auriculada e a face dorsal calcarada, na série interna as anteras são menores (ca.2mm) com apêndice desenvolvido na face dorsal da base do conectivo, ápice uniporoso. OVARIO trilocular, pluriovulado. ESTILETE filiforme com cerca de 6mm de comprimento. ESTIGMA capitado. FRUTO bacáceo violáceo (FIG. 1A, 1B).

3.2.2 - *Miconia discolor* DC.

Arbusto com 1.0 a 3.0m de altura; ramos eretos ou decumbentes. RAMOS furfuráceos, superiormente comprimidos, inferiormente cilíndricos. FOLHAS sésseis ou sub-sésseis; limbo discolor, membranáceo, elíptico-obovado, levemente assimétrico, base



longo atenuada, ápice agudo-acuminado, bordos inteiros ou pouco ondulados, 5-plinérvio, face superior furfurácea, face inferior estrelado-tomentosa cinérea, com 11.0-31.0cm de comprimento e 6.5-11.0cm de largura. PANÍCULAS de glomérulos, terminais, multifloras, densamente estrelado-tomentosas, com eixo de 5.0-20.0cm de comprimento. FLORES sésseis, ebracteoladas, pentâmeras. CÁLICE truncado, com diminutas projeções na face dorsal dos lacínios; hipanto campanulado, com pilosidade denso-estrelada cinérea. PÉTALAS obovadas, ápice truncado, glabras. ESTAMES isomórficos; filetes laminares; anteras inapendiculadas, ápice uniporoso. OVÁRIO trilocular, pluriovulado. ESTILETE filiforme com cerca de 6mm de comprimento. ESTIGMA capitado. FRUTO bacáceo violáceo (FIG. 1F).

3.2.3 - *Miconia theaezans* (Bonpl.) Cogn.

Arbusto ereto, com 1.0-1.5m de altura. RAMOS glabros; superiormente quadrangulares, inferiormente cilíndricos. FOLHAS glabras, longo pecioladas; pecíolo com 1.0-2.5cm de comprimento; limbo membranáceo, obovado-oblongo, base levemente atenuada, ápice agudo-acuminado, margem serrada, trinérveo, pontuado-glanduloso em ambas as faces, com 1.0-10.0cm de comprimento, 1.5-4.0cm de largura. PANÍCULAS terminais, multifloras, com 2.0-7.0cm de comprimento. FLORES curto-pediceladas, bi-bracteoladas, pentâmeras. CÁLICE duplo; lacínios internos agudos; hipanto campanulado, com pontuações glandulares. PÉTALAS obovadas. ESTAMES dispostos em duas séries alternadas, os filetes da série externa apresentam cerca de 3mm de comprimento e os da série interna cerca de 2mm de comprimento; anteras inapendiculadas;

ápice 4-poroso. OVÁRIO trilocular, pluriovulado. ESTILETE filiforme com cerca de 2.5mm de comprimento. ESTIGMA capitado. FRUTO bacáceo acinzentado (FIG. 1C, 1D).

3.2.4 - *Leandra australis* (Cham.) Cogn.

Subarbusto a arbusto com 1.0-2.0m de altura, ramos eretos ou decumbentes. RAMOS recobertos por indumento velutino a purpúreo tornando-se denso da base para o ápice, superiormente comprimidos, inferiormente cilíndricos. FOLHAS pecioladas, pecíolo com cerca de 2.5cm de comprimento; limbo membranáceo, ovado, base cordada, ápice agudo, bordos levemente crenulados, 7-plinérvio, face superior velutina purpúrea e com tricomas estrelados nas nervuras, 4.5-14.5cm de comprimento e 1.5-10.2cm de largura. PANÍCULAS terminais, multifloras, com 10.0-13.0cm de comprimento. FLORES pediceladas, 2-bracteoladas, pentâmeras. CALICE duplo, lacínios externos lanceolados, internos triangulares, agudos, membranáceos; hipanto campanulado, densamente estrelado-tomentoso. PÉTALAS lanceoladas. ESTAMES isomórficos, anteras inapendiculadas, ápice uniporoso. OVÁRIO trilocular, pluriovulado. ESTILETE filiforme com cerca de 6mm de comprimento. ESTIGMA punctiforme. FRUTO bacáceo violáceo (FIG. 1E).

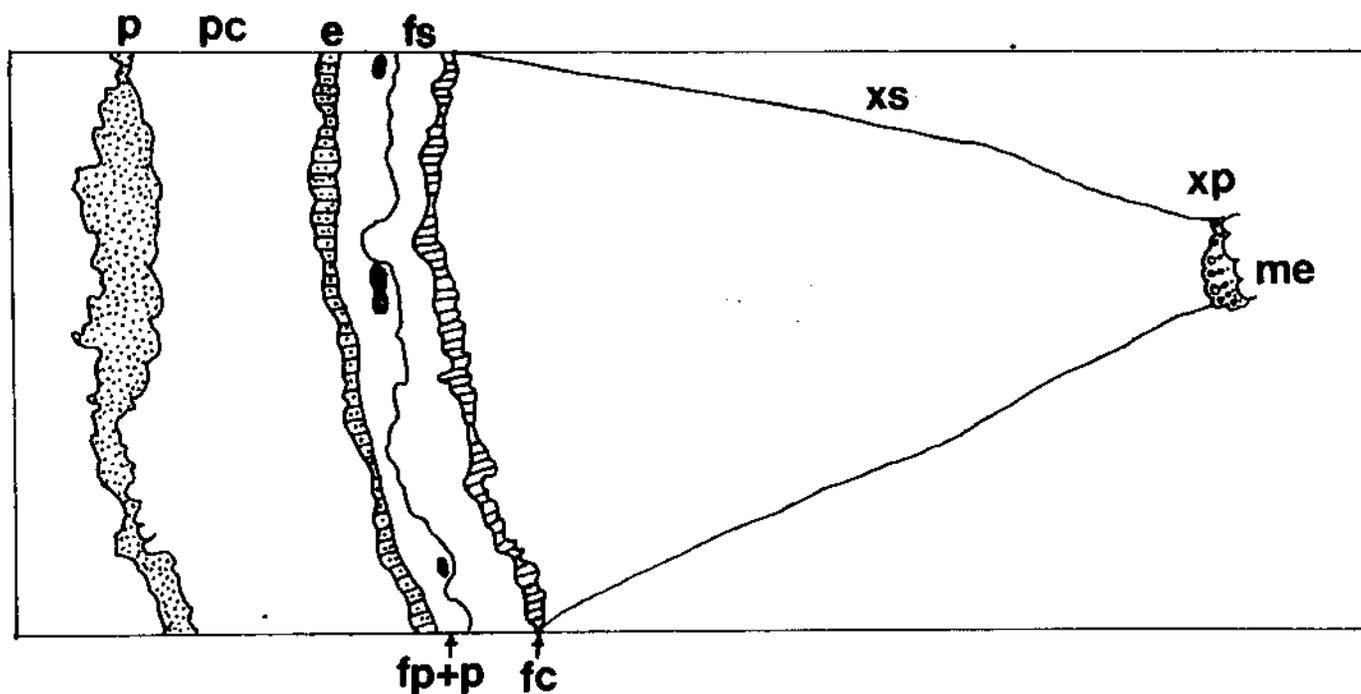
3.3 - REPRODUÇÃO VEGETATIVA

Para *M. discolor* e *L. australis* observou-se ligação entre indivíduos dentro dos grupos através de estolões, que estendidos ao longo do solo emitem em alguns pontos raízes e/ou novos ramos. A

distância máxima registrada entre ramos de um mesmo estolão é de 41cm para *M. discolor* e 81cm para *L. australis*. Este fato, associado a observação de vários ramos partindo de um ponto comum, confirma a hipótese de reprodução vegetativa nas duas espécies.

Para *M. elegans* e *M. theaezans* foi difícil determinar a presença deste tipo de reprodução porque apresentam sistema radicular mais profundo e desenvolvido que se confunde no solo brejoso com os de outras espécies que ocupam a mesma área.

Apesar das tentativas, não foi possível avaliar se existe ligação entre os indivíduos de *M. elegans*. Em *M. theaezans* os indivíduos próximos (ca.5-10cm) estão ligados através de rizomas (FIG. 2) e, portanto, ocorre reprodução vegetativa dentro dos pequenos grupos de indivíduos que compõem a população desta espécie.



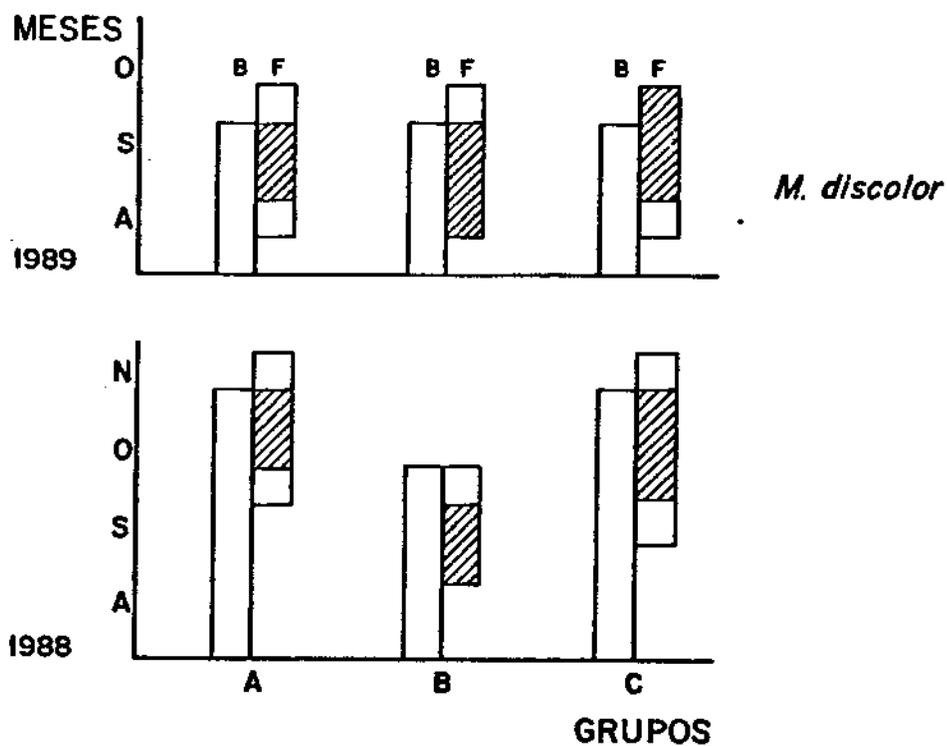
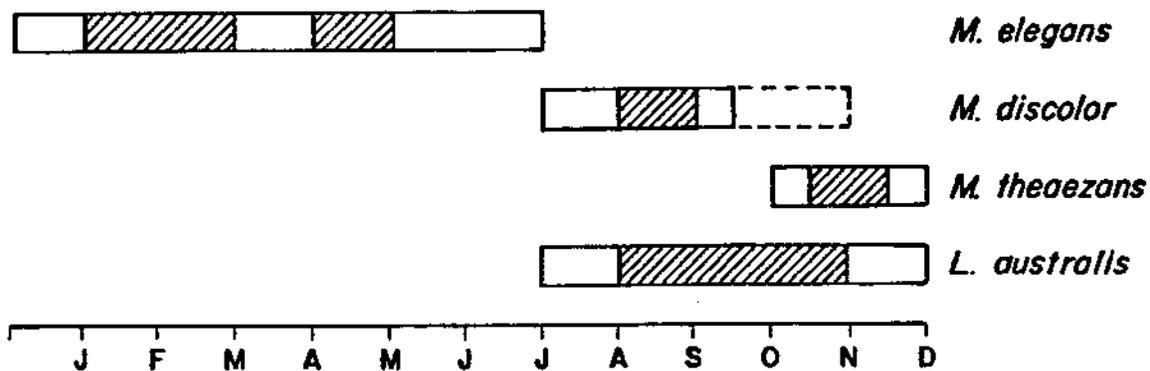
3.4 - FENOLOGIA DA FLORAÇÃO

O período de florescimento das espécies ocorre sequencialmente ao longo do ano (FIG. 3). A primeira espécie a florescer é *M. elegans* (Jan-Jul), seguida por *M. discolor* (Ago-Nov), *M. theaezans* (Out-Dez) e *L. australis* (Ago-Dez). Os dados apontam sobreposição parcial no florescimento entre *M. discolor*, *M. theaezans* e *L. australis*.

3.4.1 - *Miconia elegans* Cogn.

Os resultados indicam um período de florescimento de quatro a cinco meses para os indivíduos de *M. elegans*. O florescimento da espécie foi caracterizado pela produção de numerosas inflorescências por indivíduo nos dois primeiros meses e produção contínua em menor escala nos meses seguintes.

Os indivíduos apresentaram de um a quatro picos de produção de flores durante o período de florescimento da espécie, com coincidência de picos entre estes indivíduos. Em 1988 ocorreu um grande pico em fevereiro, onde acima de 50% das inflorescências dos indivíduos exibiram flores. A nível de população ocorreu sincronismo parcial de florescimento entre os indivíduos nos dois anos.



3.4.2 - *Miconia discolor* DC.

O período de florescimento dos grupos de *M. discolor* durou cerca de dois e meio a quatro meses (FIG. 4). Nos tres grupos observou-se a emissão da maior parte das inflorescências no primeiro mês do período (Ago).

Nos grupos A e C o desenvolvimento dos botões foi lento em 1988. A abertura dos botões iniciou-se a partir da primeira quinzena de outubro no grupo A e segunda quinzena de setembro no grupo C. Para o grupo B, entretanto, ocorreu a abertura dos botões no princípio do mês de setembro. Em 1989 o período de florescimento se restringiu a dois e meio meses para os tres grupos, coincidindo o início da abertura dos botões na segunda quinzena de agosto. Os grupos apresentaram somente um pico de produção de flores que perdurou por cerca de um mês. Em 1988 os picos foram simultâneos entre os grupos A e C e um indivíduo do grupo B. Para 1989, os tres grupos exibiram um pico comum em setembro. A nível de população, portanto, ocorreu sincronismo parcial no período de florescimento intra e entre grupos em 1988 e sincronismo total em 1989.

3.4.3 - *Miconia theaezans* (Bonpl.) Cogn.

O período do florescimento dos indivíduos de *M. theaezans* se estendeu por cerca de dois e meio meses, sendo que a maior parte das inflorescências foram emitidas no início do período.

Os indivíduos apresentaram somente um pico de produção de flores que perdurou em torno de um mês, com coincidência dos picos

entre os indivíduos. A queda de numerosos botões pela ação das chuvas resultou em menor número de flores em 1989. A nível de população ocorreu sincronismo total no período de florescimento entre indivíduos nos dois anos.

3.4.4 - *Leandra australis* (Cham.) Cogn.

O período de florescimento dos grupos de *L. australis* durou cerca de quatro a cinco meses. As inflorescências foram produzidas predominantemente no início do período. Ao longo deste, as inflorescências aumentam em comprimento e quantidade de ramificações onde novos botões são emitidos. Foram necessários cerca de quarenta e cinco dias para que as mesmas completassem o ciclo de desenvolvimento botão/flor/fruto.

Os grupos apresentaram de tres a quatro picos de produção de flores ao longo do período de florescimento da espécie, com picos simultâneos entre os mesmos. A nível de população ocorreu sincronismo total no período de florescimento intra e entre grupos.

3.5 - SISTEMA DE POLINIZAÇÃO

As inflorescências estão localizadas no ápice dos ramos, destacando-se da folhagem. As flores são hermafroditas e suas anteras são poricidas (FIG. 1A-F). Os filetes permanecem inflexos e as anteras posicionadas paralelamente entre si no hipanto. Nas espécies de *Miconia* o hipanto é verde e os demais elementos florais são brancos, com exceção das anteras de *M. theaezans* que são amareladas. As flores

de *M. theaezans* são as menores, medindo cerca de 5mm de comprimento e as maiores são de *Leandra australis* com cerca de 12mm, nas demais espécies as flores atingem 8mm de comprimento. As flores de *L. australis* são rijas, mas nas espécies de *Miconia* a consistência destas é delicada.

Em *M. elegans*, *M. theaezans* e *L. australis* ocorre desenvolvimento diferenciado dos botões na panícula, determinando um padrão de abertura não regular. Por outro lado, em *M. discolor* o desenvolvimento sequencial dos botões estabelece como padrão, a abertura dos mesmos da base em direção ao ápice da inflorescência.

Ao longo do dia que antecede a abertura da flor, o estigma e parte do estilete são lançados para fora das pétalas. Nas primeiras horas da manhã seguinte as pétalas distanciam-se uma das outras sincronicamente, permitindo visualizar o estilete curvo. Durante este período os filetes completam o seu crescimento ocasionando a saída das anteras do hipanto, após a seguinte sequência: os filetes curvam-se em direção às pétalas; em seguida, através de um movimento das anteras no sentido horário estas são liberadas e após o seu posicionamento ereto, os grãos de pólen estão disponíveis; posteriormente, os filetes efetuam um movimento ascendente, colocando as anteras quase ao mesmo nível do estigma. Apenas em *M. theaezans* as anteras são liberadas, uma a uma, após a curvatura dos filetes.

O pólen pulverulento e presente em grandes quantidades foi considerado o único recurso oferecido aos visitantes em *L. australis* e nas espécies de *Miconia*, exceto em *M. theaezans*. Nesta última, embora não tenha sido possível determinar morfológicamente, supõem-se que existam nectários em função do acúmulo de substância líquida adocicada

no interior do cálice de suas flores.

Os grãos de pólen são brancos em *M. elegans* e *M. discolor* e em *M. theaezans* e *L. australis* são amarelados.

3.5.1 - *Miconia elegans* Cogn.

As inflorescências de *M. elegans* posicionam-se eretas nos indivíduos. Geralmente estão abertas em média oito flores por dia em cada inflorescência.

Em alguns botões as pétalas começam a se separar no final do dia anterior à abertura, mas o processo é concluído apenas no dia seguinte. Na fase de abertura o estigma está opaco e não dilatado, a flor começa a emitir odor suave e adocicado. Próximo a metade do dia o estigma está dilatado (capitado) e brilhante, indicando receptividade, e o odor da flor é menos acentuado. À tarde as pétalas e anteras começam a murchar, o odor está quase imperceptível e o estilete atinge seu crescimento máximo (ca. 6mm). No segundo dia as pétalas e anteras encontram-se murchas e amareladas, os filetes eretos, o estigma continua brilhante e o odor é imperceptível. No terceiro dia as pétalas, anteras e estigma estão marrons; as pétalas começam a cair em algumas flores.

O estigma foi considerado receptivo com água oxigenada e Sudam III nos botões (estigma exposto ou não), flores abertas no primeiro dia e flores com dois ou três dias de duração. Osmóforos estão presentes no estigma, nas anteras (dorso e poro) e nas margens das pétalas.

3.5.1.1 - VISITANTES

M. elegans durante a sua floração é visitada por vários grupos de insetos. Os principais são abelhas de tamanho médio (± 1.5 cm) e grande (± 2.5 cm) dos gêneros *Epicharis* (Anthophoridae), *Xylocopa* (Anthophoridae), e *Oxaea* (Andrenidae), cujo comportamento de visita é semelhante. Durante a visita a abelha realiza um vôo de reconhecimento na inflorescência, aproxima-se, pousa sobre o androceu agarrando-se com as pernas aos filetes e tocando o estigma com o tórax ou abdome. Em seguida, enquanto vibra, realiza um movimento descendente de forma a coletar o pólen de todas as anteras. O pólen é liberado como uma "nuvem", sendo depositado na porção ventral do tórax e abdome do inseto. Simultaneamente ocorre o contato com o estigma. Antes de efetuar nova visita a abelha transfere os grãos de pólen para as escopas.

Abelhas pequenas das famílias Halictidae (duas espécies) e Anthophoridae (duas espécies) também são observadas em visita. Após breve vôo de reconhecimento na inflorescência, as abelhas aproximam-se e pousam sobre os filetes ou nas anteras. Nos estames, deslocam-se sem direção definida enquanto efetuam a coleta dos grãos de pólen presentes na superfície dos filetes e anteras. Durante essa atividade tocam frequentemente o estigma. O pólen é depositado em toda porção ventral do abdome, sendo transferido para as escopas no vôo antes de visitar outra flor. Estas abelhas realizam movimentos rápidos, permanecendo em média 2 segundos/flor. Visitam predominantemente flores abertas no dia em várias inflorescências, deslocando-se constantemente em um mesmo indivíduo e entre indivíduos próximos.

Alguns Diptera (tres a quatro espécies) visitam com frequência as flores de *M. elegans* e desenvolvem comportamento similar durante a visita. Aproximam-se da inflorescência e pousam indiscriminadamente sobre botões ou flores. Nas flores, permanecem apoiados sobre as anteras e movimentam os estames com as pernas anteriores enquanto "lambem" os filetes e as anteras. Durante este trabalho, raras vezes chegam a contactar o estigma com a cabeça ou o tórax. Depois de um a dois segundos caminham sobre a inflorescência em busca de outras flores abertas. As visitas são restritas as poucas flores abertas no dia em cada inflorescência.

As abelhas e moscas são observadas em visita uma ou duas vezes por dia, predominantemente, no período da manhã. As visitas são realizadas geralmente por um a dois indivíduos/espécie de inseto, com exceção de *Epicharis* sp com até 4 indivíduos/planta.

Além das abelhas e moscas, besouros (*Scarabeidae*) e esperanças (*Tettigonidae*) também visitam as flores dessa *Miconia*. Esses insetos pousam sobre as inflorescências e alimentam-se das pétalas, estames e estilete/estigma das flores. Podem ser observados por longo tempo em cada inflorescência (ca.1-2hs) e são mais frequentes nos indivíduos com maior número de flores.

3.5.2 - *Miconia discolor* DC. *

Em *M. discolor* as inflorescências estão posicionadas horizontalmente ou pendentes nos indivíduos. As panículas são formadas por pequenos glomérulos compostos por sete a oito flores, sendo observados um a tres botões abertos ao dia em cada glomérulo.

No início da fase de abertura o estigma está opaco e a flor emite odor suave; apenas nesta espécie o estilete está ereto. Próximo à metade do dia as pétalas estão recurvadas para fora com o ápice tocando o cálice; o estilete antes ereto, exhibe agora uma leve curvatura e situa-se para um dos lados da flor conferindo-lhe uma certa zigomorfia; o estigma está dilatado e brilhante e o odor menos acentuado. As flores conservam estas características durante o resto do dia. No segundo dia as pétalas permanecem recurvadas e assim como as anteras, apresentam-se murchas e amareladas, o odor é quase imperceptível. O estigma apresenta-se brilhante na manhã do segundo dia, passando a opaco e esverdeado no período da tarde. Ao longo desse dia começa a queda das pétalas, estames e estilete. No terceiro dia, quando presentes, as pétalas e anteras estão marrons, o estilete e estigma estão amarelados.

A receptividade do estigma foi detectada com água oxigenada e Sudam III nos botões em pré-antese (dia anterior à abertura), flores abertas no primeiro dia e do segundo dia. Osmóforos estão presentes no estigma, nas anteras e pêlos da porção superior do hipanto.

3.5.2.1 - VISITANTES

Os principais visitantes observados nas flores de *M. discolor* são abelhas de tamanho médio ($\pm 1.5\text{cm}$) e grande ($\pm 2.5\text{ cm}$) dos gêneros *Xylocopa* (Anthophoridae), *Bombus* (Anthophoridae), *Oxaea* (Andrenidae) e pequenas ($\pm 1.0\text{cm}$) do gênero *Euglossa* (Euglossini). As abelhas realizam movimentos rápidos, permanecendo de um a quatro segundos/flor e dez segundos/inflorescência. As visitas dos indivíduos

de *Xylocopa* sp ocorrem em intervalos regulares de dez minutos.

Abelhas pequenas das famílias Halictidae (cinco espécies), Anthophoridae (uma espécie) e Apidae (uma espécie) são também visitantes. As espécies de Halictidae, após pousarem sobre a flor, agarram-se aos estames vibrando-os alternadamente (um a tres estames de cada vez) enquanto se deslocam sobre o androceu no sentido horário. Durante essa atividade, tocam frequentemente o estigma. O pólen é depositado na porção ventral do tórax e abdome do inseto, sendo transferidos para as patas coletoras em voo antes de efetuar nova visita. Permanecem de dois a quatro segundos/flor e até 90 segundos/glomérulo.

A espécie de Anthophoridae permanece até cinco minutos na inflorescência e a da família Apidae cerca de 30 segundos/glomérulo. Além das abelhas, alguns Diptera (duas espécies) também visitam as flores desta *Miconia*. O comportamento de visita das abelhas e moscas é similar ao descrito em *M. elegans*.

As visitas ocorrem predominantemente no período da manhã e são realizadas por 1 a 2 indivíduos/espécie de inseto. As abelhas *Xylocopa* sp e as da família Halictidae foram os visitantes mais frequentes ao longo do período de florescimento de *M. discolor*.

3.5.3 - *Miconia theaezans* (Bonpl.) Cogn.

As inflorescências de *M. theaezans* posicionam-se eretas nos indivíduos. Geralmente estão abertas em média quatro flores ao dia em cada inflorescência.

O estigma está brilhante na maioria dos botões em pré-antese e nas flores com um e dois dias de duração. Na fase de abertura observa-se a presença de substância líquida acumulada no interior do cálice das flores e nenhum odor é perceptível nesta ocasião. Após a liberação das anteras, os estames interpétalos posicionam-se um pouco mais eretos que os demais. No início da tarde a flor emite odor suave e adocicado. No segundo dia as pétalas e anteras estão murchas, os filetes interpétalos estão paralelos às pétalas e os demais estão curvados em direção ao estilete, o estigma está amarelado. No terceiro dia as pétalas e estames estão amarelados e começam a cair.

A receptividade do estigma foi confirmada com água oxigenada e Sudam III nos botões (estigma exposto), nas flores do primeiro dia e flores com dois ou mais dias de duração. Osmóforos estão presentes nos grãos de pólen, poros, estigma e pêlos do hipanto.

3.5.3.1 - VISITANTES

Os principais visitantes observados nas flores de *M. theaezans* são abelhas pequenas ($\pm 1.0\text{cm}$) da família Halictidae. Após breve voo de reconhecimento na inflorescência, as abelhas aproximam-se e pousam sobre o androceu, agarrando-se aos filetes. Em seguida, vibram e realizam um movimento descendente de forma a coletar o pólen do maior número possível de anteras ou deslocam-se sobre os estames no sentido horário, coletando pólen de cada antera. As visitas são breves, permanecendo em média dois a quatro segundos/flor. Observou-se até três visitas consecutivas à mesma flor por estas abelhas.

Abelhas pequenas da família Anthophoridae também foram observadas nas flores dessa espécie de *Miconia*, sendo o seu comportamento de visita semelhante ao descrito em *M. elegans*.

Outros visitantes como moscas, vespas e alguns Hemiptera (Reduviidae) estão presentes durante o período de floração de *M. theaezans*. Os Diptera (uma espécie) aproximam-se da inflorescência e pousam diretamente sobre a flor. Em seguida deslocam-se sobre a mesma, terminando por se posicionarem junto ao hipanto, com a cabeça voltada para o interior do cálice e as pernas anteriores apoiadas nas pétalas.

Os indivíduos da única espécie de vespa observada são tres a quatro vezes maiores que as flores de *M. theaezans*. Estes insetos aproximam-se e pousam sobre a inflorescência, geralmente de forma que a cabeça fique próxima de uma flor recém aberta, apoiando as pernas nos botões e frutos próximos a esta flor. Em seguida, deslocam-se circularmente na flor enquanto procuram coletar o líquido no interior do cálice. Posteriormente, deslocam-se sobre a inflorescência em busca de uma nova flor.

Os Hemiptera (duas espécies) apresentam comportamento de visita semelhante ao das vespas. Diferem apenas quando procuram coletar o líquido no interior do cálice, introduzindo o rostro próximo à base das pétalas. Movimentam somente a cabeça, de forma a contactar com o rostro todo o perímetro interno do cálice.

Assim como as vespas e os Hemiptera, as moscas procuram coletar apenas o "néctar" produzido pelas flores. Entretanto, grãos de pólen ficam retidos em diferentes partes do corpo quando as moscas pousam ou se deslocam sobre a flor. Ao se movimentarem sobre a flor, as moscas tocam ocasionalmente o estigma. Por outro lado, as vespas e

os Hemiptera, em função do seu tamanho, dificilmente entram em contato com os grãos de pólen e/ou estigma das flores de *M. theaezans*.

Os Diptera efetuam visitas rápidas, permanecendo de dois a três segundos/flor. As vespas e os Hemiptera permanecem cerca de 45 segundos/flor.

Os insetos observados visitam basicamente flores abertas no primeiro dia, em várias inflorescências da planta. Não foi possível registrar se um mesmo indivíduo/espécie visita duas ou mais plantas. As visitas ocorrem predominantemente no período da manhã.

3.5.4 - *Leandra australis* (Cham.) Cogn.

As inflorescências de *L. australis* ocupam posição pendente nos indivíduos. As ramificações da panícula, os hipantos e face inferior dos lacínios apresentam densa pilosidade purpúrea. As pétalas são róseas, adquirindo na base e bordos tons mais claros. As anteras são amarelas; os filetes, o estilete e o estigma são brancos. Geralmente estão abertas em média duas flores por dia em cada inflorescência.

No dia anterior à abertura os lacínios do cálice deixam de recobrir as pétalas. No dia seguinte os mesmos movimentam-se até permanecerem perpendiculares ao hipanto. As flores conservam essas características durante o resto do dia. No segundo dia os lacínios estão com o ápice voltado para o hipanto, as pétalas e estames eretos, o estilete ainda curvo. No terceiro dia a cor das pétalas está esmaecida, as anteras estão quase marrons e o estigma amarelo e inicia-se a queda destes elementos florais. Em nenhum momento

observou-se o estigma brilhante ou pegajoso, ou qualquer odor foi perceptível nas flores.

Os testes com água oxigenada indicam receptividade do estigma apenas em flores com mais de um dia. Com Sudam III registrou-se receptividade nos botões (estigma exposto ou não), nas flores do primeiro dia e nas flores com dois ou mais dias de duração. Osmóforos estão presentes no hipanto e nos pêlos da face superior dos lacínios.

3.5.4.1 - VISITANTES

Apenas duas abelhas visitaram as flores de *L. australis* durante as observações de 1988 e 1989. Os visitantes foram um indivíduo de *Euglossa* (*Euglossini*) e outro semelhante a uma das espécies de abelhas pequenas da família *Anthophoridae* observadas nas flores de *M. elegans* e *M. discolor*. O comportamento destas abelhas durante a visita é similar ao descrito para as duas espécies citadas de *Miconia*.

3.6 - VIABILIDADE DO PÓLEN

3.6.1 - *Miconia elegans* Cogn.

O exame da viabilidade dos grãos de pólen em botões de doze indivíduos em 1988, cerca de 40% da população, representa uma amostragem significativa do padrão de fertilidade da mesma. Dez dos doze indivíduos analisados exibiram acima de 75% de viabilidade, indicando a predominância de grãos férteis na população (TABELA 1).

A amostragem de maior quantidade de grãos nos quatro primeiros indivíduos não revelou diferenças marcantes em relação aos outros observados. Isto significa que eles estão aptos a efetuarem cruzamentos entre si e com os demais membros da população.

A variação média entre indivíduos atinge cerca de 17% na taxa de inviabilidade em 1988. Em todos indivíduos 50% a 100% das anteras analisadas apresentaram uma certa quantidade de grãos inviáveis.

TABELA 1: Viabilidade do pólen de botões de *N. elegans* Cogn.- 1988/89

IND. Nº	GRÃOS DE PÓLEN			
	AMOSTRAGEM		% VIÁVEL	
	1988	1989	1988	1989
1	2114		89.3	
2	2415	4387	98.9	95.7
3	2083	6113	96.4	93.5
4	2166	5482	98.8	93.2
5	764	6510	76.9	78.7
6	703		97.6	
7	1000		44.7	
8	832		89.3	
9	652		77.0	
10	1011		96.0	
11	703		75.3	
12	667		47.8	
TOTAL	15110	22492		
Xp	1705.6	5694.3		

O indivíduo nº 7 exibiu a menor taxa de fertilidade no grupo. Além dos dez botões coletados inicialmente, outros nove foram analisados e os resultados comparados. Embora a amostragem tenha sido maior, a taxa de fertilidade foi mantida abaixo de 45%. O indivíduo apresentou número reduzido de grãos de pólen/botão.

3.6.2 - *Miconia discolor* DC.

Nos botões analisados muitos grãos ficaram apenas levemente corados. Estes grãos foram classificados como viáveis.

Os resultados indicam uma taxa de viabilidade relativamente baixa na população. O indivíduo 3B revelou-se o mais fértil e apenas um indivíduo do grupo A exibiu uma taxa acima de 50% de viabilidade (TABELA 2).

A variação média na taxa de viabilidade entre indivíduos pode atingir cerca de 53%. Todos os botões analisados apresentam grãos inviáveis. Nos indivíduos do grupo A a maioria das flores apresentam predominantemente grãos de pólen inviáveis.

TABELA 2: Viabilidade do pólen de botões de *M. discolor* DC.- 1988

GRUPO	IND. Nº	GRÃOS DE PÓLEN	
		AMOSTRAGEM	% VIÁVEL
A	1	1105	59.0
	2	2030	46.3
	3	3202	44.4
	4	2342	14.4
B	3	1971	71.7
TOTAL		10650	
Xp		2257.6	

Na tentativa de eliminar possíveis erros de interpretação dos dados de 1988, a viabilidade dos grãos foi avaliada em 1989 utilizando azul de anilina em lactofenol como corante e testes de germinação em agar e sacarose.

Os resultados com azul de anilina em lactofenol estão próximos daqueles obtidos com carmin-acético (TABELA 3). Observou-se uma variação média em torno de 54% na taxa de inviabilidade entre indivíduos. Todos os botões analisados exibem uma certa quantidade de grãos inviáveis. Na maior parte dos indivíduos estudados nos grupos A e B predominam grãos inviáveis.

Quanto à germinação, não foi observado o crescimento de tubos em qualquer dos tratamentos.

TABELA 3: Viabilidade do pólen de botões de *M. discolor* DC.- 1989

GRUPO	IND. Nº	GRÃOS DE PÓLEN	
		AMOSTRAGEM	% VIÁVEL
A	3	1216	54.52
	9	1745	50.20
	13	840	42.15
	15	1515	36.50
	16	2068	49.50
B	2	1574	31.60
	6	1861	31.16
C	1	1444	75.20
TOTAL	12263		
Xp	1600.8		

3.6.3 - *Miconia theaezans* (Bonpl.) Cogn.

O exame da viabilidade dos grãos de pólen de botões em cerca de 60% da população em 1988 e 25% em 1989 foi considerado indicador da predominância de grãos férteis na população de *M. theaezans*. A maior parte dos indivíduos observados apresentaram viabilidade acima de 80% nos grãos (TABELA 4).

TABELA 4: Viabilidade do pólen de botões de
M. theaezans (Bonpl.) Cogn.- 1988/89

ANO	IND. Nº	GRXOS DE PÓLEN	
		AMOSTRAGEN	% VIAVEL
1988	1	2838	98.55
	2	1232	98.78
	3	3093	97.83
	4	3501	96.37
	5	1860	96.34
	6	1483	91.97
	7	1287	82.36
	8	1222	96.32
	9	1972	94.93
	10	1583	74.80
	11	1963	88.38
	12	2023	92.48
1989	7	2129	94.22
	8	1496	95.78
	9	2022	90.05
	10	1331	99.02
	11	2204	99.45
	12	1098	98.63
	13	1013	94.66
	14	1204	97.75
15	715	99.30	
16	905	95.58	
1988	TOTAL	24057	Xp 2293.1
1989		14180	3064.6

Igualmente nesta espécie, a amostragem de maior número de grãos nos cinco primeiros indivíduos selecionados não revelam diferenças significativas em relação aos demais observados.

A variação média na taxa de inviabilidade entre indivíduos alcançou 7.5% em 1988 e 3.5% em 1989.

3.6.4 - *Leandra australis* (Cham.) Cogn.

A população apresenta baixa taxa de viabilidade, sendo que apenas dois indivíduos amostrados possuem acima de 20% de grãos viáveis nos botões analisados (TABELA 5).

TABELA 5: Viabilidade do pólen de botões de *L. australis* (Cham.) Cogn.-1988/89

GRUPO	ANO	IND. N°	GRÃOS DE PÓLEN	
			AMOSTRAGEM	% VIÁVEL
A	1988	1	5012	8.90
		2	389	0.00
		3	8290	1.28
		4	3728	1.53
		5	2583	0.30
	1989	1	1635	10.33
		2	1399	8.00
		3	2737	21.92
		4	2237	14.03
		5	2036	12.86
B	1988	1	944	2.01
	1989	1	2672	2.47
		2	1739	0.11
		3	4346	13.87
	C	1988	1	2467
2			5020	23.05
1989		1	4136	2.62
		2	4025	8.94
		3	4110	0.39
988		TOTAL	28433	Xp
989		32555		3064.6

A variação média na taxa de inviabilidade entre indivíduos atinge cerca de 92% nos dois anos. Todos os botões analisados exibiram uma certa quantidade de grãos inviáveis. Taxa de inviabilidade/botão acima de 90% foi detectada em 67.5% dos botões observados em 1988 e 80% dos botões em 1989.

3.7 - TUBO POLÍNICO

Flores de *M. elegans* e *M. discolor* foram submetidas a auto-polinização ou polinização cruzada. Para *M. theaezans*, em função do número reduzido de flores, foram realizadas somente auto-polinizações.

Nas flores de *M. elegans* foi observado a germinação de grande quantidade de grãos de pólen em todos os tratamentos. Entretanto, evidenciou-se um crescimento diferenciado entre os tubos polínicos originados de auto-polinização e aqueles de polinização cruzada. Os tubos resultantes de polinização cruzada exibem crescimento rápido, atingindo a base do estilete em 12 horas (FIG. 5C). O crescimento parece acelerar a partir das sete horas pois, até esta fase, a maior parte dos tubos está localizada no terço superior do estilete.

Nas flores auto-polinizadas o crescimento dos tubos é lento, necessitando cerca de 24 horas para alcançar a base do estilete. Geralmente são poucos os que atingem este ponto, sendo que a grande maioria permanece próxima à metade do estilete. Estes tubos também se caracterizam pelo espessamento da parede impedindo a individualização de "plugs" de calose e, muitas vezes, formam uma vesícula na extremidade distal (FIG. 5B).

Observou-se ainda que o crescimento dos tubos em auto-polinização ou sob polinização cruzada difere entre indivíduos na população (TABELA 6). Sob polinização em condições naturais evidenciou-se a germinação de grande quantidade de tubos nos indivíduos 1 e 5, com a maior parte exibindo características semelhantes as registradas em flores auto-polinizadas.

FIGURA 5: *M. elegans* Cogn. - A. estigma, auto-polinização 12hs; B. reação de incompatibilidade, auto-polinização 24hs; C. base do estilete, polinização cruzada 12hs; D. estilete, polinização cruzada 24hs. *M. discolor* DC. - E. estigma, auto-polinização 24hs; F. estilete, auto-polinização 24hs. *M. theaezans* Cogn. - G. estigma e estilete, auto-polinização 13hs. Escala: A-G=60um. (Fotos E,F,G - L. Paganucci)

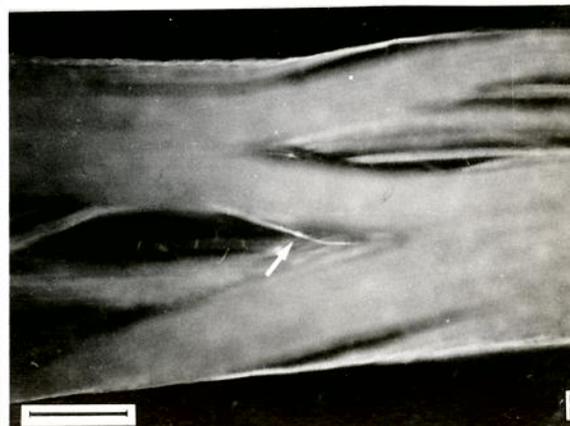
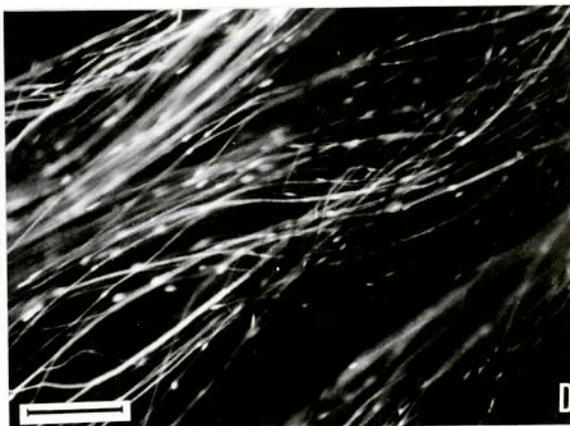
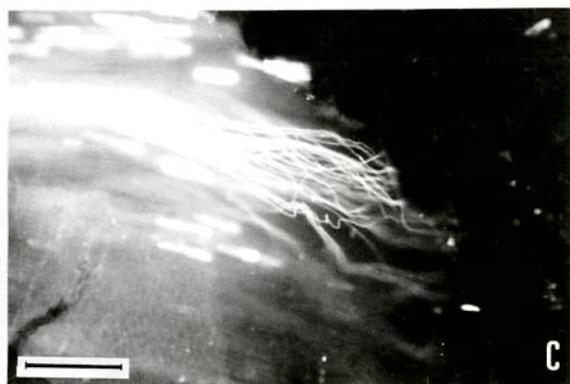
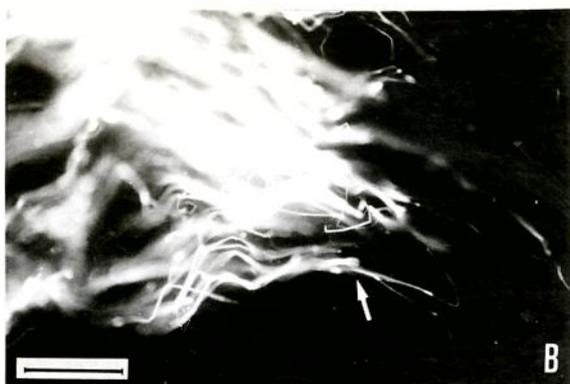


TABELA 6: Crescimento de tubos polínicos em *M. elegans* Cogn.

IND. Nº	POLINIZAÇÕES	Nº HORAS	LOCALIZAÇÃO NO ESTILETE			VESÍCULA SIM/NÃO
			1/3SUP	1/3CENT	1/3INF	
1	auto	12	-	+	-	N
		24	-	-	+	N
	condições naturais		+	-	-	S
4	auto	12	-	+	-	N
		24	-	-	+	N
	cruzada	7	+	-	-	N
		12	-	-	+	N
5	condições naturais		+	-	N	
7	auto	12	+	-	-	N
		24	+	-	-	S
		48	+	-	-	S
9	cruzada	8	+	-	-	N
10	auto	12	+	-	-	N
		24	+	-	-	N
14	cruzada	24	+	±	±	N
20	auto	12	+	-	0	S
		24	+	-	0	S
		48	+	-	-	S
	cruzada	7	+	-	0	N
		12	+	±	±	N
		24	+	±	±	N

(+ maior número; - menor número; ± número significativo;
0 nenhum tubo)

Para *M. discolor* ocorreu a germinação e crescimento de tubos polínicos ao longo do estilete, contudo, em menor quantidade do que a observada para as outras duas espécies de *Miconia*. Assim como em *M. elegans*, os tubos originados de auto-polinização apresentaram espessamento da parede (FIG. 5E).

Foi difícil avaliar a extensão do crescimento dos tubos polínicos no estilete das flores de *M. discolor* em ambos os tratamentos devido a não transparência dos mesmos sob fluorescência. Mesmo após o esmagamento dos estiletos observou-se o crescimento dos tubos somente até a metade do comprimento dos estiletos (24, 36 e 48 hs) (FIG. 5F). Nos períodos entre seis e doze horas os tubos ocupam o terço superior do estilete.

Para *M. theaezans* ocorreu a germinação e o crescimento do tubo polínico de numerosos grãos. Nesta espécie os tubos são observados no terço superior do estilete após 13 horas e atingem a sua base com 24 horas (FIG. 5G). Em nenhuma lâmina foram detectadas reações de auto-incompatibilidade.

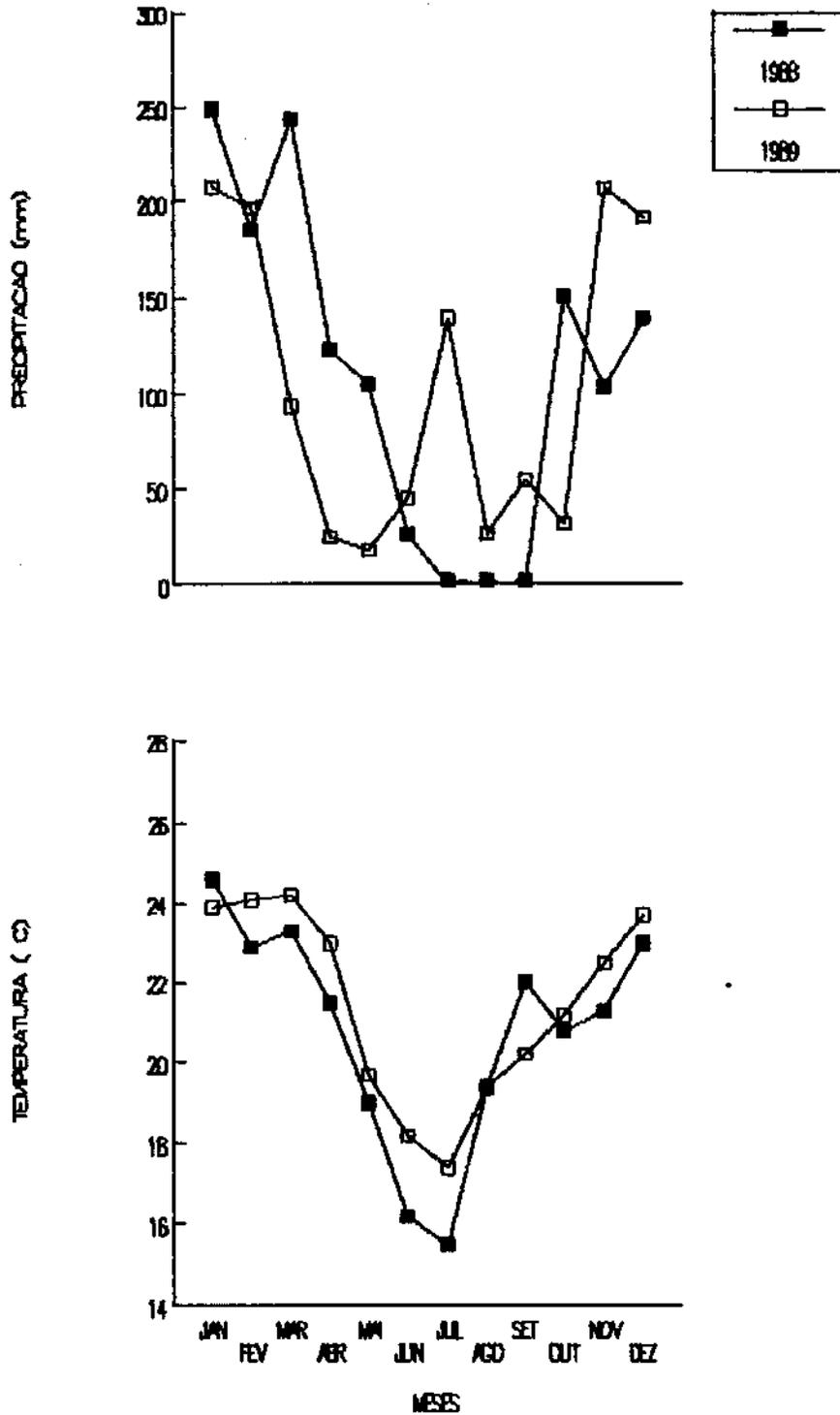
Apesar das tentativas não foi possível visualizar a chegada dos tubos polínicos até os óvulos nas três espécies.

3.8 - SISTEMA REPRODUTIVO

3.8.1 - *Miconia elegans* Cogn.

Os indivíduos selecionados para estudos sobre o sistema reprodutivo da espécie foram analisados por dois anos consecutivos. A exceção foi o indivíduo nº 1 que sofreu os efeitos da geada no inverno de 1988, produzindo três a quatro inflorescência em 1989. Neste realizou-se alguns testes com auto-polinização em 1989, mas nenhuma informação foi obtida pois fortes chuvas (FIG. 6) provocaram a queda das inflorescências.

FIGURA 6: Precipitação total e temperatura média mensal- 1988/1989
(Região de Campinas -Instituto Agronômico de Campinas -IAC)



Os resultados indicam o predomínio da fecundação cruzada na reprodução de *N. elegans* (TABELA 7). O indivíduo nº 2 foi considerado o mais auto-compatível e o nº 4 o único auto-incompatível do grupo.

TABELA 7: Sistema reprodutivo de *M. elegans* Cogn. - percentagem de frutos formados em 1988/89

TRATAMENTOS	ANO	INDIVÍDUOS						TOT.	%	Xp%	
		1	2	3	4	5	7				
AUTO-POLIN. ESPONTANEA	1988	FL	126	72	30	100	120	448	1.1	3.6	
		FR	0	16/1	0	1	3	5			
	1989	FL		140	134	74	104	452	6.2		
		FR		1	9	7/0	18	28			
AUTO-POLIN. MANUAL	1988	FL	17	28	13	31	26	115	15.6	12.8	
		FR	3/3	16/12	1/1	1/0	2/2	18			
	1989	FL		57	53	69	48	227	11.4		
		FR		22/19	12/4	13/0	3	26			
POLINIZAÇÃO CRUZADA	1988	FL	21	36	27	29	15	128	59.4	43.3	
		FR	11/11	31/31	10	19	10/5	76			
	1989	FL		52	96	71	55	274	35.7		
		FR		31/14	9/30	28/15	39	98			
AGAMOSPER.	1988	FL	100	100	100	100	100	75	575	0.7	0.7
		FR	0	0	0	2/0	4	0	4		
CONTROLE	1988	FL	97	152	60	129	88	526	57.2	30.1	
		FR	23	146	19	62	51	301			
	1989	FL		212	471	171	60	689	9.4		
		FR		18	43	7/4	0	65			

(FL: flores; FR: frutos; /: indica número de frutos observados entre 15 e 30 dias após o estabelecimento dos tratamentos; Xp: média ponderada)

O indivíduo nº 7 foi submetido somente a testes para detectar agamospermia em função da grande quantidade de grãos de pólen inviáveis observados. Entretanto, os resultados não apontaram correlação entre os dois aspectos.

Os testes para agamospermia não foram repetidos em 1989 devido aos resultados pouco significativos obtidos em 1988.

Em 1989 evidenciou-se uma redução drástica nos índices de polinização em condições naturais (TABELA 8).

TABELA 8: Taxa de polinização em condições naturais em *M. elegans* Cogn. - 1989

IND.º	INFLOR.º	BOTÕES	RESULTADOS	%
Nº	Nº	Nº		
1	A	416	42FR+11B	10.4
	B	55	9FR+3B	21.4
2	A	105	0FR+36B	0.0
	B	145	0FR+4B	0.0
3	A	188	1FR+2B	0.5
	B	295	0FR	0.0
4	A	176	2FR+13B	1.2
	B	231	6FR+92B	4.3
5	A	282	6FR	2.1
	B	132	50FR	3.8
6	A	325	43FR+10FL+ 15.4 36B	
	B	192	0FR+8B	0.0
7	A	74	3FR+1B	
	B	143	26FR+1B	18.3
8	A	80	5FR+2B	6.4
	B	143	143FR	100.0
9	A	220	73FR+2B	33.5
	B	155	69FR	44.5
10	A	60	0FR+2B	0.0
	B	60	0FR	0.0
TOTAL 20		3476	478FR Xp	13.7%

(FR:frutos; FL:flores; B:botões)

As flores de *M. elegans* sofreram ataque constante de predadores durante o período de estudo. Em 1989 foram observados besouros (Scarabeidae), esperanças (Tettigonidae), membracídeos, galhas, pequenas lagartas e aranhas predando grande quantidade de indivíduos na população. Para as inflorescências analisadas quanto a predação registrou-se as seguintes taxas: 38.6%, 61.2% e 100%.

3.8.2 - *Miconia discolor* DC.

Os resultados evidenciam associação entre mecanismos sexuais e assexuais em *M. discolor* (TABELA 9). No Grupo B a taxa de agamosperma é mais acentuada do que nos demais grupos, atingindo valores acima de 60%. Apenas o indivíduo 2A apresenta taxa de agamosperma abaixo de 40% no conjunto.

TABELA 9: Sistema reprodutivo de *M. discolor* DC. - percentagem de frutos formados em 1988/89

TRATAMENTOS	ANO	INDIVÍDUOS														TOT	%	Xp%	
		1A	2A	3A	4A	5A	6A	7A	8A	9A	1B	2B	3B	4B	1C				2C
AUTO-POLIN. ESPONTANEA	1988 FL	50	130	111							160	69				520	75.7	75.7	
	FR	24	103	111							93	63				394			
AUTO-POLIN. MANUAL	1988 FL		116	47								50				213	90.6	75.7	
	FR		114	45								34				193			
	1989 FL	98		46	110			65			54	50		31		454	68.7	75.7	
	FR	54		33	110			43		47	0		25		312				
POLINIZAÇÃO CRUZADA	1988 FL		14	49								65				134	89.5	82.6	
	FR		10	45								65				120			
	1989 FL	51			52	26		65			81	73	42	46		436	80.5	82.6	
	FR	15			52	22		63		74	64	42	19			351			
AGAMOSPER.	1988 FL	123	107	93						52	97	218			117	807	52.3	61.1	
	FR	85	13	40						32	69	154			29	422			
	1989 FL	102	39	142		124	92	60	95		203	124	184		57	1222	66.9	61.1	
	FR	67	22	129		44	47	55	50		139	85	154		26	818			
CONTROLE	1988 FL	114	130	137						132	136					649	63.5	64.6	
	FR	36	87	137						46	106					412			
	1989 FL	243			107	46	216	177	75	126		198	126	260		73	1647	65.0	64.6
	FR	66			106	46	150	66	49	74		145	126	208		27	1072		

(FL: flores; FR: frutos; Xp: média ponderada)

3.8.3 - *Miconia theaezans* (Bonpl.) Cogn.

As chuvas frequentes (FIG. 6) durante o florescimento provocaram a queda de numerosos botões e flores nos dois anos de estudos. Nenhuma inferência sobre fecundação cruzada e auto-polinização espontânea pôde ser realizada em 1988 pois as inflorescências caíram.

Os resultados apontam o predomínio de mecanismos sexuais na reprodução da espécie (TABELA 10).

TABELA 10: Sistema reprodutivo de *M. theaezans* (Bonpl.) Cogn. - percentagem de frutos formados em 1988/89

TRATAMENTOS	ANO	INDIVÍDUOS														TOT.	%	Xp%		
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14					
AUTO-POLIN. ESPONTÂNEA	1988	FL	72															72		
		FR																		0.0
	1989	FL					33	107	36	70	20	58						324	0.0	
		FR					00	00	00	00	00	00						0		
AUTO-POLIN. MANUAL	1988	FL	27	25	24													76	26.3	
		FR	6	11	13													20		9.6
	1989	FL					22	18	19	38	36	29						162	1.8	
		FR					00	00	1	00	00	2						3		
POLINIZAÇÃO CRUZADA	1988	FL	10															10		
		FR																		12.0
	1989	FL						21	18			19						58	12.0	
		FR						2	00			5						7		
AGANOSP.	1988	FL	81	19	15	17	11											143	15.4	
		FR	6	3	4	6	3											22		6.2
	1989	FL					24	37	25	20	12	31	19	20	24			212	0.0	
		FR					00	00	00	00	00	00	00	00	00			0		
CONTROLE	1988	FL	120	89	90	132	35											466	74.4	
		FR	50	52	79	131	35											347		40.7
	1989	FL					88	148	104	94	82	146	71	178	71			982	24.6	
		FR					00	83	28	30	4	77	20	00	00			242		

(FL: flores; FR: frutos; Xp: média ponderada)

A população apresentou pouca variação entre indivíduos para os diferentes tratamentos. A fecundação cruzada parece ser o principal mecanismo empregado por *M. theaezans* na sua reprodução. Apesar da mesma atingir valores baixos, estes foram considerados significativos uma vez que representam cerca de 50% da taxa de polinização em condições naturais (Controle) observada para a espécie.

Em 1988 registrou-se os resultados quinze dias depois que os tratamentos foram realizados procurando evitar grandes perdas pela ação das chuvas. Para 1989, entretanto, os mesmos foram computados apenas após um mês.

3.8.4 - *Leandra australis* (Cham.) Cogn.

Em todos os grupos realizou-se apenas testes para determinar agamospermia em função da alta taxa de grãos de pólen inviáveis. Os resultados indicam que a agamospermia predomina na população (TABELA 11).

TABELA 11: Sistema reprodutivo de *L. australis* (Cham.) Cogn.-
percentagem de frutos formados em 1988/89

TRATAMENTOS	ANO		GRUPOS			TOTAL	%	Xp%		
			A	B	C					
AGAMOSPERMIA	1988	FL	76	21	20	117	86.5	82.9		
		FR	61	20	20	101				
	1989	FL	113	33	31	177	80.8			
		FR	91	31	21	143				
	CONTROLE	1988	FL	110	17	85	212		100.0	72.8
			FR	110	17	85	212			
1989		FL	157	97	211	575	65.3			
		FR	150	85	141	361				

(FL: flores; FR: frutos; Xp: média ponderada)

A taxa de agamospermia variou entre os grupos mas não intra grupos nos dois anos. Apenas o grupo C apresentou redução (ca.30%) na taxa de agamospermia em 1989.

Durante os dois anos de estudos foi registrado o desenvolvimento de frutos a partir de botões. A avaliação de 1989 indica variação significativa entre grupos na produção destes frutos (TABELA 12).

TABELA 12: Percentagem de frutos formados a partir de botões em *L. australis* (Cham.) Cogn.- 1989

INFLORESCÊNCIAS	GRUPOS		
	A	B	C
Nº TOTAL	36.0	18.0	16.0
Nº COM FRUTOS	5(14%)	9(50%)	2(12.5%)
Nº MÉDIO DE FRUTOS/INFL.	1.8	13.5	1.0

Os grupos A e C apresentaram poucas inflorescências com frutos e menor quantidade de frutos/inflorescência. No grupo B ocorreu o inverso, sendo observados em média 13.5 frutos/inflorescência e um máximo de 50 frutos/inflorescência.

3.9 - ASPECTOS EMBRIOLÓGICOS

As espécies estudadas apresentam óvulos anátropos, bitegumentados e crassinucleares. A micrópila é formada pelos dois tegumentos. A zona calazal é composta por células pequenas, de paredes delgadas e rico citoplasma, que não apresentam as características típica das células que formam a hipóstase (FIG. 8D).

Em *M. elegans* a esporogênese e gametogênese são consideradas normais. Na microesporogênese a célula mãe do grão de pólen, após a meiose, sofre citocinese simultânea originando uma tétrade tetraédrica (FIG. 7B). Ainda nas anteras as micrósporas sofrem duas divisões mitóticas, resultando em microgametófitos trinucleados na fase de dispersão (FIG. 7C). Na megasporogênese a meiose na célula mãe do saco embrionário (gametófito feminino) produz uma tétrade linear, onde a célula calazal é a funcional (FIG. 7D; 8A,B). A primeira divisão mitótica desta célula resulta em um saco embrionário no estágio binucleado (FIG. 7E). Em seguida, ocorrem duas novas divisões dos núcleos gerando um saco embrionário tetra (FIG. 7F; 8D) e octonucleado do tipo Polygonum (FIG. 7G; 8E), respectivamente. No saco embrionário maduro os núcleos polares se situam junto ao aparato oosférico no polo micropilar e as antípodas se degeneram.

Para *M. discolor* e *L. australis* ocorrem interrupções nesses processos a distintos níveis de ontogenia.

Em *M. discolor* a meiose parece normal na micro e na megasporogênese. Todavia, o número de células espóricas viáveis é muito baixo. Na microesporogênese foram observadas tétrades em que a maioria das células estava abortada, sendo comum tétrades com as quatro células degenerantes ou apenas uma viável (FIG. 7H,I,J). Este fato, levanta a suspeita de que esteja ocorrendo um desbalanceamento na segregação cromossômica. Para os microgametófitos viáveis observou-se dois núcleos (FIG. 7M).

O número de megásporas formadas é também reduzido, mas aquelas que são viáveis chegam a formar um saco embrionário octonucleado que diferencia-se em megagametófito do tipo Polygonum

FIGURA 7: *M. elegans* Cogn. - A. telófase meiótica II na microesporogênese; B. tétrade de micrósporas; C. gametófito masculino trinucleado; D. tétrade de megásporas com a calaza funcional; E. saco embrionário binucleado; F. saco embrionário tetranucleado; G. megagametófito maduro, octonucleado. *M. discolor* DC. - H,I,J. tétrade de micrósporas com distinto grau de aborto; K,L. tétrade de megásporas com a calaza funcional; M. conjunto de grãos de pólen abortados com apenas um viável em estágio de microgametófito binucleado. Escala: A-E, H-M=20um; F,G=50um. (Desenhos: A.E. Cocucci).

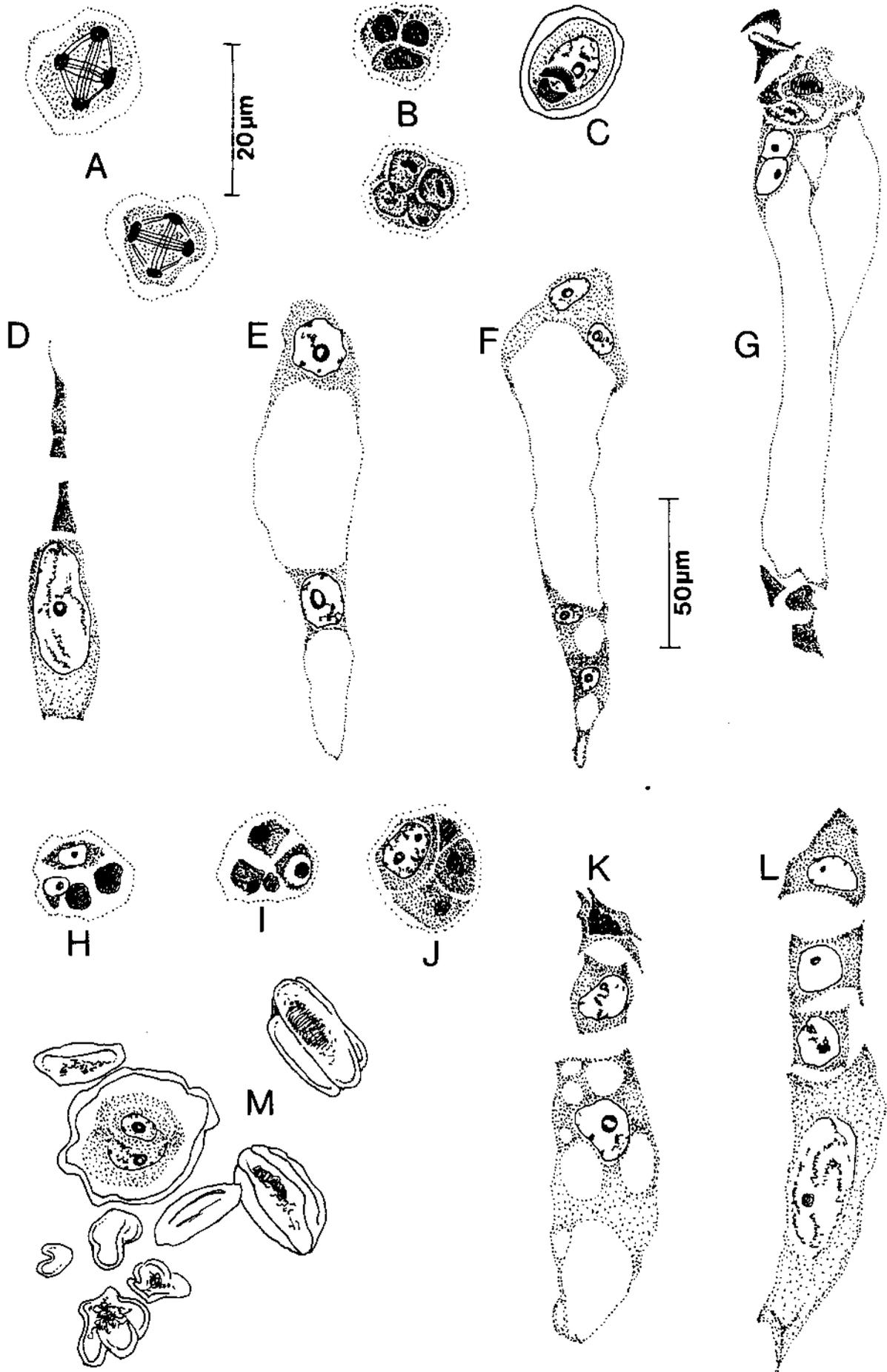
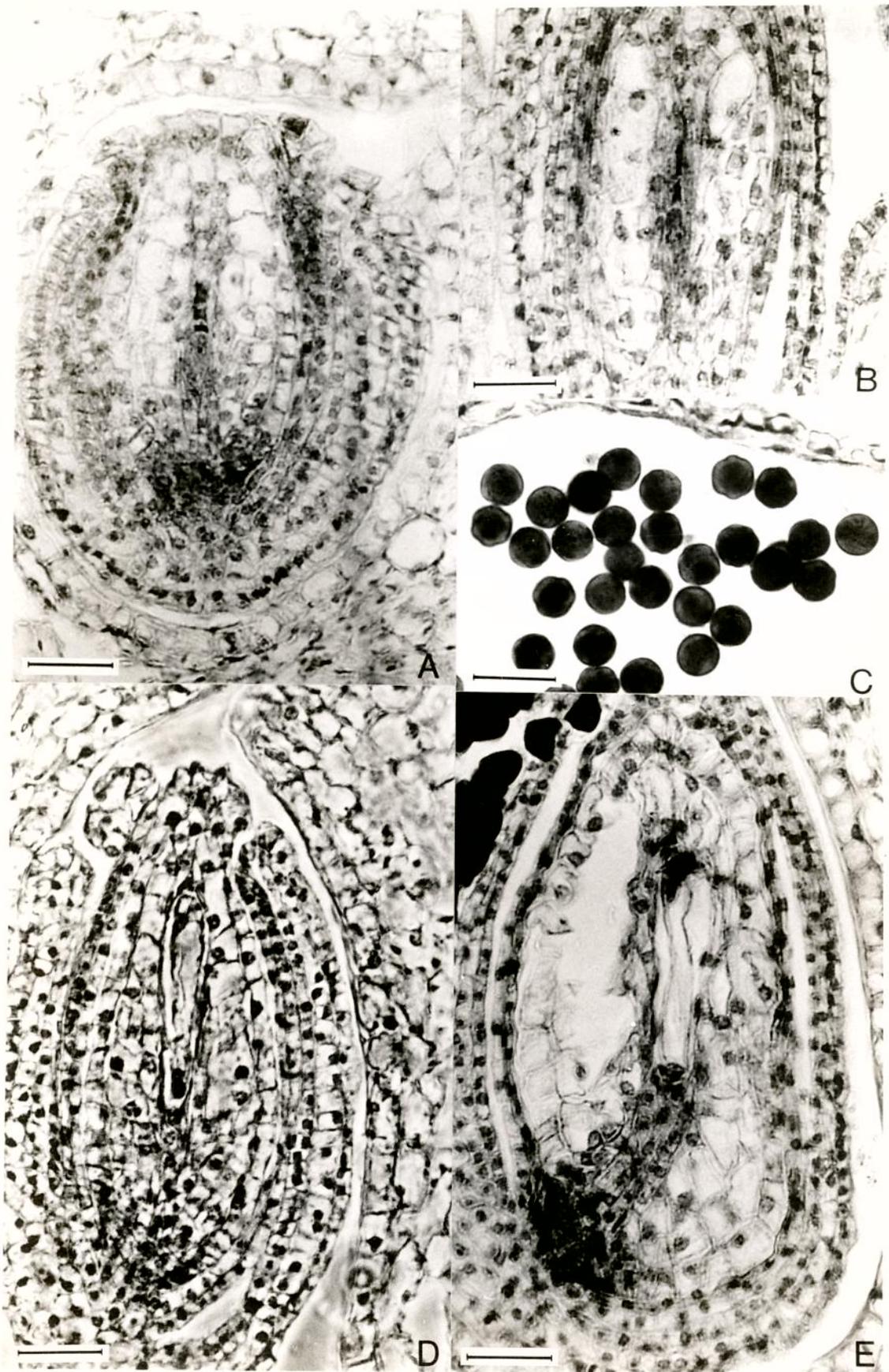


FIGURA 8: *M. elegans* Cogn. - A,B. tétrade de megáporas com a calazal funcional; C. microgametófitos maduros; D. saco embrionário tetranucleado; E. saco embrionário octonucleado. Escala: A,C=30um; B=50um; D,E=75um. (Fotos: A.E. Cocucci).



(FIG. 9E; 10A). Em um saco embrionário foi detectado a descarga de um tubo polínico e os gametas em fusão (FIG. 9B; 10C), o que sugere que um certo número de embriões sexuais possam ser formados.

A maioria dos óvulos produz embriões adventíceos que surgem na zona vizinha à correspondente as megásporas.

Em *L. australis* a meiose também parece ocorrer normalmente para a microesporogênese, contudo, são poucas as micrósporas que se desenvolvem em gametófitos masculinos completos (FIG. 11E; 12B). As observações revelam que quase todas as micrósporas recém formadas não chegam a experimentar a vacuolização que ocorre previamente à divisão do núcleo espórico. Sendo assim, as anteras maduras exibem quase que exclusivamente pólen abortado (FIG. 11E; 12B). Nos micrósporos considerados viáveis observou-se também dois núcleos (FIG. 11D).

Algumas de megásporas podem iniciar a megagametogênese, mas o processo é detido no estágio bi (FIG. 11F) ou tetranucleado (FIG. 11J; 12D). Existe uma certa quantidade de sacos embrionários não reduzidos que originam, por partenogênese, embriões esporofíticos e endosperma nuclear (FIG. 11K). A natureza diplóide das células do pró-embrião é inferida pela presença de dois nucléolos em cada uma de suas células (FIG. 11L). Além destes embriões observou-se também na espécie a formação de outros com origem adventícea (FIG. 11I; 12C).

Para *M. elegans* não foi possível verificar se esta espécie produz embriões adventíceos ou sexuais por falta de material em fase posterior à antese.

FIGURA 9: *M. discolor* DC. - A. dois embriões adventíceos com aproximadamente seis células; B. descarga de um tubo polínico; C. megagametófito octonucleado imaturo; D. poliembriõnia adventícea; E. megagametófito octonucleado maduro; F. pró-embrião adventíceo com aproximadamente 12 células; Ti. tegumento interno; cn. massa de células nucelares que servem de suporte ao embrião; S. suspensor. Escala: A,D,F. 50um; B. 10um; C,E. 20um. (Desenhos: A.E. Cocucci).

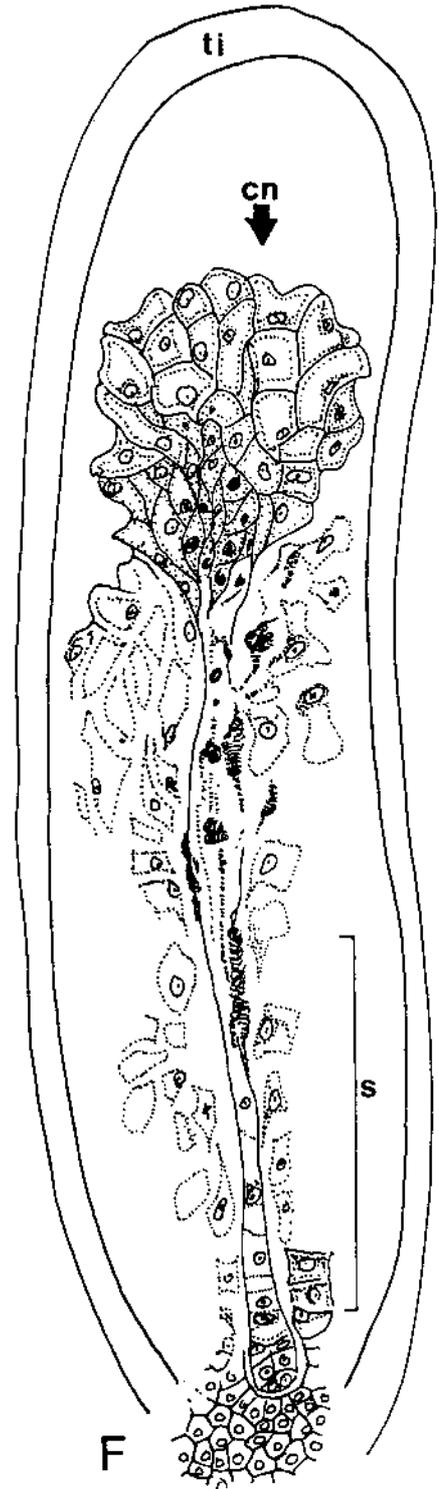
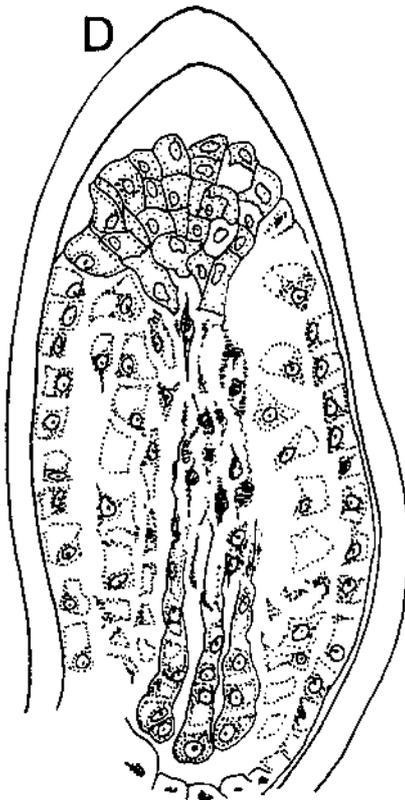
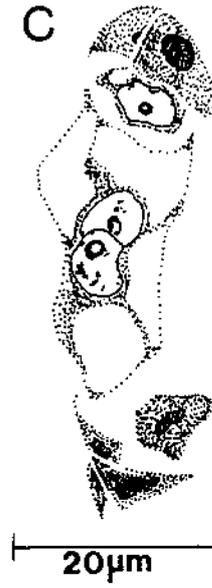
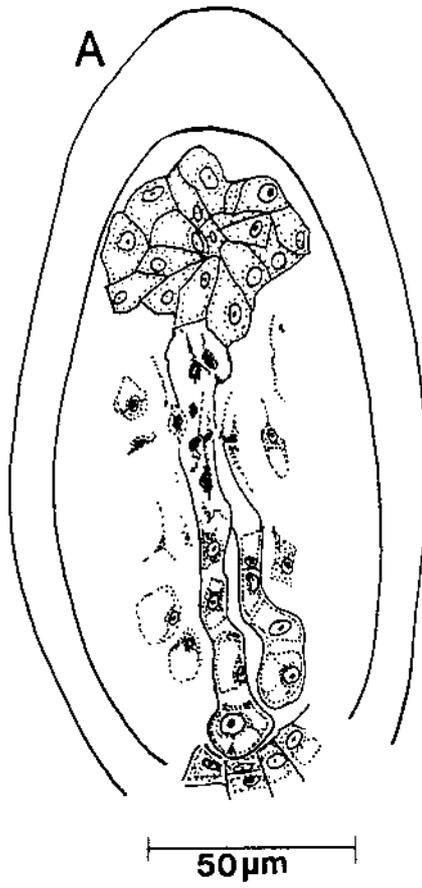
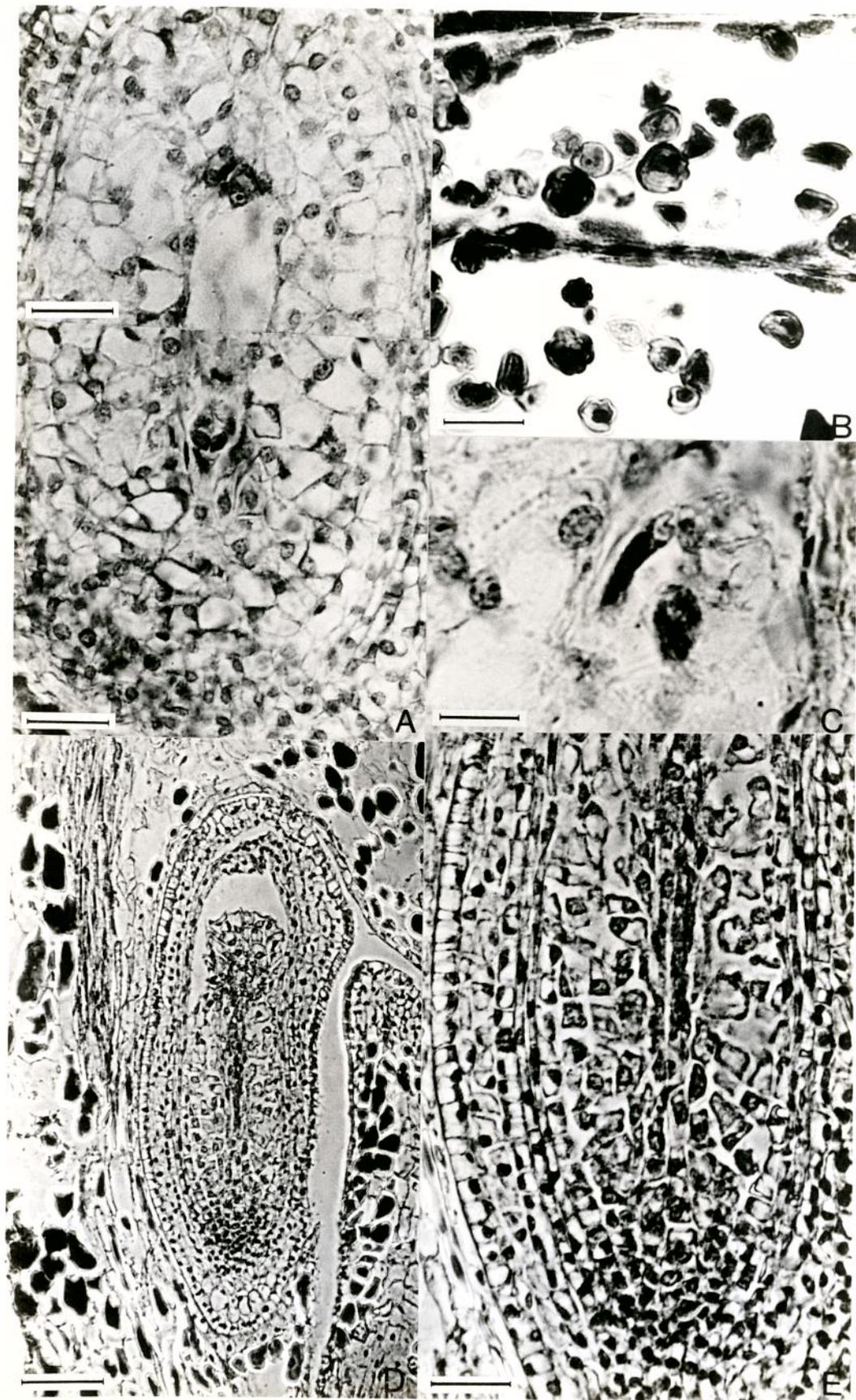


FIGURA 10: *M. discolor* Cogn. - A. megagametófito octonucleado; B. conjunto de grãos abortados; C. descarga de um tubo polínico; D,E. pró-embrião adventício com aproximadamente oito células; e- endotélio .Escala: A=30um; B,E=50um; C=22um; D=120um. (Fotos: A.E. Cocucci.)



3.9.1 - A natureza da embrionia adventícea

Miconia discolor e *L. australis* apresentam diferenças quanto a localização e ao número de células que determinam a ocorrência dos embriões adventíceos.

Em *M. discolor* um conjunto de células nucelares localizadas ao lado e abaixo da zona correspondente à megáspora ou ao saco embrionário, zona central, são responsáveis pelo surgimento dos embriões adventíceos. Para *L. australis* os embriões são formados, provavelmente, a partir de uma única célula localizada medianamente em um dos lados da nucela.

O desenvolvimento dos embriões adventíceos segue um padrão levemente distinto entre essas espécies. Para *M. discolor* observou-se até três pró-embriões em estágio linear ou, às vezes, em incipiente estágio globular nas flores coletadas vinte e quatro horas após a abertura (FIG. 9D). Nesta espécie os pró-embriões ocupam a metade inferior da nucela e exibem um suspensor uniseriado e longo (FIG. 9F; 10E). O suspensor encontra-se ligado a um conjunto de células nucelares presentes no pólo micropilar que adquirem características próprias conforme avança o processo de diferenciação dos pró-embriões (FIG. 9F; 10D). Tais células, atuam como suporte para os pró-embriões.

O suspensor, nesses embriões, é formado por um conjunto de aproximadamente seis células dispostas em fileira. É difícil determinar o número exato de células pois, na zona de implantação dos pró-embriões, são encontrados restos de megásporas ou de sacos embrionários junto com células nucelares necróticas que dificultam a observação. Salienta-se que foram observados vários pró-embriões em

estágios semelhantes de desenvolvimento, mas o central parece ser o mais vigoroso e, eventualmente, o mais adiantado (FIG. 9F; 10E).

As células nucelares que servem de suporte aos pró-embriões constituem um grupo cuja coesão é mantida por um tempo prolongado, talvez até o final da diferenciação embrionária. Estas células sofrem deformações de ordem mecânica, tornando-se alongadas como resultado da tração provocada pelo crescimento dos pró-embriões. Como consequência formam um agregado de forma quase cônica, onde se observa o colapso de algumas células (FIG. 9F). Por sua origem e função, esse cone poderia ser considerado homólogo a uma "caliptra-nuclear".

Na porção lateral da nucela, a epiderme se diferencia em um tipo de endotélio cujas células são ricas em citoplasma e apresentam o núcleo situado junto a parede voltada para o complexo embrionário e um vacúolo junto à parede oposta (FIG. 10E).

Nas demais células nucelares ocorre a desintegração das paredes formando uma massa de células sem aparente coesão entre si que parece ter por função, contribuir para a alimentação dos embriões.

Em *L. australis* foi detectado apenas um embrião por óvulo nos botões em pré-antese. O suspensor é uniseriado e com duas células quase isodiamétricas (FIG. 11I; 12C). O seu desenvolvimento até esta fase não provoca alterações nas demais células, como o observado em *M. discolor*.

Não foram analisadas sementes maduras e, portanto, não é possível saber se as características dos óvulos de *M. discolor* e *L. australis* seriam mantidas.

FIGURA 11: *L. australis* (Cham.) Cogn. - A,B. téttrade de micrósporas; C. micrósporo; D. microgametófito binuclear; E. conjunto de grãos de pólen viáveis e abortivos; F. saco embrionário binucleado; G. díade- meiose I da megasporogênese; H. téttrade de megásporas com a calazal funcional; I. pró-embrião adventíceo com seis células; J. saco embrionário tetranucleado, polo calazal necrótico; K. pró-embrião bicelular, endosperma nuclear com aproximadamente 16 núcleos; L. megagametófito maduro. Escalas: A-J=20um; K,L=50um. (Desenhos: A.E. Cocucci)

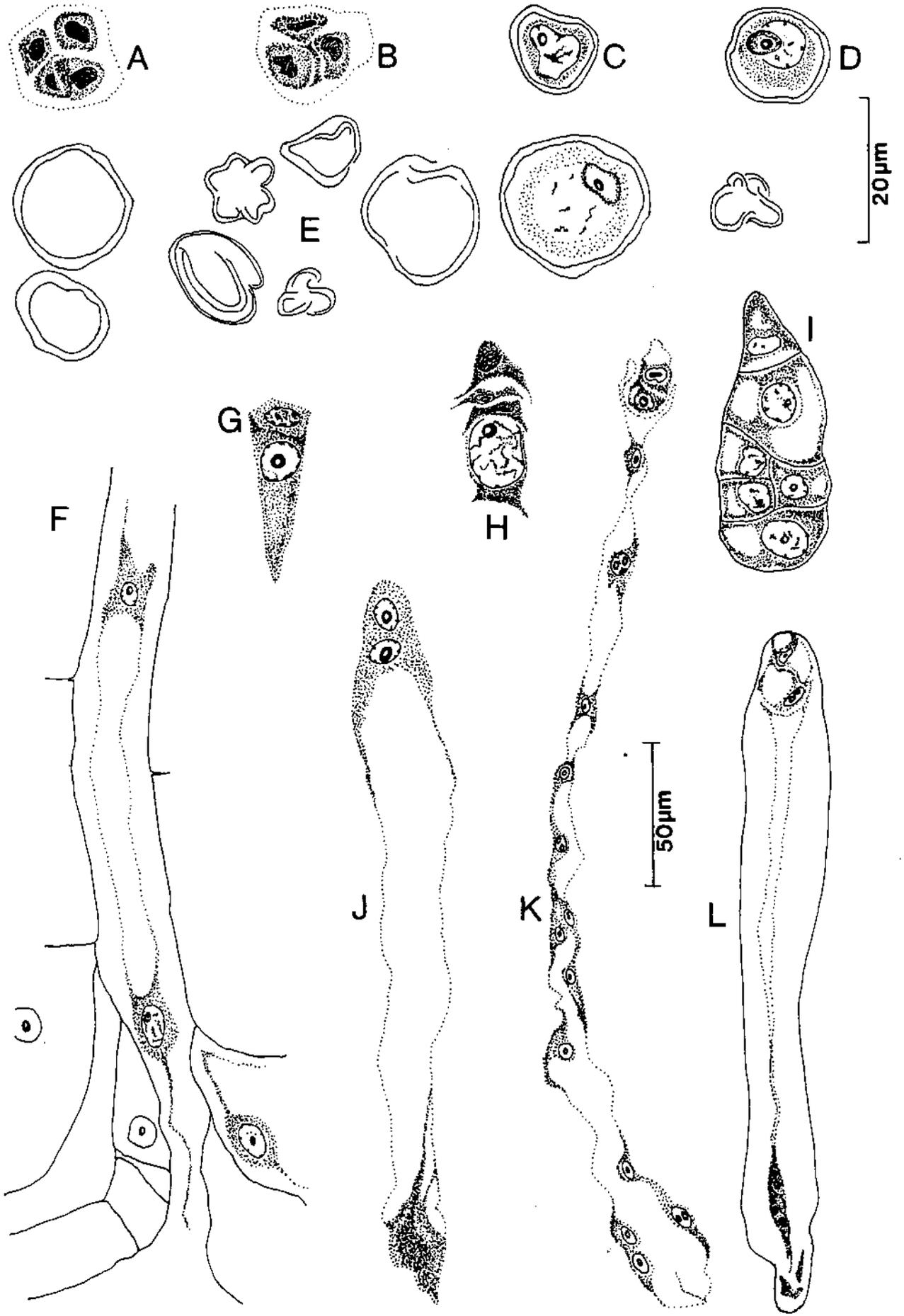


FIGURA 12: *L. australis* (Cham.) Cogn. - A. tétrades de micrósporas; b. grãos de pólen abortados e apenas dois viáveis; C. pró-embrião adventíceo com seis células; D. saco embrionário tetranucleado abortado. Escala: A-C=50um; D=75um. (Fotos: A.E. Cocucci).



3.9.2 - DIAFANIZAÇÃO DE ÓVULOS

Para *M. elegans* foram analisados vários óvulos submetidos ao processo de diafanização. Entretanto, mesmo seguindo as alternativas desenvolvidas a partir do fluido diafanizador proposto por Herr (1971) apud RADFORD et al. (1974), os óvulos não se tornaram diafanizados o suficiente para permitir uma interpretação da natureza do saco embrionário na espécie.

3.10 - RAZÃO PÓLEN/ÓVULO

Os dados indicam que as espécies apresentam em comum grande produção de pólen. Entretanto, considerando a razão pólen/óvulo média, estas podem ser agrupadas em tres grupos distintos (TABELA 13).

O primeiro grupo é composto por *M. elegans* e *M. theaezans*, uma vez que exibem valores aproximados para razão pólen/óvulo. *Miconia discolor* com a maior razão pólen/óvulo e *L. australis* com a menor definem o segundo e o terceiro grupo, respectivamente.

TABELA 13: Razão pólen/óvulo inter específica.

ESPÉCIES	Nº FLORES	Nº MÉDIO: ÓVULOS	Nº MÉDIO: PÓLEN	RAZÃO P/O	DESVIO PADRÃO
<i>M. elegans</i>	25	45.72	88260	1916.03	767.27
<i>M. discolor</i>	25	12.72	59280	4892.69	2237.75
<i>M. theaezans</i>	25	39.32	72180	1838.30	616.85
<i>L. australis</i>	25	297.68	68940	228.27	149.71

4. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

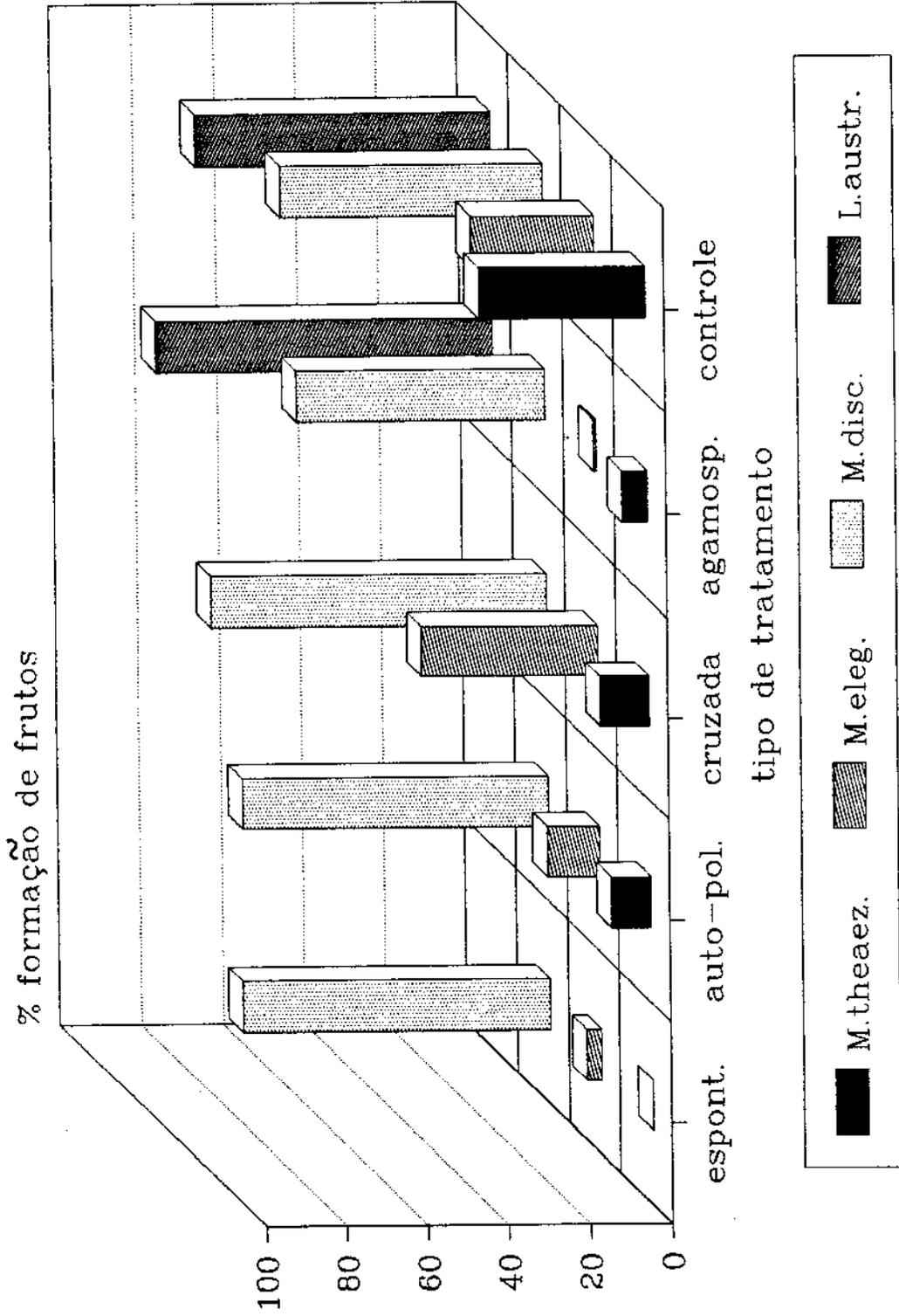
Embora as informações estejam restritas a uma população, foi possível estabelecer algumas inferências acerca da biologia reprodutiva de *M. elegans*, *M. discolor*, *M. theaezans* e *L. australis* a partir do exame de determinados aspectos comuns a estas espécies.

Os dados reunidos na figura 13 indicam que a via sexual caracteriza a reprodução de *M. elegans* e *M. theaezans* e a apomixia a de *M. discolor* e *L. australis*. Para *M. elegans* e *M. theaezans* o principal mecanismo reprodutivo é a fecundação cruzada. Para *M. elegans* a redução na taxa de polinização natural (controle) em 1989 é parcialmente justificada pelo alto índice de predação dos botões e flores nos indivíduos da espécie. A redução dos índices em todos os tratamentos para *M. theaezans* neste ano, possivelmente, é consequência do número de dias considerados na contagem final de frutos em desenvolvimento e da ação das chuvas. Em *M. discolor* auto-fecundação e fecundação cruzada estão associadas com uma taxa significativa de agamospermia, conforme evidenciado nas análises embriológicas e nos trabalhos de campo.

A combinação entre reprodução sexual e agamospermia é definida como apomixia facultativa. A apomixia facultativa pode existir na mesma semente ou indivíduo ou população (RICHARDS, 1986) e a proporção de sementes originadas sexual e assexualmente pode variar em diferentes anos (GRANT, 1981).

Os altos índices de agamospermia registrados para *L. australis* nos dois anos de estudos coincidem com os obtidos por SANTOS (1985) em outra população da mesma espécie na mata da "Fazenda Santa

Miconia e Leandra sistemas reprodutivos



Genebra". Agamospermia na espécie pode ser detectada no campo através dos frutos resultantes de emascações ou pelo desenvolvimento de outros a partir de botões. A presença de agamospermia, reprodução vegetativa e alta taxa de inviabilidade do pólen indicam que os métodos assexuados determinam a forma de reprodução de *L. australis*.

As espécies, como *L. australis*, onde a reprodução sexual é inexistente são consideradas apomíticas obrigatórias. Segundo SAVIDAN (1984) a definição destas é difícil porque na realidade existem raças ou formas apomíticas obrigatórias que participam do chamado complexo agâmico. Estes complexos reúnem toda gama de variações em sexualidade, gerando um gradiente em cujos extremos estão a apomixia obrigatória e a reprodução sexuada.

Existe a possibilidade de que a agamospermia em *M. discolor* e *L. australis* e a fecundação cruzada em *M. theaezans* levem vantagem sobre a reprodução vegetativa nestas espécies. Isto porque, de acordo com GRANT (1981), a reprodução via sementes geralmente apresenta aspectos adaptativos com respeito a dormência, resistência e dispersão que não são compartilhados em igual grau por propágulos vegetativos na mesma espécie.

A agamospermia confere outras vantagens como garantir a reprodução mesmo na ausência de polinização, reduzir os custos de meiose e de produção de pólen e fixar e perpetuar genótipos bem adaptados (RICHARDS, 1986). Uma grande quantidade de genótipos agamospérmicos são obtidos por meio de hibridização e poliploidização. Alguns destes são sexualmente estéreis ou semi-estéreis e, conseqüentemente, na ausência de agamospermia tendem a ser eliminados (GRANT, 1981). Para a família Melastomataceae, embora o número de

espécies analisadas seja restrito, os dados sugerem um número significativo de híbridos (e.g. ALMEDA, 1978; RENNER, 1990) e poliplóides (RENNER, 1989).

Sob o ponto de vista evolutivo a agamospermia é desvantajosa pois a variabilidade genética, que é necessária para a evolução, tende a ser perdida através da seleção. Portanto, muitas agamospécies são bem sucedidas apenas quando são facultativamente sexuais (WET & STALKER, 1974). Em apomíticos facultativos a variabilidade pode ser obtida através da sua origem híbrida, mutação, auto-segregação, hibridização com outros agamospérmicos ou tipos sexuais e também pela formação ocasional de zigotos sexuais (HA et al., 1988). Mesmo em apomíticos obrigatórios um certo grau de variabilidade pode ser acrescentada por meio de recombinação somática, recombinação meiótica ocasional, perda e ganho de cromossomos e mutações (RICHARDS, 1986).

A auto-polinização de flores sem interferência de um polinizador (auto-polinização espontânea) está limitada nas espécies analisadas neste trabalho pela dificuldade na remoção dos grãos de pólen em anteras poricidas. Os resultados para auto-polinização espontânea, provavelmente, estão sendo mascarados pela presença de agamospermia nas espécies de *Miconia*.

Na análise morfológica observou-se que a população de *M. elegans* e a de *M. theaezans* exibem variação significativa. Para *M. discolor* e *L. australis* ocorre uniformização entre os indivíduos, principalmente, dentro de grupos. Este comportamento é o comumente esperado para espécies com reprodução sexual e espécies apomíticas. As espécies xenógamas tendem a exibir grande variabilidade intra populacional como consequência das diferentes combinações gênicas

produzidas por indivíduos heterozigotos (GRANT, 1958). Por outro lado, as populações de espécies apomíticas ou autógamas geralmente são compostas por um conjunto de biótipos com sutis diferenças morfológicas entre si (STEBBINS, 1971).

O sistema reprodutivo, como um dos fatores que regulam a recombinação em plantas, influencia no grau de variabilidade genética presente nas populações. Esta variabilidade é refletida na diversidade morfológica (DAVIS & HEYWOOD, 1973; GRANT, 1958).

A população da espécie analisada de *Leandra* exibe folhas nérvias ou plinérvias e a cor das pétalas varia do róseo ao esbranquiçado. Estas características são indicadas por COGNIAUX (1886-1888) para *L. australis* e *L. atro-purpurea*. Segundo o autor estas espécies divergem pela presença de folhas nérvias e pétalas brancas em *L. australis* e folhas plinérvias e pétalas róseas em *L. atro-purpurea*.

SANTOS (1985), trabalhando em outro local da mesma mata, identificou uma população como sendo de *L. australis* devido ao predomínio de pétalas brancas. Contudo, os indivíduos apresentaram folhas nérvias ou plinérvias e, alguns, pétalas róseas.

As observações desenvolvidas neste trabalho aliadas as de SANTOS (1985) sugerem a existência de apenas uma espécie de *Leandra* com amplitude de variação morfológica maior do que a suposta por COGNIAUX (1886-1888). Esta hipótese poderá ser confirmada somente depois que forem realizados estudos taxonômicos e reprodutivos com outras populações, para ambas espécies.

O florescimento sequencial observado nas espécies estudadas de *Miconia* é comumente encontrado em outras do gênero (e.g. RENNER,

1984; HILTY, 1980) ou de outros grupos tropicais (e.g. STILES, 1977). Este comportamento em áreas tropicais talvez seja evolutivamente determinado visando reduzir a competição por polinizadores comuns (FRANKIE, 1978) e/ou o fluxo gênico inter específico (RATHCKE & LACEY, 1985). Para o gênero *Miconia* existe ainda a hipótese de que o florescimento seja estabelecido de forma sequencial para reduzir a competição por agentes dispersores. Segundo Snow (1965) apud LEVIN (1978) o período alternado de frutificação entre 18 espécies de *Miconia* em Trinidad resulta, provavelmente, da competição por pássaros dispersores. Outras observações sobre amadurecimento sequencial de frutos de *Miconia* foram realizadas com 19 espécies do gênero em uma floresta tropical úmida da Colômbia por HILTY (1980).

A sobreposição total no período de florescimento de *L. australis* com *M. discolor* e *M. theaezans* levanta a possibilidade de troca gênica entre estas espécies. Contudo, isto não deve ocorrer devido a ausência de visitantes e alta taxa de pólen inviável em *L. australis*, bem como pelas diferenças em cor e forma dos elementos florais entre as três espécies. Alguns autores salientam a necessidade de desenvolver experimentos procurando determinar se a separação temporal no período de florescimento entre espécies não ocorre ao acaso e se a sobreposição dos períodos reduz efetivamente a produção de sementes (BAWA, 1983).

As espécies vegetais apresentam um padrão de florescimento próprio que é definido pela época, duração e frequência intra e entre indivíduos. Em um extremo estão espécies cujos indivíduos produzem poucas flores por várias semanas ou meses (florescimento prolongado) e no outro são produzidas numerosas flores por alguns dias

(florescimento maciço) (BAWA, 1983). A produção de um grande número de flores por um período extenso de tempo permite situar *M. elegans*, *M. discolor* e *M. theaezans* no gradiente presente entre estes dois tipos de florescimento. Em *L. australis* ocorre marcadamente florescimento do tipo prolongado.

Florescimento por um longo período deve conferir algumas vantagens como melhor distribuição de recursos disponíveis entre produção de flores e frutos, maior diversidade de cruzamentos, redução no nível de geitonogamia e nos efeitos negativos gerados por condições climáticas desfavoráveis ou ausência de polinizadores (RATHCKE & LACEY, 1985). O florescimento prolongado é comum entre espécies do sub-bosque de florestas tropicais e caracteriza as xenógamas obrigatórias nestas áreas (RATHCKE & LACEY, 1985).

A sincronia parcial entre indivíduos de *M. elegans* permite um período de florescimento mais longo para a espécie. A assincronia dentro de populações promove a polinização cruzada na medida que estimula o deslocamento dos polinizadores entre indivíduos e pode reduzir a competição intra-específica pelos mesmos (RATHCKE & LACEY, 1985). Para *M. theaezans* a sincronia total a nível de população pode ou não ser vantajosa. De acordo com RATHCKE & LACEY (1985) a sincronia aumenta o efeito atrativo provocado pelas flores sobre os polinizadores, mas também, sobre os predadores. Por outro lado, a sincronia possibilita que ambos sejam saciados, assegurando maior número de polinizações e ataque a um menor número de flores e sementes.

Para *M. discolor* supõem-se que o florescimento também seja sincrônico em função da similaridade entre os resultados obtidos em

1989 e os registrados por BALDASSARI (1985) para a mesma população da espécie. A assincronia entre os grupos em 1988 pode ser uma consequência da escassez de chuvas nos meses de agosto e setembro deste ano. Considerando que os indivíduos do grupo C e a maioria do grupo A estão localizados em áreas mais secas é possível que este fenômeno tenha provocado o desenvolvimento lento dos botões nestes grupos. Como a temperatura manteve valores aproximados em 1988 e 1989 (FIG. 6) é provável que a diminuição das chuvas tenha provocado um efeito negativo sobre o florescimento de *M. discolor*.

Segundo BORCHERT (1983) a antese em espécies arbóreas tropicais pode ser retardada por condições ambientais desfavoráveis, como estresse hídrico ou queda de temperatura, que impedem o completo desenvolvimento dos botões florais. Para OPLER et al. (1976) em muitas espécies arbóreas e arbustivas tropicais a precipitação é o estímulo necessário para a quebra de dormência imposta pela seca, permitindo o seu florescimento.

Características florais apresentadas pelas espécies estudadas como flores pequenas e agrupadas na porção apical dos ramos, antese no início da manhã, grãos de pólen em grandes quantidades, odor marcante e duração de um a dois dias são muitas vezes observadas em outras espécies com polinização vibrátil.

Assim como nas espécies estudadas o pólen é o principal atrativo e recurso oferecido por outras com polinização vibrátil aos seus visitantes. As Melastomataceae são indicadas como uma importante fonte de pólen para as abelhas neotropicais (RENNER, 1989).

O odor produzido pelo perianto é apontado como um atrativo secundário nas flores com anteras poricidas (RENNER, 1989). Contudo, o

odor do pólen pode atuar como um guia de nectário para os visitantes das espécies com este tipo de anteras (BUCHMANN, 1983). Apenas em *M. theaezans* evidenciou-se a emissão de odor pelo pólen. Para *L. australis* existe a possibilidade de que os grãos não emitam odor como consequência da sua inviabilidade (A. COCUCCI, com. pess.) ou a ausência de odor nos elementos florais seja uma característica da espécie. Apesar de não especificar quais gêneros, RENNER (1989) afirma que somente um terço das Melastomataceae produzem odor.

A cor amarela em anteras poricidas sugere uma grande quantidade de pólen mesmo que estejam vazias (fraude floral), sendo que estas anteras podem servir como atração e orientação para os visitantes (BUCHMANN, 1983). RENNER (1989) acrescenta que em vista da importância do odor dos grãos na orientação das abelhas, é incerto que o efeito visual produzido pelas anteras amarelas, por si só, determine o comportamento de coleta do pólen pelas mesmas. As flores de *L. australis* apesar de exibirem anteras amarelas foram visitadas por apenas um indivíduo de duas espécies de abelhas durante os dois anos de observação. Existe a possibilidade de que a ausência de odor e/ou o reconhecimento de fraude floral pelas abelhas limite a polinização na espécie.

A zigomorfia nas flores de *M. discolor* é determinada pela presença de enantiofilia, isto é, o desvio do estilete para a direita ou esquerda do eixo floral. Enantiofilia é geralmente acompanhada por heteranteria (androceu com dimorfismo nas anteras) (BUCHMANN, 1983; RENNER, 1989). Esta associação poderia reduzir a probabilidade de auto-polinização (BUCHMANN, 1983), promover polinização entre flores que apresentam o estilete para a direita e os estames para a esquerda

e vice-versa, facilitar aos visitantes o acesso às anteras com pólen destinado a alimentação e proteger as partes femininas de danos causados por vibração das abelhas (DULBERGER, 1981). Para *M. discolor* a enantiostilia aparece dissociada de heteranteria e não ocorre o deslocamento dos estames para um dos lados da flor. Enantiostilia na espécie seria justificada a princípio apenas como proteção das partes femininas das flores.

Segundo STEIN & TOBE (1989) a ocorrência de néctar está restrita a poucas espécies dentro da família Melastomataceae, sendo algumas do gênero *Miconia*. Os autores relatam que nestas espécies o néctar pode ser produzido por estames, pistilos ou pétalas. Considerando os dados de campo é possível que *M. theaezans* seja outra espécie que ofereça este tipo de recurso aos visitantes. Entretanto, as observações deverão ser complementadas com outros estudos no intuito de confirmar esta suposição.

Em função do comportamento durante a visita das espécies de abelhas de *Epicharis* (Anthophoridae), *Xylocopa* (Anthophoridae), *Oxaea* (Andrenidae), *Euglossa* (Euglossini), *Bombus* (Anthophoridae) e da família Halictidae foram consideradas como prováveis polinizadores das espécies estudadas de *Miconia* e *L. australis*. Estas abelhas estão relacionadas na listagem de espécies polinizadoras das Melastomataceae dada por RENNERT (1989) e são indicadas como polinizadores de outras 24 espécies de *Miconia* e tres de *Leandra*.

O deslocamento constante das abelhas entre flores de um mesmo indivíduo e entre diferentes indivíduos provavelmente resulta em geitonogamia e polinização cruzada nas espécies.

Em *M. discolor* a grande quantidade de flores abertas por dia, o arranjo das flores em glomérulos, a existência de clones e o florescimento sincrônico devem provocar um alto índice de geitonogamia quando ocorre reprodução sexuada. Para *M. theaezans*, apesar da ocorrência de reprodução vegetativa e florescimento sincrônico, é provável que a geitonogamia seja limitada pela menor quantidade de indivíduos/clone e menor quantidade de flores abertas/dia em cada indivíduo.

Embora a quantidade de flores abertas por dia seja significativo em *M. elegans* é possível que a polinização cruzada predomine na espécie como resultado da sua alta densidade populacional. Segundo ARROYO (1976) a pressão para que um polinizador continue forrageando sobre uma planta deve ser menor em espécies com alta densidade populacional. Estas espécies seriam beneficiadas pela maior atuação dos polinizadores uma vez que a tendência dos mesmos é se mover de uma planta para outras próximas como forma de economizar energia (LEVIN, 1972).

A viabilidade dos grãos de pólen geralmente está relacionada com o sistema de reprodução de uma espécie. O predomínio de grãos inviáveis pode indicar a existência de mecanismos assexuados na reprodução. Segundo FAEGRI & van der PIJL (1979) muitas espécies apomíticas exibem flores com estames vestigiais ou anteras vazias ou quando os grãos são produzidos, frequentemente, são inviáveis. RICHARDS (1986) acrescenta que alta esterilidade no pólen está relacionada com apomíticos obrigatórios. Os facultativos tendem a apresentar menor esterilidade pois dependem do pólen para reprodução sexuada e pseudogamia.

Os resultados do exame de viabilidade dos grãos complementam a idéia de reprodução sexuada em *M. elegans* e *M. theaezans*. Os estudos de campo confirmam a associação entre apomixia e baixa fertilidade do pólen para *M. discolor* e *L. australis*. De acordo com RENNER (1989) esta correlação é frequente nas espécies tropicais de Melastomataceae.

Em *M. elegans* alguns indivíduos apresentaram quantidade significativa de grãos inviáveis. Outros estudos serão necessários visando definir que tipo de irregularidade durante a esporogênese ou gametogênese masculina provoca o comportamento anormal destes indivíduos em relação aos demais na população. Conforme STEBBINS (1971) uma alta proporção de inviabilidade gamética pode resultar de anormalidades durante a meiose, como inversões e translocações.

Para *M. discolor* os índices registrados com azul de anilina em lactofenol são similares aos obtidos com carmin-acético, confirmando uma alta taxa de inviabilidade dos grãos. A não germinação do pólen "in vitro" nesta espécie pode estar correlacionada com ausência de estimulantes no meio.

A existência ou não de auto-incompatibilidade genética foi difícil de se avaliar nas espécies estudadas de *Miconia*. Os resultados obtidos são, muitas vezes, contraditórios permitindo uma interpretação apenas parcial do fenômeno.

Nas flores auto-polinizadas de *M. elegans* a maioria dos tubos cessou o crescimento na porção superior do estilete, apresentou espessamento da parede e, ocasionalmente, formação de uma vesícula na extremidade distal. Segundo NETTANCOURT (1977) estas reações são características do sistema gametofítico de auto-incompatibilidade.

O sistema gametofítico na espécie estaria, a princípio, correlacionado com grãos de pólen trinucleados. Esta associação é apontada em literatura como infrequente (e.g. BREWBAKER, 1967; STEPHENSON & BERTIN, 1983). Grãos trinucleados foram observados em algumas Melastomataceae (e.g. Subramanyam, 1942, 1946, 1948 apud TOBE & RAVEN, 1983). Contudo, baseando-se em estudos com várias outras espécies, TOBE & RAVEN (1984) afirmam que a família se caracteriza por apresentar grãos binucleados. Estes dados somados aos obtidos com *M. elegans* (grãos trinucleados), *M. discolor* (grãos binucleados) e *L. australis* (grãos binucleados) sugerem que, provavelmente, existe uma certa variação quanto ao número de núcleos dos grãos de pólen das Melastomataceae.

TOBE & RAVEN (1984) salientam que cortes anatômicos seriados, como os realizados por Subramanyam (1942, 1946, 1948) e também para as espécies avaliadas neste trabalho, podem levar a uma interpretação errônea do número de núcleos nos grãos. Todavia, isto deve ocorrer esporadicamente uma vez que as características da microgametogênese são geralmente definidas a partir da análise de várias flores por espécie.

As observações revelam uma variação na resposta para auto-incompatibilidade entre os indivíduos da espécie. Para aqueles onde foi acompanhado o crescimento dos tubos originados de auto-polinização até a base do estilete existe a possibilidade de que os mesmos alcancem e fertilizem os óvulos. Esta suposição se baseia nos resultados de campo, onde se registrou a formação de sementes em flores auto-polinizadas. Diferenças no grau de rejeição ao próprio pólen ou tubos polínicos não são incomuns em espécies auto-

incompatíveis e, geralmente, uma certa proporção de sementes é produzida após auto-polinização. Estas espécies são consideradas parcialmente auto-incompatíveis (KRESS, 1983). Para BAWA (1974) a presença de indivíduos com um certo grau de compatibilidade resultaria de falha no sistema de incompatibilidade ou teria alguma função adaptativa.

Miconia elegans exibiu também divergências quanto a velocidade de crescimento dos tubos polínicos, sendo que os de polinização cruzada sempre foram os mais rápidos. Existe a probabilidade de que estes resultados sejam consequência da auto-incompatibilidade parcial na espécie. Conforme STEPHENSON & BERTIN (1983) o crescimento diferencial entre tubos resultantes de auto-polinização e polinização cruzada é comum em espécies auto-compatíveis, sendo provavelmente um efeito do genótipo materno e do grão de pólen.

Nas flores polinizadas em condições naturais de *M. elegans* a maior parte dos tubos polínicos são semelhantes aos observados naquelas auto-polinizadas. Este fato sugere a ocorrência de geitonogamia na espécie. A existência de geitonogamia em espécies tropicais tem gerado especulações acerca da sua possível relação com auto-incompatibilidade. BAWA (1979), por exemplo, sugere que o nível de geitonogamia nestas espécies seja tão alto que exista forte seleção do pólen para quebrar as barreiras de incompatibilidade. Inversamente, ARROYO (1976) propõe que a geitonogamia seja o fator responsável pela disseminação e, talvez, pelo início da auto-incompatibilidade em angiospermas.

Para *M. discolor* a pequena quantidade de indivíduos trabalhados e a não diafanização do estilete dificultaram a avaliação de auto-incompatibilidade. Contudo, considerando os resultados de auto-polinização em campo e laboratório é possível suspeitar que a espécie também apresenta o sistema gametofítico de incompatibilidade.

Em *M. theaezans* o crescimento dos tubos polínicos até a base do estilete sem reações de incompatibilidade e a baixa produção de frutos seguindo auto-polinização em campo levanta a hipótese de que a espécie apresenta auto-incompatibilidade de ação tardia. Neste tipo de auto-incompatibilidade a rejeição ocorre a nível de ovário, antes ou após a fertilização (SEAVEY & BAWA, 1986).

As informações disponíveis indicam que a ausência de rígidas barreiras para auto-fertilização predomina entre espécies herbáceas e arbustivas do sub-bosque de florestas tropicais. Nestas espécies a auto-incompatibilidade parcial está associada com outras características que promovem a fecundação cruzada (KRESS, 1983; Mc DADE, 1985).

Em *M. elegans* a fecundação cruzada seria favorecida pela associação entre auto-incompatibilidade parcial e o crescimento diferencial dos tubos de auto-polinização e polinização cruzada. Para a família Melastomataceae foram examinadas 47 espécies quanto a compatibilidade (RENNER, 1989). Todavia, para nenhuma das 22 consideradas auto-incompatíveis determinou-se qual o sistema que as caracteriza. A inexistência de informações não permite avaliar se os sistemas, provavelmente, exibidos pelas espécies analisadas é comum dentro da família.

Os estudos embriológicos permitiram um maior detalhamento de alguns aspectos que caracterizam a forma de reprodução em tres das espécies estudadas. Para *M. elegans* o desenvolvimento normal dos grãos de pólen e sacos embrionários indicam o predomínio da reprodução sexuada na espécie. Todavia, não se deve descartar a probabilidade de que a polinização e fecundação de sacos embrionários normais atuem como estímulo para o estabelecimento de embriões adventíceos uma vez que não foram analisados estágios mais avançados de flores polinizadas. Esta hipótese deve ser considerada com atenção pois, conforme RICHARDS (1986), a embrionia adventícea em muitos gêneros que exibem agamospermia parece ocorrer apenas quando associada a reprodução sexual.

O desenvolvimento de sacos embrionários do tipo Polygonum em *M. elegans* e *M. discolor* é indicado por TOBE & RAVEN (1983) como padrão para a família Melastomataceae. Para *M. discolor* e *L. australis* as informações embriológicas forneceram evidências adicionais para agamospermia. O mecanismo é caracterizado pela ocorrência de embrionia adventícea (agamospermia esporofítica) nas duas espécies e também formação de embriões a partir de sacos embrionários não reduzidos (agamospermia gametofítica) em *L. australis*. O desenvolvimento de embriões adventíceos na fase de botão em *M. discolor* e *L. australis* e de embrião e endosperma partenogeneticamente em sacos embrionários não reduzidos em *L. australis* sugerem que estas espécies não são pseudogâmicas.

Embrionia adventícea está associada em *M. discolor* com poliembrionia. A poliembrionia nucelar é registrada em 16 das 172 famílias que apresentam óvulos crassinucelados nas angiospermas

(LAKSHAMAN & AMBEGAOKAR, 1984). A formação de suspensor bem definido nos embriões nucelares, bem como o desenvolvimento destes na ausência de endosperma, apontam *M. discolor* como uma exceção entre as espécies com poliembrionia. Segundo LAKSHAMAN & AMBEGAOKAR (1984) estas características são raramente observadas em espécies com poliembrionia nucelar.

A inexistência de sacos embrionários normais junto com embriões adventíceos implica que a agamospermia pode coexistir com reprodução sexual em *M. discolor* a nível de população ou indivíduo ou ovário, mas não em um mesmo óvulo. A quantidade reduzida de sacos embrionários normais observados nesta espécie indica que, provavelmente, a maior parte dos embriões desenvolvidos são agamospérmicos. Sendo assim, a quantidade de embriões sexuais formados na população estudada deve ser inferior ao registrado nos trabalhos de campo.

Para *L. australis* os dados indicam que a agamospermia gametofítica prevalece como mecanismo reprodutivo devido a ausência de sacos embrionários normais e ocorrência restrita de embriões adventíceos. Estas características confirmam a idéia de apomixia obrigatória na espécie. Existe uma grande probabilidade de que a agamospermia gametofítica em *L. australis* seja do tipo diplospórica pois, de acordo com RICHARDS (1986), na maioria das espécies com este mecanismo ocorre o desenvolvimento autônomo do endosperma.

A presença de poliembrionia na família Melastomataceae foi observada também em *Melastoma* (Subramanyam, 1948 apud DAVIS, 1966). Entretanto, neste gênero, os múltiplos embriões são originados a partir de diferentes células em um mesmo saco embrionário. Novos

registros deste ou de outros tipos específicos de agamospermia são inexistentes para a família Melastomataceae embora o fenômeno tenha sido detectado no campo para muitas de suas espécies (e.g. RENNERT, 1989). Conforme TOBE & RAVEN (1983) as informações embriológicas estão restritas a apenas 3% da família. Nas regiões tropicais foram observadas as tres formas básicas de agamospermia, ou seja, a embrionia adventícea, a aposporia e a diplosporia. Até o momento, a embrionia adventícea é indicada como a mais representativa na flora (BAKER et al., 1983).

A relação entre a quantidade de grãos de pólen e a quantidade de óvulos produzidos é, muitas vezes, apontada como um indicador do tipo de sistema reprodutivo presente em uma espécie. Segundo CRUDEN (1977) cada sistema exibe uma razão pólen/óvulo própria que é definida pelo grau de eficiência na transferência do pólen. Desta forma, as espécies xenógamas tendem a exibir maior razão pólen/óvulo do que as autógamas ou as cleistógamas.

Em função dos índices determinados por CRUDEN (1977) como padrão de avaliação considera-se que as espécies estudadas de *Miconia* apresentam a xenogamia como forma de reprodução e *L. australis* a autogamia. As demais evidências experimentais, no entanto, apontam que a razão pólen/óvulo está sugerindo um sistema reprodutivo distinto daquele documentado para *M. discolor* e *L. australis*. Por outro lado, existe a possibilidade de que a razão pólen/óvulo esteja refletindo o passado evolutivo destas espécies, onde os ancestrais seriam sexuais. Portanto, dentre as espécies estudadas, a razão pólen/óvulo serve como indicadora do sistema reprodutivo apenas para *M. elegans* e *M. theaezans*.

Segundo PRESTON (1986) a tabela de CRUDEN (1977) pode não ser um padrão confiável para a avaliação do sistema de reprodução pois é baseada em um número relativamente pequeno de espécies, sendo que a maioria apresenta pouca afinidade entre si. Conforme o autor a razão pólen/óvulo deve ser utilizada em estudos sobre reprodução somente quando existir um conjunto de informações confiáveis que permita uma interpretação correta da mesma.

Dentre as espécies analisadas apenas para *M. elegans* não foi comprovada a existência de reprodução vegetativa. Entretanto, a possibilidade de ocorrer este mecanismo na espécie não é descartada em função da proximidade dos indivíduos e do crescimento em touceiras.

As diferenças em porte e cor e forma do hipanto entre os indivíduos do grupo B e os demais grupos sugerem que a população de *M. discolor* seja composta por dois clones. Para *L. australis* a uniformização intra e entre grupos indica a existência de somente um clone na população.

Em *M. theaezans* é possível que a variação morfológica entre grupos resulte da presença de vários clones na população. Segundo ELLSTRAND & ROOSE (1987) a variabilidade genética observada em populações multiclonais pode resultar de origem polifilética, mutação ou recombinação regular ou ocasional.

A reprodução vegetativa oferece algumas vantagens as espécies estudadas como possibilitar um aumento na distribuição geográfica (DAVIS & HEYWOOD, 1973), permitir que um indivíduo explore recursos sobre uma extensa área (REINARTZ & POPP, 1987) e perpetuar genótipos com valor adaptativo comprovado (GRANT, 1981). Todavia, grandes clones podem restringir o "pool" gênico de uma espécie e suas

oportunidades evolutivas através da maior distância entre indivíduos e menor tamanho efetivo de população (RICHARDS, 1986).

Para as Melastomataceae não foi encontrado registro em literatura sobre reprodução vegetativa. Sem informações torna-se difícil avaliar se o mecanismo é frequente na família e/ou se atua como uma adaptação das espécies analisadas a um ambiente tão particular como é um brejo.

Finalmente, considerando o conjunto de informações coletadas (TABELA 14) podemos concluir que as espécies estudadas apresentam os seguintes sistemas de cruzamento: *M. elegans* e *M. theaezans* - fecundação cruzada, *M. discolor* - apomixia facultativa e *L. australis* - apomixia obrigatória.

TABELA 14: Características reprodutivas das espécies estudadas

CARACTERÍSTICAS	ESPÉCIES			
	<i>M. elegans</i>	<i>M. discolor</i>	<i>M. theaezans</i>	<i>L. australis</i>
REPRODUÇÃO VEGETATIVA	?	estolho	rizoma	estolho
SISTEMA DE POLINIZAÇÃO	melitofilia (vibrátil)	melitofilia (vibrátil)	melitofilia (vibrátil)	melitofilia (vibrátil)
VIABILIDADE DO PÓLEN	70-95%	40-70%	70-95%	0-5%
AUTO-INCOMP.	+	+	?	
SISTEMA REPRODUTIVO	fecundação cruzada	agamospermia + sexual	fecundação cruzada ?	agamospermia
EMBRIOLOGIA	S.E. reduzidos	embrionia adventícea + S.E. reduzidos		embrionia adventícea + S.E. não reduzidos
RAZO P/O	xenogamia facultativa	xenogamia obrigatória	xenogamia facultativa	autogamia facultativa

5. RESUMO

Estudos sobre a biologia reprodutiva de *Niconia discolor*, *M. elegans*, *M. theaezans* e *Leandra australis* foram desenvolvidos em uma mata tropical semi-decídua localizada próxima ao município de Campinas, SP.

Para cada espécie analisou-se uma população quanto a morfologia; presença ou não de reprodução vegetativa; características gerais da floração e do sistema de polinização; viabilidade do pólen; presença ou não de auto-incompatibilidade via crescimento de tubos polínicos; emasculações e polinizações em campo; análise embriológica preliminar e razão pólen-óvulo.

Os resultados indicam variação morfológica significativa entre os indivíduos de *M. elegans* e *M. theaezans*. Para *M. discolor* e *L. australis* ocorre uniformização da população.

Nos grupos de *M. discolor* e *L. australis* os indivíduos estão ligados através de estolões, embora para *M. theaezans* a ligação intra-grupos ocorre por meio de rizomas. Em *M. elegans* não foi possível avaliar se existe reprodução vegetativa.

O florescimento da espécies ocorre sequencialmente ao longo do ano. O período de *L. australis* se sobrepõe ao de *M. discolor* e ao de *M. theaezans*. Contudo, é provável que a ausência de visitantes em *L. australis* e a diferença em cor e forma das flores impeçam a troca gênica entre estas espécies.

As espécies apresentam características florais correlacionadas com polinização vibrátil. Em função do comportamento durante a visita considerou-se como prováveis polinizadores abelhas dos

gêneros *Epicharis* (Anthophoridae), *Xylocopa* (Anthophoridae), *Oxaea* (Andrenidae), *Euglossa* (Euglossini), *Bombus* (Anthophoridae) e as da família Halictidae.

A viabilidade do pólen varia entre 70-95% para *M. elegans* e *M. theaezans*, 40-70% para *M. discolor* e apenas cerca de 5% dos grãos são viáveis em *L. australis*.

Experimentos em campo indicam que a fecundação cruzada é o mecanismo reprodutivo mais comum em *M. elegans* e *M. theaezans* e observações do crescimento dos tubos polínicos sugerem que ambas apresentam auto-incompatibilidade genética. Em *M. theaezans* este pode ser de ação tardia, mas isto ainda necessita ser confirmado. *Leandra australis* parece ser totalmente agamospérmica, mas *M. discolor* apresenta agamospermia facultativa, mantendo um certo grau de reprodução sexual. Observações sobre o crescimento de tubos polínicos também sugerem a presença de auto-incompatibilidade em *M. discolor*.

Nos estudos embriológicos observou-se que em *M. discolor* a agamospermia é caracterizada pela presença de embrionia adventícea e é o principal mecanismo empregado na reprodução da espécie. Em *L. australis*, apesar de ocorrer embrionia adventícea, a reprodução é caracterizada por agamospermia gametofítica. Para *M. elegans* o desenvolvimento normal dos grãos de pólen e dos sacos embrionários confirmam o predomínio da reprodução sexual na espécie.

O índice para razão pólen-óvulo de *M. elegans* corroboram a hipótese de xenogamia na espécie. Entretanto, para as demais espécies os índices apontam um sistema de reprodução distinto daquele registrado para as mesmas.

O conjunto de informações coletadas permite concluir que as espécies exibem os seguintes sistemas de reprodução: *M. elegans* - xenogamia; *M. theaezans* - xenogamia com reprodução vegetativa; *M. discolor* - apomixia facultativa com um certo grau de xenogamia e reprodução vegetativa e *L. australis* - apomixia obrigatória com reprodução vegetativa.

6. ABSTRACT

The reproductive biology of *Miconia discolor*, *M. elegans*, *M. theaezans* e *Leandra australis* was studied in an area of semi-deciduous forest located in the municipality of Campinas, SP, Brazil.

For each species, the following characteristics were analysed for a single population : morphology; presence or absence of vegetative reproduction; general characteristics of flowering and pollination system; pollen viability; pollination experiments in the field; pollen tube growth; pollen/ovule ratio and a preliminary embryological analysis.

Significant morphological differences between individuals were noted in *M. elegans* and *M. theaezans*, while *M. discolor* and *L. australis* had relatively uniform populations.

Within groups of plants in *M. discolor* and *L. australis*, individuals are linked by stolons, while in *M. theaezans*, intra-group links are in the form of rhizomes. It was not possible to confirm the existence of vegetative reproduction in *M. elegans* because of difficulties in observing the relevant structures in the field.

Flowering occurred sequentially throughout the year. The flowering period of *L. australis* overlaps with that of *M. discolor* and *M. theaezans*, but potential gene flow is inhibited by the reproductive system of *L. australis* and the apparent absence of visitors to this species, together with differences in colour and form of the flowers.

All the species show floral characteristics associated with vibratory pollination. From their behaviour during visits, bees of the genera *Epicharis* (Anthophoridae), *Xylocopa* (Anthophoridae),

Oxaea (Andrenidae), *Euglossa* (Euglossini), *Bombus* (Anthophoridae) and members of the family Halictidae were considered the probable pollinators.

Pollen viability varied from 70-95% in *M. elegans* and *M. theaezans*, 40-70% for *M. discolor* and only 5% of the pollen grains had stainable contents in *L. australis*.

Pollination experiments showed that cross-pollination is more common in *M. elegans* and *M. theaezans* and observations of pollen tube growth suggest that both possess self-incompatibility systems.

In the case of *M. theaezans* this may be of the late-acting type, but this needs to be confirmed. *Leandra australis* appears to be almost totally agamospermic, while *M. discolor* has facultative agamospermy, retaining at least some degree of sexual reproduction. Observations on pollen tube growth also suggest the presence of a self-incompatibility system in *M. discolor*.

Embryological observations show that in *M. discolor*, agamospermy occurs via adventitious embryony, and that this is the main reproductive mechanism in this species. In *L. australis*, gametophytic agamospermy was observed in addition to adventitious embryony, and appears to be the main mechanism in this species.

Sexual reproduction is confirmed in *M. elegans*, with normal development of pollen and embryo sacs.

Pollen/ovule ratios are compatible with the outbreeding system proposed for *M. elegans*, but do not agree with the systems proposed for the other species.

In conclusion, the following breeding systems are proposed:
M. elegans - outbreeding; *M. theaezans* - outbreeding, with vegetative

reproduction; *M. discolor* - facultative apomixy, with some degree of outbreeding and vegetative reproduction; *L. australis* - completely apomictic, with vegetative reproduction.

7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEDA, F. 1978. Systematics of the genus *Monochaetum* (Melastomataceae) in Mexico and Central America. University of California Press, Berkeley. 134 p.
- ARROYO, M.T.K. 1976. Geitonogamy in animal pollinated tropical angiosperms. A stimulus for the evolution on self-incompatibility. *Taxon* 25(5/6): 543-548.
- AUGSPURGER, C.K. 1980. Mass-flowering of a tropical shrub (*Hybanthus prunifolius*): influence on pollinator attraction and movement. *Evolution* 34(3): 475-488.
- BAKER, H.G. 1960. Apomixis and polyembryony in *Pachira oleaginea* (Bombacaceae). *Amer. J. Bot.* 47: 296-302.
- BAKER, H.G.; K.S. BAWA; G.W. FRANKIE & P.A. OPLER 1983. Reproductive biology of plants in tropical forests. IN: *Tropical Rain Forest Ecosystems. Structure and Functions*. Golley, F.B. (Ed.). Elsevier Scientific Publishing Company, Amsterdam. pp. 183-215.
- BALDASSARI, I. 1985. Estudo da biologia reprodutiva em *Miconia discolor* DC.. Relatório da disciplina Taxonomia Experimental de Plantas (não publicado).
- BARROSO, G.M. 1984. *Sistemática de Angiospermas do Brasil. Vol.2*. Imprensa Universitária da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa. pp. 135-154.
- BAWA, K.S. 1974. Breeding systems of a trees species in a tropical lowland community. *Evolution* 28(1): 85-92.
- BAWA, K.S. 1976. Breeding of tropical hardwoods: an evaluation of underlying bases, current status and future prospects. IN: *Tropical Trees. Variation, Breeding and Conservation*. Burley, J. & B.T.

- Stiles (Eds.). Academic Press, London. pp. 43-59.
- BAWA, K.S. 1977. The reproductive biology of *Cupania guatemalensis* (Sapindaceae). *Evolution* 31: 52-63.
- BAWA, K.S. 1979. Breeding systems of trees in a tropical wet forest. *New Zealand J. Bot.* 17: 521-524.
- BAWA, K.S. 1983. Patterns of flowering in tropical plants. IN: *Handbook of Experimental Pollination Biology*. Jones, C.E. & R.J. Little (Eds.). Von Nostrand Reinhold, New York. pp. 394-410.
- BAWA, K.S.; D.R. PERRY & J.H. BEACH 1985a. Reproductive biology of tropical lowland rain forest trees. I. Sexual systems and incompatibility mechanisms. *Amer. J. Bot.* 72(3): 331-345.
- BAWA, K.S.; S.H. BULLOCK; D.R. PERRY; R.E. COVILLE & M.H. GRAYUM 1985b. Reproductive biology of tropical lowland rain forest trees. II. Pollinations systems. *Amer. J. Bot.* 72(3): 346-356.
- BORCHERT, R. 1983. Phenology and control of flowering in tropical trees. *Biotropica* 15: 81-89.
- BORROR, D.J. & D.M. De LONG 1969. *Introdução ao Estudo dos Insetos*. Edegard Blucher Ltda/EDUSP, São Paulo. 653p.
- BRAZIER, J.D.; J.F. HUGUES & C.B. TABB 1976. Exploitation of natural tropical resources and the need for genetic and ecological conservation. IN: *Tropical Trees. Variation, Breeding and Conservation*. Burley, J. & B.T. Styles (Eds.). Academic Press, London. pp. 43-59.
- BREWBAKER, J.L. 1967. The distribution and phylogenetic significance of binucleate and trinucleate pollen grains in the angiosperms. *Amer. J. Bot.* 54(9): 1069-1083.

- BRUNE, A. & G.H. MELCHIOR 1976. Ecological and genetic factors affecting exploitation and conservation of forests in Brazil and Venezuela. IN: *Tropical Trees. Variation, Breeding and Conservation*. Burley, J. & B.T. Stiles (Eds.). Academic Press, London. pp.203-215.
- BUCHMANN, S.L. 1983. Buzz pollination in angiosperms. IN: *Handbook of Experimental Pollination Biology*. Jones, C.E. & R.J. Little (Eds.). Von Nostrand Reinhold, New York. pp. 73-113.
- BULLOCK, S.H. 1982. Population structure and reproduction in the Neotropical dioicous tree *Compsonera sprucei*. *Oecologia* 55: 238-242.
- BULLOCK, S.H. 1985. Breeding systems in the flora of a tropical deciduous forest in México. *Biotropica* 17(4): 287-301.
- COGNIAUX, A. 1886-1888. Melastomataceae. Tribo VI. Miconieae. IN: *FLORA BRASILIENSIS*. Martius, C.F.P.; A.G. Eicher & I. Urban (Eds.). Monachii: Lipsiae. Vol. XIV(IV): 64-558.
- CRUDEN, R.W. 1977. Pollen-ovule ratios: a conservative indicative of breeding systems in flowering plants. *Evolution* 31(1): 32-46.
- DAVIS, G.L. 1966. *Systematic Embryology of the Angiosperms*. John Wiley & Sons, New York. pp. 172-173.
- DAVIS, P.H. & V.H. HEYWOOD, 1973. *Principles of Angiosperm Taxonomy*. Robert E. Krieger Publishing Company, New York. pp. 350-377.
- DULBERGER, R. 1981. The floral biology of *Cassia didymobotrya* and *C. auriculata* (Caesalpinaceae). *Amer. J. Bot.* 68: 1350-1360.
- ELLSTRAND, N.C. & M.L. ROOSE 1987. Patterns of genotypic diversity in clonal plant species. *Amer. J. Bot.* 74(1): 123-131.

- FAEGRI, K. & L. van der PIJL 1979. *The Principles of Pollination Ecology*. Pergamon Press, London. 291 p.
- FRANKEL, R. & E. GALUN 1977. *Pollination Mechanisms, Reproduction and Plant Breeding*. Springer-Verlag, Berlin. pp. 1-48.
- FRANKIE, G.W. 1978. Tropical forest phenology and pollinator plant coevolution. IN: *Coevolution of Animals and Plants*. Gilbert, L. E. & P.H. Raven (Eds.). University of Texas Press, Austin. pp. 192-211.
- GENTRY, A.H. & L.M. EMMONS 1987. Geographical variation in fertility, phenology, and composition of the understory of neotropical forests. *Biotropica* 19(3): 216-227.
- GOODLAND, R. & M.G. FERRI 1979. *Ecologia do Cerrado*. EDUSP/Ed. Itatiaia Ltda., Belo Horizonte. 193p.
- GRANT, V. 1958. The regulation of recombination in plants. *Cold. Spring. Harbor. Symp. Quant. Biol.*:337-365.
- GRANT, V. 1981. *Plant Speciation*. Columbia University Press, New York. 563 p.
- HA, C.O.; V.E. SANDS; E. SOEPADMO & K. JONG 1988. Reproductive patterns of selected understorey trees in the Malaysian rain forest: the apomitic species. *Bot. J. Linn. Soc.* 97: 317-331.
- HAUSER, E.J.P. & J.H. MORRISON 1964. The cytochemical reduction of nitro blue tetrazolium as an index of pollen viability. *Amer. J. Bot.* 51(7): 748-752.
- HAWKES, 1976. Introduction. IN: *Tropical Trees. Variation, Breeding and Conservation*. Burley, J. & B.T. Styles (Eds.). Academic Press, London.

- HEYWOOD, V.H. 1970. *Taxonomia Vegetal*. Estudos de Biologia. Vol. 5. Companhia Editora Nacional/EDUSP, São Paulo. 107p.
- HILTY, S.L. 1980. Flowering and fruiting periodicity in a premontane rain forest in Pacific Colombia. *Biotropica* 12(4): 292-306.
- JANZEN, D.H. 1980. *Ecologia Vegetal nos Trópicos*. Coleção Temas de Biologia. Vol. 7. EPU/EDUSP, São Paulo. 79p.
- JOHANSEN, D.A. 1940. *Plant Microtechnique*. Macgraw-Hill Book Company, New York. 1 ed.
- JOLY, A.B. 1975. *Introdução à Taxonomia Vegetal*. EDUSP, São Paulo. pp. 510-514.
- KAGEYAMA, P.Y. 1987. Conservação "in situ" de recursos genéticos de plantas. *IPEF, Piracicaba* 35: 7-37.
- KAUR, A.; C.O. HA; K. JONG; V.E. SANDS, H.T. CHAN; E. SOEPADMO & P.S. ASHTON 1978. Apomixis may be widespread among trees of the climax rain forest. *Nature* 271: 440-442.
- KHO, Y.O. & J. BAER 1968. Observing pollen tubes by means of fluorescence. *Euphytica* 17: 298-302.
- KRESS, W.J. 1983. Self-incompatibility in central american *Heliconia*. *Evolution* 37(4): 735-744.
- LAKSHAMAN, K.K. & K.B. AMBEGAOKAR 1984. Polyembryony. IN: *Embryology of Angiosperms*. Johri, B.M. (Ed.). Springer-Verlag, Berlin. pp. 445-473.
- LEVIN, D.A. 1972. Pollen exchange as a function of species proximity in *Phlox*. *Evolution* 26: 251-258.

- LEVIN, D.A. 1978. The origin of isolating mechanisms in flowering plants. *Evol. Biol.* 11: 185-289.
- LLOYD, D.G. 1972. Breeding systems in *Cotula* L. (Compositae, Anthemidae). *New Phytol.* 71:1181-1194.
- MAEDA, J.M. 1985. Manual para uso da câmara de Newbauer para contagem de pólen de espécies florestais. Departamento de Silvicultura. ESALQ/USP, Piracicaba. 5p.
- MARTIN, F.W. 1959. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain. Tech.* 34: 125-128.
- Mc DADE, L.A. 1985. Breeding systems of central american *Aphelandra* (Acanthaceae). *Amer. J. Bot.* 72(10): 1515-1521.
- MEDINA, D.M. & H.T.M. CONAGIN 1964. Técnica Citológica. Instituto Agronômico, Campinas, SP.
- NETTANCOURT, D. 1977. Incompatibility in Angiosperms. Monographs on Theoretical and Applied Genetics. 3. Frankel, R; G.A.E. Gall; M. Grossman & H.F. Linskens (Eds.). Springer-Verlag, Berlin. 230p.
- NYGREN, A. 1954. Apomixis in angiosperms. *Bot. Rev.* 20: 577- 649.
- NYGREN, A. 1967. Apomixis in angiosperms. IN: *Encyclopedia of Plant Physiology.* vol. 18. pp. 551- 596.
- OPLER, P.A.; G.W. FRANKIE & H.G. BAKER 1976. Rainfall as a factor in the release, timing and synchronization of anthesis by tropical trees and shrubs. *J. Biogeogr.* 3: 231-236.
- POMPÉIA, S.L.; D.Z.A. PRADELLA; S.E. MARTINS; R.C. DOS SANTOS & K.M. DINIZ 1989. A semente aérea na Serra do Mar em Cubatão. *Ambiente* 3: 13-19.

- PRESTON, R.E. 1986. Pollen-ovule ratios in the Cruciferae. *Amer. J. Bot.* 73(12): 1732-1740.
- RADFORD, A.E.; W.C. DICKISON; J.R. MASSEY & C.R. BELL 1974. *Vascular Plant Systematics*. Harper & Row Publishers, New York. p.211-236.
- RATHCKE, B. & P. LACEY 1985. Phenological patterns of terrestrial plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 16: 179-214.
- REINARTZ, J.A. & J.W. POPP 1987. Structure of clones of northern prickly ash (*Xanthoxylum americanum*). *Amer. J. Bot.* 74(3): 415-428.
- RENNER, S.S. 1984. Pollination and breeding systems in some central amazonian Melastomataceae. *Les Colloques de l'INRA* 21: 275-280.
- RENNER, S.S. 1989. A survey of reproductive biology in neotropical Melastomataceae and Memecylaceae. *Ann. Mo. Bot. Gard.* 76: 496-518.
- RENNER, S.S. 1990. Reproduction and evolution in some genera of neotropical Melastomataceae. *Mem. New York Bot. Gard.* 55: 143-152.
- RICHARDS, A.J. 1986. *Plant Breeding Systems*. George Allen & UN WIN, London. 480p.
- RUIZ, T.Z. & M.T.K. ARROYO 1978. Plant reproductive ecology of a neotropical deciduous tropical forest in Venezuela. *Biotropica* 10(3): 221-230.
- SANTOS, F.A.M. dos 1985. Aspectos da biologia da reprodução de *Leandra australis* Cogn. (Melastomataceae). Relatório da disciplina Taxonomia Experimental de Plantas (não publicado).
- SAVIDAN, Y.H. 1984. Evolução em gramíneas tropicais com especial referência à apomixia. IN: *I Colóquio sobre Citogenética e Evolução de Plantas. Tópicos de Citogenética e Evolução de Plantas*. Aguiar-

- Perecin, M.L.R.: P.S. Martins & C. Bandel (Eds.). *Rev. Bras. Genética*: 37-50.
- SEAVEY, S.R. & K.S. BAWA 1986. Late-acting self-incompatibility in angiosperms. *Bot. Rev.* 52(2): 195-219.
- SOBREVILLA, C. & M.T.K. ARROYO 1982. Breeding systems in a montane tropical cloud forest in Venezuela. *Pl. Syst. Evol.* 140(1): 19-37.
- STACE, C.A. 1980. *Plant Taxonomy and Biosystematic*. Edward Arnolds, London. pp. 135-157.
- STEBBINS, G.L. 1971. *Chromosomal Evolution in Higher Plants*. Edward Arnold Ltda., London. 216 p.
- STEIN, B.A. & H. TOBE 1989. Floral nectaries in Melastomataceae and their systematic and evolutionary implications. *Ann. Mo. Bot. Gard.* 76: 519-531.
- STEPHENSON, A.G. & R.I. BERTIN 1983. Male competition, female choice, and sexual selection in plants. IN: *Pollination Biology*. Real, L. (Ed.). Academic Press, Orlando. pp. 110-149.
- STILES, F.G. 1977. Coadapted competitors: the flowering seasons of hummingbird-pollinated plants in a tropical forest. *Science* 198: 1177-1178.
- TARODA, N. & P.E. GIBBS 1982. Floral biology and breeding system of *Sterculia chicha* (Sterculiaceae). *New Phytol.* 90: 735-743.
- TOBE, H. & P.H. RAVEN 1983. An embryological analysis of Myrtales: its definition and characteristics. *Ann. Mo. Bot. Gard.* 70: 71-94.
- TOBE, H. & P.H. RAVEN 1984. The number of cells in the pollen of Melastomataceae (Myrtales). *Bot. Mag., Tokyo* 97: 131-136.

- VOGEL, S. 1963. Ecophysiology of zoophylic pollination. IN: *Physiology Plant Ecology III*. Springer-Verlag, Berlin.
- WET, J.M.J. de & H.T. STALKER 1974. Gametophytic apomixis and evolution in plants. *Taxon* 23(5/6): 689-697.
- WURDACK, J.J. 1980. Melastomataceae. IN: *Flora do Equador*. 13. Harling, G. & B. Sparre (Eds.). Swedish Natural Science Research Council. Editorial Service, Estocolmo. pp. 3-4.
- ZEISLER, M. 1938. Über die Abgrenzung der eigentlichen Narbenfläche mit Hilfe von Reaktionen. *Beih. Bot. Zentralbl.* a, 58: 308-318.