

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
INSTITUTO DE BIOLOGIA



BIOLOGIA DA POLINIZAÇÃO E REPRODUÇÃO DE
Cambessedesia hilariana (Kunth.)DC. (*Melastomataceae*)

Carla Magioni Fracasso

Orientadora: Prof^a. Dr^a. Marlies Sazima

Este exemplar corresponde à redação final
da tese defendida pelo(a) candidato (a)
Carla Magioni Fracasso
e aprovada pela Comissão Julgadora.

Marlies Sazima

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biologia - UNICAMP para obtenção do título de
Mestre em Biologia Vegetal.

Campinas, 2003.

| | |
|----------------------------|---------------------------------------|
| UNIDADE | BC |
| Nº CHAMADA | UNICAMP |
| | F841B |
| V | EX |
| TOMBO BC/ | 53485 |
| PROC. | 124/03 |
| C <input type="checkbox"/> | D <input checked="" type="checkbox"/> |
| PREÇO | R\$ 11,00 |
| DATA | 30/11/03 |
| Nº CPD | |

CM00183383-7

biblid. 293992

**FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA - UNICAMP**

F841 **Fracasso, Carla Magioni**
Biologia da polinização e reprodução de *Cambessedesia hilariana*
(Kunth.)DC. (Melastomataceae)/ Carla Magioni Fracasso. --
Campinas, SP:[s.n.], 2003.

Orientadora: Marlies Sazima
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas.
Instituto de Biologia

1. Polinização. 2. Reprodução. 3. Melastomataceae. I. Sazima, Marlies.
II. Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

Campinas, 25 de fevereiro de 2003.

BANCA EXAMINADORA

Prof^a. Dr^a. Marlies Sazima

Marlies Sazima

Prof^a. Dr^a. Ângela Borges Martins

Ângela Borges Martins

Prof. Dr. Renato Goldenberg

Renato Goldenberg

Prof^a. Dr^a. Eliana Regina Forni-Martins

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL
SEÇÃO CIRCULANTE

2003

Aos meus pais que sempre apoiaram
incondicionalmente os meus devaneios.

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos os que participaram da elaboração deste trabalho desde o incentivo para que eu voltasse à Biologia até a confecção do trabalho final.

Agradeço especialmente à Prof^a. Dr^a. Marlies Sazima pela orientação, ensinamentos, carinho e paciência que teve comigo durante estes dois anos.

Aos professores que participaram da Pré-Banca e da Banca Examinadora Prof^a. Dr^a Ângela Borges Martins, Prof. Dr. Renato Goldenberg e Prof^a. Dr^a. Eliana Regina Forni-Martins.

Aos professores do Departamento de Botânica que sempre estiveram disponíveis para esclarecer dúvidas e ajudar no trabalho.

Aos professores do programa de pós-graduação Ângela Borges Martins, George J. Shepherd, Ivan Sazima, Peter Gibbs e Sandra Maria Carmello-Guerreiro pelos ensinamentos durante o curso.

Ao Instituto Astronômico e Geofísico da Universidade de São Paulo que me permitiu livre acesso à reserva do Observatório "Abrahão de Moraes" na cidade de Vinhedo, onde foi desenvolvido o projeto. Agradeço em especial ao Prof. Dr. Ramachrisna Teixeira pelo carinho e atenção com que me recebeu nas instalações do Observatório fornecendo apoio logístico ao trabalho de campo.

A todos os funcionários do Observatório IAG-USP que me receberam e estiveram à disposição para ajudar.

À Prof^a. Dr^a. Ângela Borges Martins pela identificação da espécie vegetal.

À Isabel Alves dos Santos pela identificação das abelhas.

À Rai do Laboratório de Abelhas da USP pelo carinho de sempre.

Ao Prof. Dr. Orivaldo Brunini, diretor do Centro de Ecofisiologia e Biofísica - Seção de Climatologia do Instituto Agronômico de Campinas, que prontamente forneceu os dados de temperatura e pluviosidade.

Aos colegas do Departamento pela amizade e discussões pertinentes: Andréa, Christiano, Emerson, Itayguara, Júlia, Leonardo, Mariana e Nelson.

À Iara Bressan que, além de ajudar com o trabalho técnico, sempre me recebeu com muito carinho.

Aos meus indescritíveis pais que, ao primeiro chamado, estiveram presentes para ajudar no que fosse necessário. À minha mãe que sempre me deu colo nas horas que eu mais precisei (...e nas que não precisei também...). Ao meu pai, especialmente, que colocou a mão na massa, me ajudando com questões práticas do trabalho! Obrigada pela companhia de muitos dias no campo tomando sol e chuva junto comigo.

À minha pequena Indra, que teve que agüentar muitas vezes o meu mau humor quando algo dava errado, e ainda assim sempre abria um sorriso para me alegrar. Obrigada por me ajudar com os saquinhos no campo!!

Ao meu querido Rogério pelo carinho, companheirismo, ajuda com o trabalho de campo, discussões sobre a Biologia e pelo belo desenho apresentado neste trabalho.

Agradeço ainda à CAPES e à FAEP/UNICAMP pelo apoio financeiro indispensável para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

| | |
|------------------------------------|------|
| RESUMO..... | viii |
| ABSTRACT..... | xi. |
| INTRODUÇÃO..... | 1.. |
| Família Melastomataceae | 4. |
| Gênero Cambessedesia..... | 6. |
| METODOLOGIA..... | 8.. |
| Área de estudo | 8. |
| Fenologia..... | 9.. |
| Morfologia e Biologia Floral | 12 |
| Sistema de Reprodução..... | 13 |
| Visitantes florais | 14 |
| RESULTADOS | 16 |
| Características da espécie..... | 16 |
| Fenologia..... | 18 |
| Morfologia e Biologia Floral | 22 |
| Sistema de Reprodução..... | 28 |
| Visitantes florais | 32 |
| DISCUSSÃO | 45 |
| Fenologia..... | 45 |
| Morfologia e Biologia Floral | 46 |
| Sistema de Reprodução..... | 50 |
| Visitantes florais | 56 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS | 63 |

Resumo

A reprodução sexuada, mediada por um agente polinizador, é um dos mecanismos pelos quais as plantas aumentam a variabilidade genética de seus descendentes. A maioria das Angiospermas tem flores hermafroditas, o que, ao mesmo tempo que otimiza a transferência e a retirada de pólen numa única visita, aumenta as chances de auto-polinização. Certas características morfológicas, como a hercogamia, e sistemas de reconhecimento e rejeição do pólen endógeno são características das plantas, que, aliadas ao comportamento de forrageio dos polinizadores, atuam como meios para diminuir as taxas de endogamia. A fenologia reprodutiva, a biologia da polinização e da reprodução de *Cambessedesia hilariana* (Melastomataceae) foram estudados em uma população ocorrente em afloramento rochoso de mata semidecídua pertencente ao IAG-USP no município de Vinhedo/SP, entre janeiro de 2001 e novembro de 2002. O período de florescimento de *C. hilariana* se estende de agosto a início de junho, tendo seu pico entre os meses de outubro e novembro. As flores encontram-se receptivas e com pólen viável durante todo o período de antese (ca. 60 horas). Cruzamentos controlados realizados em flores ensacadas na pré-antese sugerem: (i) ausência de agamospermia (n=60) e auto-polinização espontânea (n=30); (ii) baixas taxas de frutificação (12,5%) decorrentes de auto-polinizações manuais (n=350); (iii) altas taxas de frutificação (74%) decorrentes de polinizações cruzadas (n=200), bem como em condições naturais

(n=60). Estes dados indicam a grande importância e eficiência dos polinizadores, visto que a formação de frutos é notavelmente maior em polinizações cruzadas. Em pistilos fixados em FAA, 84 horas após os tratamentos manuais, os tubos polínicos atingem e penetram a micrópila dos óvulos tanto nas polinizações cruzadas quanto nas auto-polinizações. Entretanto, nas auto-polinizações os frutos são abortados em diferentes estágios do seu desenvolvimento. Pode-se sugerir que estes abortos estejam envolvidos com mecanismos pós-zigóticos, como depressão endogâmica ou auto-incompatibilidade. A polinização é realizada por abelhas que vibram, sendo as mais frequentes *Centris* sp. (50,65%), *Xylocopa* sp. (18,49%), *Centris* cf. *nitens* (12,26%), *Bombus morio* (10,91%) e *Euglossa cordata* (3,67%). Com o objetivo de reconhecer qual a contribuição de cada espécie de polinizador na formação de sementes, algumas flores receberam número controlado de visitas, sendo que a porcentagem de sementes formadas em uma e duas visitas foi, respectivamente: *Centris* sp.: 20,34% / 28,35%; *Xylocopa* sp.: 65,42% / 72,87%; *Centris* cf. *nitens*: 48,04% / 75,55%; *Bombus morio*: 39,78% / 58,20%; *Euglossa cordata*: 22,85% / 45,12%. A frequência dos visitantes variou ao longo do período de floração. Houve, também, variação nas frequências de visitas ao longo do dia, sendo que algumas espécies estavam mais ativas nos horários mais amenos e outras nos horários mais quentes do dia. As abelhas raramente visitam a mesma flor mais de uma vez e a formação de sementes varia entre 20% e 78%. A espécie mais frequente, *Centris* sp., pouco contribui na formação de sementes, pois seu comportamento de forrageio

favorece geitonogamia. A contribuição das demais abelhas, em especial *Centris* cf. *nitens* e *Euglossa cordata*, é consideravelmente maior após duas visitas. O polinizador mais freqüente (*Centris* sp.) é o que menos contribui para a formação de sementes, mas ainda assim, em apenas uma visita, carrega pólen suficiente para a formação de sementes em número suficiente para que o fruto seja mantido. Portanto, a contribuição de cada espécie de abelha no sucesso reprodutivo das plantas deve ser avaliada pela quantidade de sementes viáveis formadas e não apenas pela porcentagem de frutos desenvolvidos.

Abstract

The sexual reproduction mediated by a pollinator agent is one of the mechanisms by which the plants increase the genetic variability of its offspring. The majority of the Angiosperms has hermaphroditic flowers what, at the same time, optimises the transference and the withdrawal of pollen in an unique visit and increases the possibilities of self-pollination. Certain morphological characters, as hercogamy, and the recognition and rejection systems of the endogenous pollen are characteristics of the plants that, allied to the foraging behaviour of the pollinators, act as means to diminish the inbreeding taxes. The reproductive phenology, the pollination biology and the reproduction biology of *Cambessedesia hilariana* (Melastomataceae) have been studied in a population occurring in a rocky outcrop of a semideciduous forest pertaining to the IAG-USP in Vinhedo/SP, between January 2001 and November 2002. The *Cambessedesia hilariana* flowering period extends from August to the beginning of June, with a peak between October and November. The flowers are receptive and all with viable pollen during the anthesis period (ca. 60 hours). Controlled crossings in bagged flowers in the pre-anthesis suggest: (i) absence of apomixis (n=60) and spontaneous self-pollination (n=30); (ii) low taxes of fruit-set (12,5%) due to handmade self-pollination (n=350); (iii) high taxes of fruit-set (74%) due to cross-pollination (n=200), as well as in natural conditions (n=60). These data indicate the great importance and efficiency of the pollinators, since the formation of fruits is significantly higher in cross-pollinations. In pistils settled in FAA, 84 hours after manual

treatments, the pollen tubes reach and penetrate the micropyl of the ovules in cross pollinations as well as in self pollinations. However, in self pollinations the fruits are aborted in different development stages. It can be suggested that these abortions are involved with pos-zygotic mechanisms, as inbreeding depression or self-incompatibility. The pollination is carried out by buzzing bees, being the most frequent, *Centris* sp. (50,65%), *Xylocopa* sp. (18,49%), *Centris* cf. *nitens* (12,26%), *Bombus morio* (10,91%) and *Euglossa cordata* (3,66%). Aiming to recognize the contribution of each pollinator species in seed formation, some flowers received a controlled number of visits, being the percentage of seeds formed in one and two visits, respectively: *Centris* sp.: 20,34%/28,35%; *Xylocopa* sp.: 65,42%/72,87%; *Centris* cf. *nitens*: 48,04%/75,55%; *Bombus morio*: 39,78%/58,20%; *Euglossa cordata*: 22,85%/45,12%. The frequency of visitors varied during the flowering period. There was also a variation in the frequencies of visits during the day, noting that some species were active during low temperature periods and others during the hottest period of the day. The bees rarely visit the same flower more than once and the formation of seeds varies between 20% and 78%. The most frequent bee species, *Centris* sp., little contributes in the formation of seeds as its foraging behaviour favours geitonogamy. The contribution of the other bees, specially *Centris* cf. *nitens* and *Euglossa cordata*, is significantly higher after two visits. The most frequent pollinator (*Centris* sp.) is the one that less contributes in the formation of seeds, but in only one visit carries enough pollen to the formation of seeds and in enough quantity to maintain the fruit. The contribution of each bee species in the plants reproductive

success must be evaluated by the number of viable seeds and not only by the percentage of fruits developed.

Introdução

A biologia da polinização refere-se ao estudo dos fatores envolvidos no processo de reprodução de plantas desde a antese floral até a formação de frutos e sementes (Faegri & van der Pijl 1979).

Diversas características das plantas podem ser destacadas por terem papel fundamental na atração de seus visitantes. O período de floração de uma espécie pode frequentemente representar uma adaptação a períodos coincidentes com os de seus visitantes específicos (Faegri & van der Pijl 1979). Em adição, a cor e a forma das flores parecem contribuir como sinais para os visitantes sobre o tipo de recurso que está presente em determinada espécie, oferecendo-lhe assim a possibilidade de incluí-la ou não em sua rota de forrageio (Waser & Price 1983).

Os visitantes florais podem se alimentar ou coletar substâncias efetivando a transferência de pólen ou não. Se realizarem efetivamente a polinização são considerados polinizadores. A polinização efetiva depende, entre outros fatores, da adequação do formato do corpo ou determinados órgãos do visitante à morfologia floral, de como ele aborda a flor e de seu comportamento durante a visita (Proctor & Yeo 1972).

A maioria das Angiospermas apresenta flores hermafroditas (Seavey & Bawa 1986), o que otimiza as visitas dos animais, mas, ao mesmo tempo, aumenta as chances de auto-polinização. Autogamia ou geitonogamia, ainda que vantajosas sob determinadas

condições — por exemplo, para a manutenção de características maternas necessárias para sobrevivência dos descendentes em um nicho particular (Richards 1997) —, têm conseqüências na qualidade dos descendentes. Nas flores hermafroditas, algumas características, como dicogamia e hercogamia, são interpretadas em parte como adaptações para reduzir auto-polinizações. Sistemas genéticos também atuam no esforço para diminuir o nível de endogamia, como a auto-incompatibilidade resultante da impossibilidade de grãos de pólen aderirem ou germinarem no estigma, ou da impossibilidade do tubo polínico germinar ou penetrar no estilete (Richards 1997), sendo este um dos meios pelos quais as taxas de reprodução cruzada são otimizadas, aumentando conseqüentemente a variabilidade genética. Diversos fatores estão envolvidos nos sistemas de auto-incompatibilidade, como o número de *loci*, o número de alelos em cada *locus*, dominâncias e sistemas de *linkage* (Richards 1997). O reconhecimento e a rejeição do próprio pólen podem ainda variar de acordo com a idade do estigma e do pólen ou por condições ambientais (Stephenson & Bertin 1983). Um número crescente de estudos a respeito dos sistemas de auto-incompatibilidade tem demonstrado sua atuação após a entrada do tubo polínico no ovário e até mesmo após sua penetração no óvulo, fato que parece estar restrito às floras tropicais ou subtropicais (Seavey e Bawa 1986).

Os mecanismos de auto-incompatibilidade de ação tardia podem ocorrer antes da fertilização com o bloqueio do crescimento dos tubos polínicos em diversas etapas: no momento em que alcançam o ovário, o óvulo ou o nucelo (Richards 1997). Os mecanismos de ação tardia podem ocorrer ainda após a fertilização, causando o abortamento de óvulos

imediatamente após a fertilização, ou como consequência da degeneração do endosperma ou falência do embrião (Richards 1997). Outras consequências do sistema de auto-incompatibilidade de ação tardia são a abscisão da flor, mesmo com embrião e endosperma se desenvolvendo aparentemente normais, e o abortamento do fruto devido ao desenvolvimento de poucos óvulos fertilizados com pólen estrangeiro (Bertin 1982).

Freqüentemente em uma população verificam-se entre os indivíduos diferentes graduações no sistema de auto-incompatibilidade. A auto-incompatibilidade, que consequentemente diminui o número de auto-fertilizações, segundo Bertin (1982), pode ser provavelmente um fator regulador da qualidade dos descendentes. Olmstead (1989) ainda ressalta que o nível de endogamia em uma população é muito mais provável ser controlado pelos efeitos do tamanho da população do que se a espécie tem um sistema de reprodução auto-compatível ou auto-incompatível.

O aborto de sementes pode também estar relacionado com a posição do óvulo no ovário (Casper & Wiens 1981) ou ainda com o genótipo do zigoto. Seavey e Bawa (1986) enfatizam a necessidade de se distinguir entre sistema de auto-incompatibilidade de ação tardia pós-fertilização e abortamento ovular resultante de depressão endogâmica em embriões auto-fertilizados, decorrente da homozigose de genes deletérios ou letais.

Família Melastomataceae

Esta é uma das maiores famílias de Angiospermas do mundo, com cerca de 166 gêneros e 4 500 espécies (Renner 1993). Muitos gêneros apresentam todas as suas espécies reunidas em regiões restritas, manifestando a família uma tendência em apresentar espécies e gêneros endêmicos. A família Melastomataceae apresenta representantes de variadas formas de vida: árvores, ervas, lianas e epífitas (Renner 1989). A maioria das melastomatáceas apresenta anteras com deiscência poricida, embora algumas espécies apresentem anteras que se abrem em fendas longitudinais (Renner 1989).

As anteras com deiscência poricida geralmente exigem mecanismos especiais para a retirada de seu pólen pelos visitantes. As abelhas aptas a realizar essa tarefa possuem a capacidade de vibrar seus músculos relacionados ao vôo fazendo com que este movimento seja transferido às anteras, que expulsam o pólen seco e pulverulento em forma de nuvem, aderindo ao corpo da abelha (Buchmann & Hurley 1978). De acordo com determinado comportamento do visitante, o pólen pode ou não ser transferido ao estigma para que ocorra a polinização (Buchmann & Hurley 1978). Embora a maior parte das espécies que possuem anteras com deiscência poricida necessitem do mecanismo de polinização descrito, algumas espécies possuem poros grandes, dos quais o pólen é facilmente retirado com o deslocamento da abelha sobre a flor (Buchmann 1983) ou até mesmo com a pressão exercida por gotas de água da chuva (Renner 1989, Gross 1993).

Este mecanismo de polinização é chamado "*buzz pollination*" ou polinização por vibração, pois é emitido um ruído audível produzido pela abelha durante esse comportamento de retirada de pólen. A maioria das espécies com anteras poricidas não possui néctar, e portanto é visitada preferencialmente por fêmeas coletoras de pólen (Buchmann 1983).

Entretanto, cerca de 70-80 espécies dessa família produzem néctar, sendo um recurso presente e disponível para os polinizadores (Renner 1993). Nestas espécies, geralmente pendentes, as anteras apresentam poros grandes e anteras rígidas, especialmente na base. A pressão exercida pela cabeça de abelha, bico de um pássaro ou patas de roedores ao tomarem o néctar, faz com que o pólen seja expulso sobre o visitante (Renner 1989). A maioria das espécies nectaríferas parece ser ornitófila, entretanto, existem casos relatados de espécies polinizadas por morcegos e ratos (Renner 1989).

O sistema reprodutivo tem sido estudado em cerca de 128 espécies da família (Renner 1989, Gross 1993, Melo & Machado 1996, Guimarães & Ranga 1997, Melo & Machado 1998, Goldenberg & Varassin 2001), sendo encontradas espécies auto-compatíveis, auto-incompatíveis em variados graus e a apomixia, bastante evidente neste grupo, encontrada especialmente na tribo *Miconieae* (Goldenberg & Shepherd 1998, Goldenberg & Varassin 2001).

Gênero *Cambessedesia*

Cambessedesia hilariana (Kunth.) DC., objeto do presente estudo, é representante da seção *Cambessedesia*, tribo *Microlicieae* (Renner 1993), família *Melastomataceae*. Entretanto, análises filogenéticas realizadas por Almeda & Martins (2001), indicam que alguns gêneros freqüentemente inclusos em *Microlicieae*, entre eles *Cambessedesia*, poderão ser designados a outras tribos.

Cambessedesia apresenta distribuição geográfica restrita ao Brasil, praticamente confinada entre 10° e 25° de latitude sul e 40° e 55° de longitude oeste. Suas espécies ocorrem no norte do Paraná, São Paulo, Minas Gerais, Goiás, leste do Mato Grosso, Bahia, sul do Piauí e Pernambuco (Martins 1984).

Segundo Martins (1984), espécies de *Cambessedesia* habitam preferencialmente os campos rupestres que se localizam principalmente nas montanhas de Minas Gerais, Goiás e Bahia, porém alguns táxons podem ocorrer em campos cerrados baixos e secos, em Minas Gerais, São Paulo e Paraná.

Martins (1984) ainda descreve que "a distribuição das espécies rupestres coincide em grande parte com a localização dos terrenos de embasamento cristalino do escudo brasileiro, constituídos por rochas arqueozóicas e proterozóicas: os maciços cristalinos da região sudeste, principalmente o Planalto Cristalino Atlântico e o Planalto Sul de Minas."

Das 21 espécies do gênero, *Cambessedesia hilariana* (Kunth.) DC. é a que apresenta distribuição mais ampla, coincidindo os limites de sua distribuição com os do gênero e

outras 18 espécies são endêmicas em determinados locais da Serra do Espinhaço, Chapada Diamantina e Chapada dos Veadeiros (Martins 1984).

Neste estudo serão apresentadas a fenologia de floração e frutificação, bem como a biologia da polinização e da reprodução de uma população de *Cambessedesia hilariana* no Estado de São Paulo.

METODOLOGIA

Área de estudo

O presente estudo, desenvolvido entre janeiro de 2001 e novembro de 2002, foi realizado na reserva do Observatório "Abrahão de Moraes" do Instituto Astronômico e Geofísico da Universidade de São Paulo, localizada no município de Vinhedo/SP. Esta área localiza-se no Planalto Cristalino Atlântico, constituída por pequenos maciços com altitudes entre 700 e 1275 metros, onde aparecem variados tipos de rochas, freqüentemente quartzíticas.

A região onde se localiza o Observatório apresentava originalmente cobertura vegetal constituída principalmente de mata mesófila semidecídua e áreas de transição com outras formações vegetais de características distintas (M. Penteado, com. pess.). Atualmente esta vegetação está muito reduzida e fragmentada, sendo a mata do Observatório um dos poucos remanescentes florestais ainda preservados na região. Apesar de bastante alterada por queimadas ocasionais e retirada de árvores emergentes, a mata constitui um remanescente florestal significativo e atua como refúgio vital para animais silvestres da região (M. Penteado, com. pess.). O aspecto geral desse remanescente de mata é de uma cobertura vegetal com árvores emergentes de 15 a 20 metros e com considerável quantidade de epífitas nas áreas mais úmidas.

A população estudada de *Cambessedesia hilariana*, composta por 23 indivíduos, encontra-se em um dos afloramentos rochosos da área de estudo, situada às coordenadas 23° 00' 07.2" S e 46° 57' 57.8" W e a 880 m de altitude. Trata-se de um afloramento granítico parcialmente coberto por solo raso composto por matéria orgânica. A vegetação rupícola apresenta eventualmente uma fisionomia característica de cerrado. Dentre as espécies típicas de cerrado e campos rupestres, encontram-se representantes de famílias como: Amaryllidaceae, Apocynaceae, Bignoniaceae, Bromeliaceae, Convolvulaceae, Dioscoriaceae, Gesneriaceae, Lythraceae, Malpighiaceae, Proteaceae, Verbenaceae, entre outras. Exemplar da população foi coletado, identificado e depositado no Herbário da Universidade Estadual de Campinas (UEC), coleta nº 1001 de Fracasso, C.M.

Fenologia

Registros sobre a fenologia de floração e frutificação para a população foram feitos mensalmente, entre os meses de agosto de 2001 e julho de 2002. Foram estimados os números de botões, flores abertas, flores senescentes e frutos de 18 indivíduos da seguinte forma: (i) contou-se o número de ramificações que emergiam do solo; (ii) destas, escolheu-se uma ao acaso e contou-se o número de ramificações que surgiam secundariamente; (iii) destas ramificações secundárias, o mesmo procedimento foi adotado, escolhendo-se uma ao acaso e contando-se o número de ramificações terciárias; (iv) a partir

da terceira ramificação, todos os botões, flores, flores senescentes e frutos foram contados. Para esta contagem foram considerados os botões desenvolvidos, as flores abertas no dia, ou seja, as que não apresentavam marcas de visitas, flores senescentes sem pétalas e frutos maduros antes da deiscência. O número obtido foi então multiplicado pelo número de ramificações terciárias, secundárias e primárias, e estimado o valor total de botões, flores, flores senescentes e frutos para cada indivíduo. Em cada fenofase foram somados os valores de todos os 18 indivíduos e estimados os valores para a população.

Os resultados obtidos sobre a fenologia reprodutiva foram relacionados aos dados climatológicos de temperatura e pluviosidade fornecidos pelo Instituto Agrônomo de Campinas (IAC) - Seção de Climatologia (fig 1).

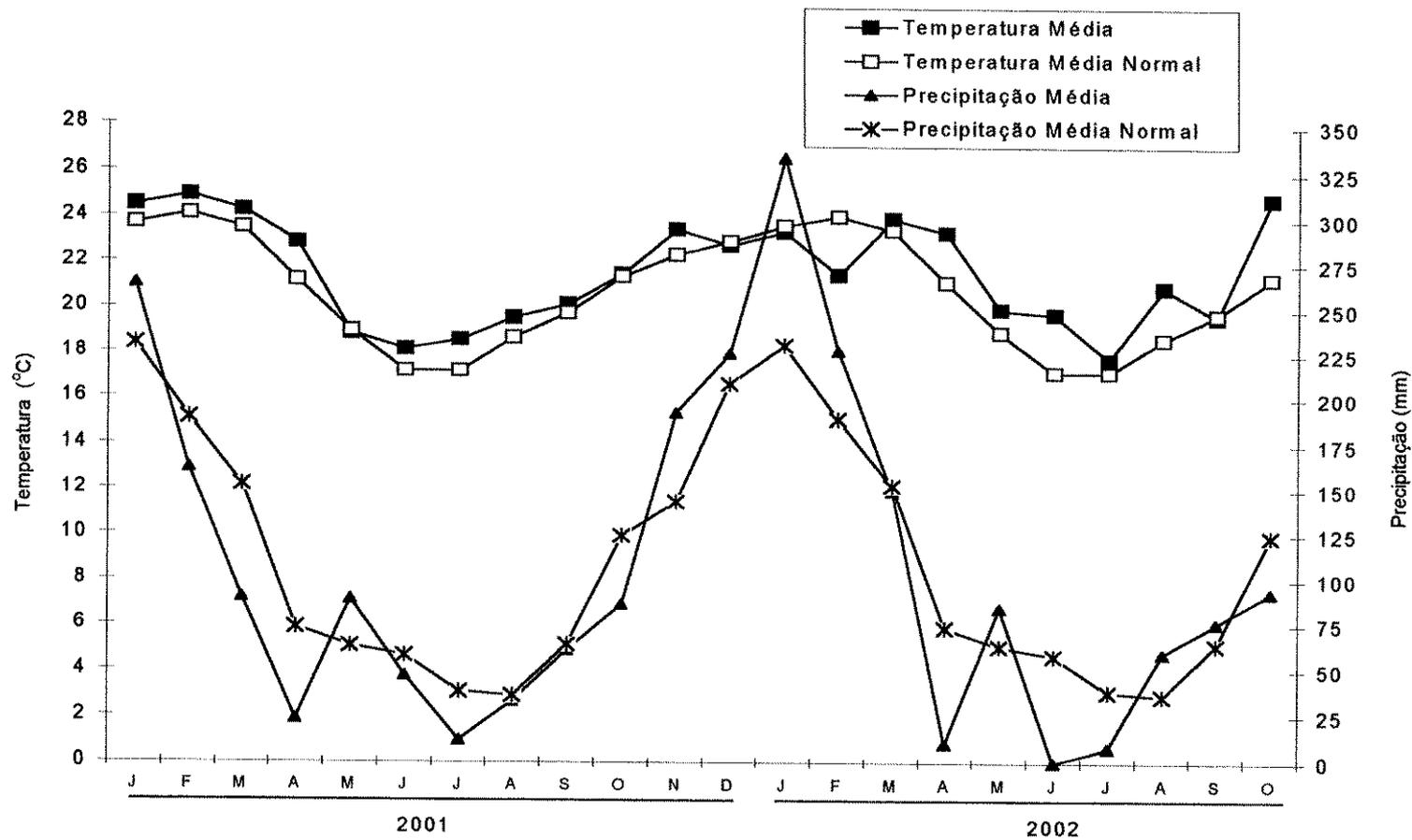


Figura 1. Temperatura e precipitação médias mensais no período compreendido entre janeiro de 2001 e outubro de 2002 para a região de Jundiaí/SP. Temperatura e precipitação médias mensais normais relativas às médias mensais históricas dos últimos 30 anos.

Morfologia e biologia floral

As flores foram observadas quanto a sua posição na planta, tamanho relativo e coloração desde sua abertura até a murcha, além do horário de antese e duração da flor receptiva e doadora de pólen viável. A viabilidade polínica foi estimada em quatro fases da antese (pré-antese, flores abertas há 24, 48 e 60 horas) utilizando-se quatro flores em cada fase, coletadas duas a duas de 8 indivíduos selecionados. Para cada fase da antese, foram coletadas duas anteras de cada flor (uma grande e uma pequena). Foi amostrado o número de grãos viáveis para as anteras grandes separadamente das pequenas, utilizando-se carmin acético e corante de Alexander (Alexander 1980).

Foram ainda examinadas características do gineceu, como número de óvulos, contados em 46 ovários, além do período receptivo da superfície estigmática tendo sido submetidos à reação à esterase (Dafni 1992) quatro estigmas para cada estágio da antese: pré-antese, flores recém abertas e após 24, 48 e 60 horas do início da antese). A presença de osmóforos foi verificada por meio do teste com vermelho neutro (Dafni 1992).

Sistema de Reprodução

Para os testes de determinação do sistema reprodutivo, foram ensacados botões na pré-antese de 14 indivíduos e realizados os seguintes tratamentos controlados, onde n é o número de flores manipuladas:

auto-polinização manual (autogamia e geitonogamia), $n=350$;

polinização cruzada manual recíproca (xenogamia), $n=200$;

auto-polinização espontânea (autogamia), $n=30$;

emasculação (testes para apomixia), $n=60$ e

condições naturais (controle), $n=60$.

O pólen foi retirado das anteras com auxílio de uma pinça, realizando-se movimentos de "ordenha" das anteras contra uma lâmina histológica. A seguir, a lâmina com pólen foi colocada em contato com o estigma.

Os cruzamentos foram realizados entre setembro e dezembro de 2001 e em outubro de 2002 no período da manhã, e as flores re-ensacadas por mais seis dias para evitar visitas. Os tratamentos foram marcados com etiquetas de acetato, numeradas e mantidas no campo até a frutificação, sendo observados e anotados o tempo de desenvolvimento do fruto e eventuais abscisões. A partir do número de frutos que se desenvolveram até a deiscência foi calculada a proporção fruto/flor, sendo estabelecidas as taxas de frutificação em cada tratamento. Para verificar o crescimento dos tubos polínicos, outros 210 pistilos foram polinizados manualmente (sendo 70 polinizados com pólen da

mesma flor, 70 com pólen de flores do mesmo indivíduo e 70 com pólen de outro indivíduo) e fixados em FAA a intervalos de 4, 8, 12, 24, 48, 72, 82 e 96 horas e utilizada a técnica de fluorescência segundo Martin (1959). Foram ainda comparados os tempos de germinação dos grãos de pólen e as velocidades de crescimento dos tubos nos três tratamentos.

Para a análise da viabilidade das sementes, 40 frutos, dentre os mantidos no campo provenientes de cada tratamento, foram coletados no início da deiscência e as sementes desenvolvidas foram avaliadas e contadas. Os óvulos que não se desenvolveram em sementes apresentaram-se atrofiados e também foram contados para que fosse, então, estabelecida a porcentagem de sementes bem formadas nas flores tratadas e comparada à das flores mantidas em condições naturais. As sementes desenvolvidas, dentre os 40 frutos de cada tratamento, bem como as atrofiadas, foram colocadas para germinar sobre papel filtro em placas de Petri e mantidas em germinador a luz e temperatura (28°C) constantes. Da proporção de sementes formadas/óvulos e da germinação/não germinação de sementes foram calculadas as medianas com máximos e mínimos, a fim de se analisar a variação encontrada nos frutos analisados.

Visitantes florais

As atividades dos visitantes florais foram observadas durante os meses de setembro de 2001 a maio de 2002 nos períodos: 07:00h às 11:00h (total 16 dias), 11:01h às

14:00h (total 12 dias), 14:01h às 16:00h (total 18 dias) e 16:01h às 18:00h (total 9 dias) perfazendo um total de 154 horas distribuídas em 55 dias, abrangendo todos os indivíduos da população.

O comportamento dos visitantes foi registrado por meio de observações visuais e de fotografias. Foram anotados o modo de abordagem à flor, o comportamento de forrageio, comportamento ao abandonar a flor, a seqüência de flores forrageadas e a freqüência de visitas de cada espécie de abelha. Alguns visitantes foram coletados, mantidos em câmara fria para que ficassem dormentes e, então, marcados com tinta guache no tórax para seu monitoramento durante um período de observação. Exemplos dos visitantes foram coletados para a análise do local de deposição do pólen em seu corpo, tomadas medidas como o comprimento do corpo e a largura do tórax e identificados.

Para testar a contribuição de cada polinizador na frutificação e formação de sementes, as flores previamente ensacadas foram expostas a cada espécie de abelha individualmente e a determinado número de visitas. Assim, foram formados frutos a partir de uma e duas visitas de cada espécie de abelha polinizadora. As sementes formadas foram mensuradas e estabelecida a proporção sementes/óvulos.

RESULTADOS

Características da espécie

A população estudada de *Cambessedesia hilariana* constitui-se de 23 indivíduos, sendo que nove estão localizados muito próximos entre si, formando uma grande touceira. Os demais indivíduos apresentam distribuição esparsa.

Esta espécie é um subarbusto com cerca de 10 a 100 cm de altura. As inflorescências são dicásios terminais ou axilares. O hipanto é esverdeado e as lacínias persistem no fruto. As flores são pentâmeras, diplostêmones e medem cerca de 15-17mm de diâmetro e suas pétalas são de formato oval, amarelas no terço basal e vermelhas no restante (Fig. 2). Os estames são dimorfos, delicados e com coloração amarela: os antessépalos medem, aproximadamente, 10,2 mm e possuem anteras encurvadas em cuja base as tecas se separam num pequeno prolongamento; os antepétalos medem 6,5 mm de comprimento e as anteras são quase retas (Figs. 2,3). As anteras são ditecas e confluem em um poro apical. O filete dos estames grandes é ligeiramente mais espesso na base. O pólen é seco e de coloração amarelada. O estilete, também com coloração amarelada, é encurvado e o estigma, punctiforme, localiza-se distante dos poros das anteras (Figs. 2,3). O ovário é trilobular com aproximadamente $170,28 \pm 17,84$ óvulos anátropos (n=46). Tricomas glandulares estão presentes nos ramos, recobrando o hipanto, na base dos filetes e na porção superior do ovário.



Figura 2. Flor de *Cambessedesia hilariana*. Note a coloração vistosa e a disposição em conjunto dos elementos reprodutivos, sendo que o estilete e o estigma (seta) localizam-se abaixo das anteras.

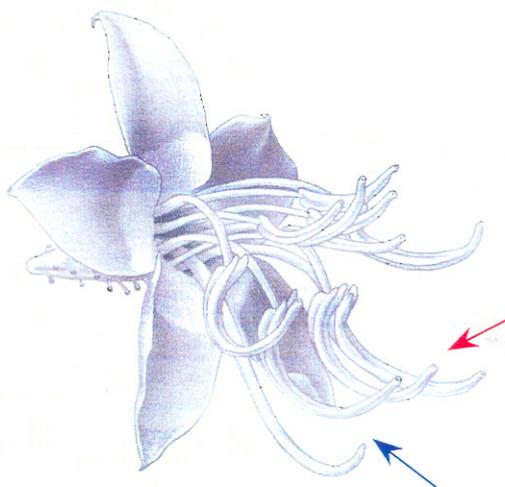


Figura 3. Flor de *Cambessedesia hilariana*. As anteras pequenas são quase retas enquanto as grandes se apresentam encurvadas e com um prolongamento na base. Note que o estigma (seta-azul) encontra-se distante dos poros (seta-vermelha) das anteras. (Ilustração de Rogério Lupo).

Fenologia

Em *Cambessedesia hilariana* a produção de botões iniciou-se em meados de agosto e foi contínua até início de julho (Figs. 4,5). No final de agosto abriram-se as primeiras flores, coincidindo com o início das chuvas. O período de floração se estendeu até início de julho, ocorrendo o pico em outubro e novembro (Figs. 5) com, aproximadamente, 30.000 flores por dia nos indivíduos mais robustos. Os indivíduos da população estudada apresentam-se agregados e bastante ramificados (Tabela 1). Ao longo do período, após o pico da produção de botões, o número absoluto de botões decresce e a maioria das flores forma frutos (Fig. 5). Em meados de julho, quase todos os frutos amadureceram e liberaram as sementes, restando apenas os ramos sem folhas e as cápsulas secas dos frutos (Fig 8b).

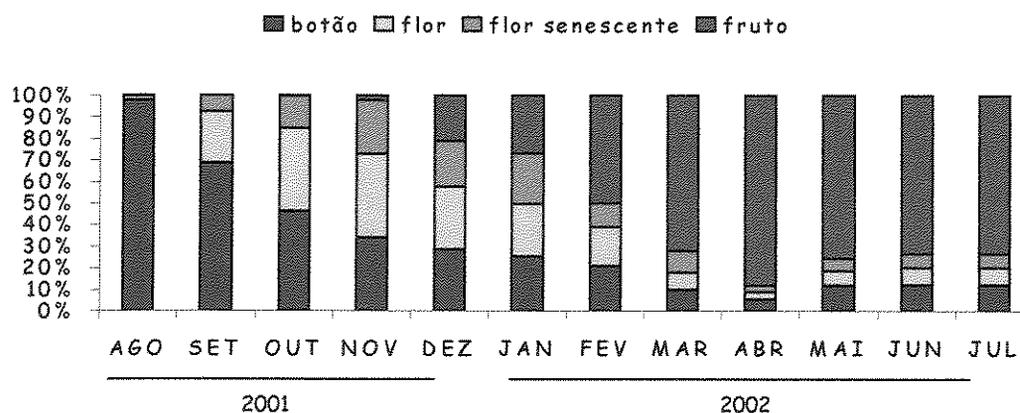


Figura 4. Fenologia reprodutiva de *Cambessedesia hilariana*. Proporções estimadas de botões, flores, flores senescentes e frutos entre os meses de agosto de 2001 e julho de 2002.

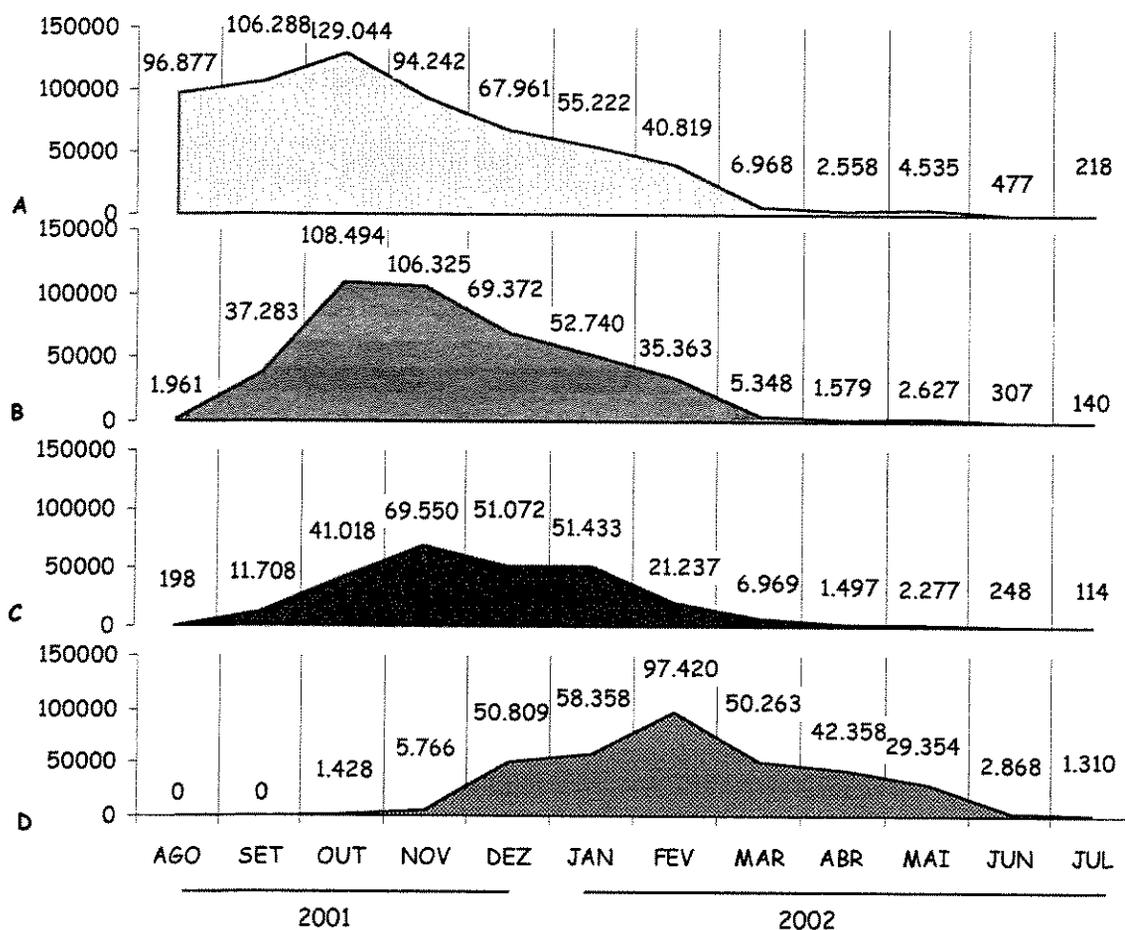


Figura 5. Fenologia reprodutiva de *Cambessedesia hilariana* nas seguintes fenofases: (A) botão, (B) flor, (C) flor senescente e (D) fruto.

Dos 23 indivíduos da população, quatro não apresentaram sincronismo de floração, atrasando o início da produção de botões de um a dois meses. No ano seguinte, a produção de botões e a floração iniciou com atraso de 30 dias. Em meados de outubro as plantas estavam com suas folhas, botões e flores murchos devido à longa estiagem. Logo após, um incêndio destruiu parte da reserva, atingindo também a população estudada.

Durante o período de florescimento as folhas persistem, iniciando sua queda em abril e terminando no início de junho, ocasião em que as plantas estão desprovidas de folhas.

O rebrotamento ocorre na estação seca (de junho a agosto) havendo considerável crescimento vegetativo.

Tabela 1. Número de ramificações utilizadas para a estimativa de botões, flores, flores senescentes e frutos por indivíduo amostrado.

| Indivíduo | Nº ramificações | | | Nº total ramificações |
|-----------|-----------------|-------------|------------|-----------------------|
| | Primárias | Secundárias | Terciárias | |
| A | 5 | 9 | 13 | 585 |
| B | 3 | 7 | 12 | 252 |
| C | 12 | 8 | 14 | 1344 |
| D | 5 | 10 | 12 | 600 |
| E | 8 | 8 | 14 | 896 |
| F | 3 | 5 | 14 | 210 |
| G | 4 | 4 | 11 | 176 |
| H | 6 | 11 | 11 | 726 |
| I | 5 | 14 | 4 | 280 |
| J | 7 | 2 | 18 | 252 |
| K | 4 | 7 | 9 | 252 |
| L | 11 | 15 | 10 | 1650 |
| M | 8 | 7 | 4 | 224 |
| N | 5 | 13 | 11 | 715 |
| O | 12 | 11 | 13 | 1716 |
| P | 2 | 15 | 11 | 330 |
| Q | 8 | 7 | 11 | 616 |
| R | 3 | 15 | 10 | 450 |

Os indivíduos "C", "L" e "O" são, no campo, nitidamente mais robustos quando comparados aos demais. Uma análise mais detalhada revela que a porção aérea da planta é sustentada por vários ramos (acima de 10) cujo calibre atinge cerca de 10 a 25mm. Este caráter é corroborado pelas estimativas do total de ramificações destes indivíduos (Tabela 1) que mostram os maiores valores. Além disso, toda essa robustez se reflete no tamanho das folhas e flores, maiores que as dos outros indivíduos. Nem os menores indivíduos

observados nesta população deixam de ser extremamente vigorosos quando defrontados aos de populações de outras localidades (obs. pess.). Esse vigor, aliado ao fato dos indivíduos encontrarem-se agregados e perderem as folhas durante a estação seca, são características raramente observadas para outras populações de *Cambessedesia hilariana* (A.B. Martins, com. pess.).

Morfologia e Biologia Floral

No período pré-antese ocorre alongamento do estilete, de modo que o estigma e cerca de $\frac{1}{5}$ do estilete são expostos na fase de botão (Fig. 6a). Aproximadamente 24 horas após a exposição do estigma, o estilete se alongou ainda mais e, nesta fase, as pétalas se afastam e os estames, cujas pontas das anteras estão posicionadas entre o ovário e o hipanto (Fig. 6b), começam a se distender, ocupando posição central na flor em torno do gineceu. A seguir, os estames e o estilete sofrem lentamente uma torção (Fig. 6c), de maneira que são agrupados no lado inferior da flor, conferindo-lhe simetria zigomorfa. (Fig. 2). O processo de antese é contínuo, iniciando por volta das 07:00h, sendo que por volta das 10:00h a flor encontra-se aberta. Em dias chuvosos e nublados este processo ocorre de maneira mais lenta, sendo atrasado em até quatro horas, ou seja, as flores estão abertas nas primeiras horas da tarde. Durante todo o período em que a flor se encontra disponível aos visitantes, é exalado um leve odor acre saponáceo. O teste com vermelho neutro indicou a presença de glândulas, provavelmente osmóforos, em pontos localizados no interior da corola, filetes, anteras, estilete, e papilas do estigma (Fig. 7).



Figura 6. Flores de *Cambessedesia hilariana*. Em (a) um botão em fase de pré-antese com o estigma exteriorizado (seta) e uma flor no início da antese antes do posicionamento das anteras e estilete. Em (b), fase da flor pouco antes dos estames se distenderem. Note que as anteras ainda estão posicionadas entre o ovário e o hipanto (seta). Em (c), coloração dos elementos florais e disposição do estilete e estigma (seta) distante do androceu.

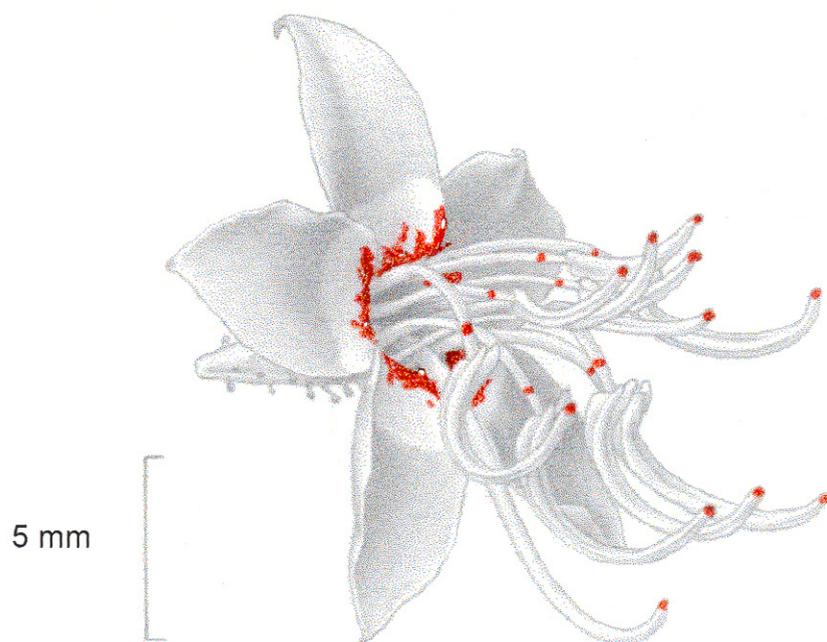


Figura 7. Esquema de flor de *Cambessedesia hilariana* mostrando os pontos corados com vermelho neutro, indicando a presença de osmóforos. (Ilustração de Rogério Lupo)

Nas primeiras horas da manhã, os grãos de pólen estão muito úmidos dentro das anteras, mantendo-se aglutinados. Conforme a temperatura ambiente aumenta no decorrer do dia, o pólen perde essa umidade, tornando-se seco e pulverulento. A duração deste processo é alterada em dias chuvosos, dada a menor taxa de evaporação.

A viabilidade do pólen dos estames de diferentes tamanhos é muito semelhante e não há diferenças significativas na viabilidade com relação aos corantes utilizados e nem entre as diferentes fases da antese, sendo os grãos viáveis desde a fase de botão até a murcha das anteras (Tabela 2).

Tabela 2. Viabilidade do pólen dos estames de diferentes tamanhos, utilizando-se duas técnicas de coloração. Os valores referem-se às porcentagens obtidas para pólen de quatro flores para cada fase de antese.

| Fases da antese | Tamanho dos estames | | | |
|----------------------|---------------------|-----------|----------|-----------|
| | Grandes | | Pequenos | |
| | corantes | | corantes | |
| | Carmin | Alexander | Carmin | Alexander |
| Pré-antese | 89,65 | 89,44 | 89,66 | 85,61 |
| 24 horas após antese | 90,10 | 87,36 | 89,45 | 90,64 |
| 48 horas após antese | 88,54 | 88,63 | 86,63 | 89,80 |
| 60 horas após antese | 89,56 | 87,45 | 90,12 | 86,33 |

O estigma encontra-se receptivo desde a fase de pré-antese até a queda da corola. As flores têm duração aproximada de 60 horas, e findo este período, ocorre a queda da corola e os elementos reprodutivos apresentam coloração alaranjada, decorrente do

processo de murcha. Após a queda das pétalas ocorre a queda dos estames e só após alguns dias o estilete sofre abscisão. Marcas escuras provenientes da manipulação pelas abelhas são visíveis nas anteras (Fig. 8a). Após as visitas no primeiro dia, ainda há grãos de pólen no prolongamento das anteras (Fig.3) e que poderão ser coletados durante o segundo dia.

As flores que não são polinizadas atrofiam e caem. Caso ocorra a fecundação, após cerca de uma semana ocorre intumescimento e mudança na coloração do hipanto, que de verde muda para marrom. A maturação, bem como a deiscência do fruto e a liberação das sementes, ocorre aproximadamente após 40-60 dias. Os frutos de *Cambessedesia hilariana* são cápsulas secas (Fig. 8b). As sementes são pequenas, medindo ca. de $1,30 \pm 0,12$ mm (n=50), possuem a testa rígida, reticulada e de coloração marrom escura. Frequentemente as sementes caem junto à planta mãe e as plântulas se desenvolvem à sua sombra.



Figura 8. (a) Flor de *Cambessedesia hilariana*. Note as marcas nas anteras decorrentes das visitas das abelhas (seta). (b) Frutos maduros de *Cambessedesia hilariana*. Nesta fase as plantas estão praticamente sem folhas.

Sistema de Reprodução

De acordo com os dados de cruzamentos manuais, verifica-se que existem mecanismos de seleção da progênie, uma vez que, das flores autopolinizadas, apenas 12.5% formam frutos mantidos na planta-mãe, enquanto, das flores polinizadas com pólen xenógamo, 74% desenvolvem frutos (Tabela 3). Dessa forma, *Cambessedesia hilariana* depende de vetores de pólen para que seu sucesso reprodutivo seja significativamente aumentado, como ocorre em flores mantidas sob condições naturais nas quais as taxas de frutificação atingem 70% (Tabela 3).

Tabela 3. Resultados dos testes sobre o sistema de reprodução: frutificação, formação e germinação de sementes em *Cambessedesia hilariana*. Entre parênteses, número absoluto de frutos maduros/total de flores manipuladas. Os números relativos à formação e germinação de sementes referem-se à mediana obtida em 40 frutos e a variação (máximos e mínimos).

| Tratamentos | Frutificação | Sementes | |
|-----------------------------|----------------|---------------|----------------|
| | | Formação (%) | Germinação (%) |
| Auto-polinização manual | 12,5% (44/350) | 49,27 ± 24,71 | 88,83 ± 11,17 |
| Polinização cruzada | 74% (148/200) | 55,12 ± 23,0 | 90,51 ± 9,49 |
| Emasculação | 0 (0/60) | - | - |
| Auto-polinização espontânea | 0 (0/30) | - | - |
| Condições naturais | 70% (42/60) | 49,02 ± 29,86 | 84,57 ± 15,42 |

A variação na porcentagem de sementes formadas, bem como a variação das taxas de germinação das sementes de frutos obtidos nos testes foram semelhantes às encontradas em condições naturais (Tabela 3). Sob estas condições, 54,93% dos frutos ($n=71$) possui de 40 a 60% sementes formadas (Fig. 9).

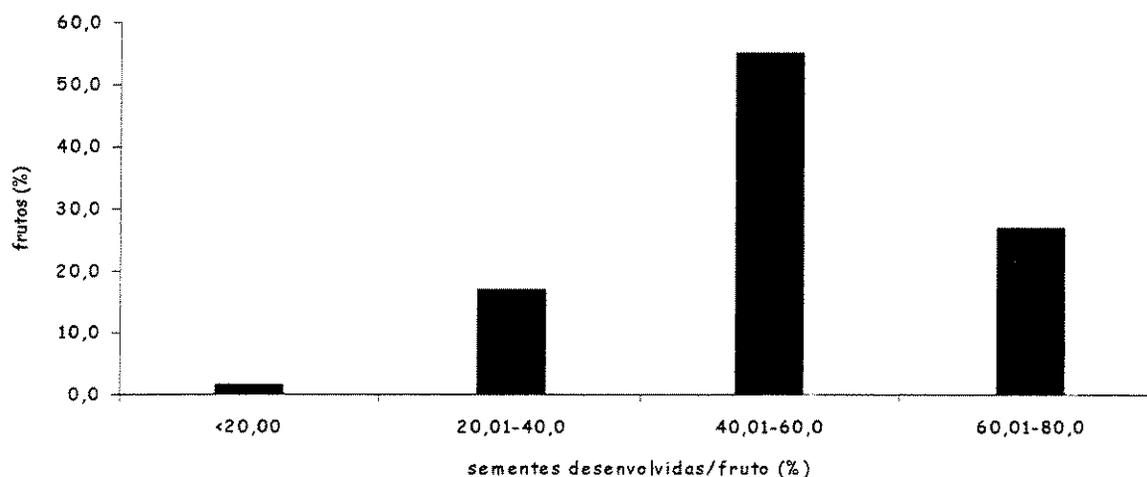


Figura 9. Porcentagem de sementes fertilizadas por fruto em condições naturais em *Cambessedesia hilariana*.

Durante o desenvolvimento dos frutos ocorreu abortamento de parte dos frutos provenientes de auto-polinizações, de polinizações cruzadas e de condições naturais (Fig. 10). Os frutos começam a ser abortados a partir do 12º dia após a polinização e as taxas de abortamento são contínuas ao longo de todo o período de desenvolvimento dos frutos, sendo baixas e semelhantes entre si em frutos provenientes de polinizações cruzadas e condições naturais e altas em frutos provenientes de auto-polinizações (Fig. 10).

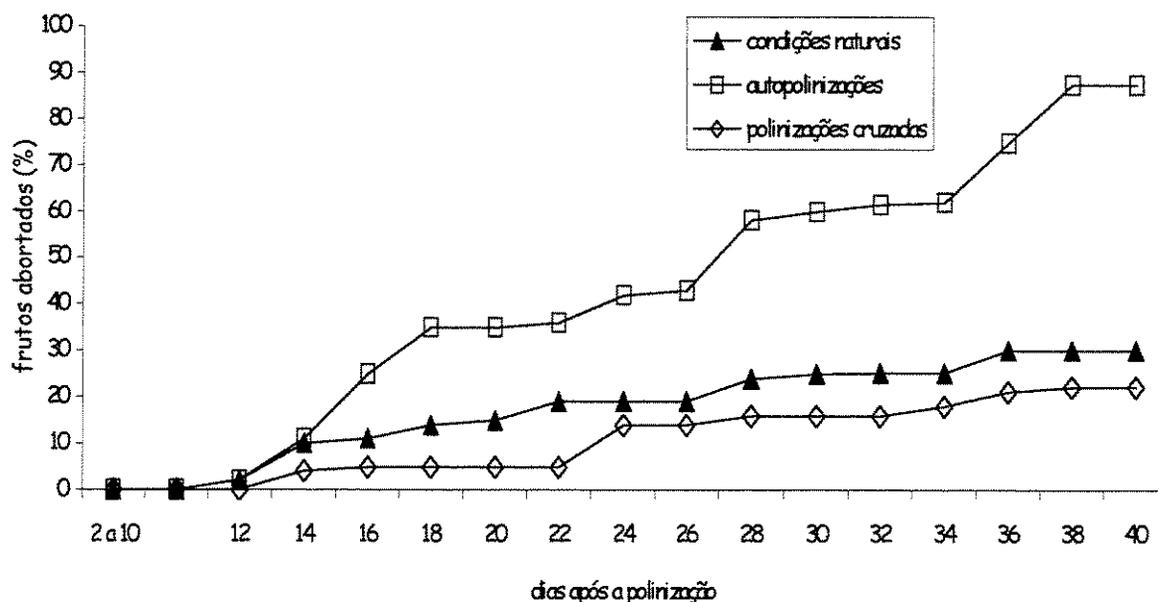


Figura 10. Porcentagem de frutos abortados ao longo de 40 dias após polinização em *Cambessedesia hilariana*.

A germinação dos grãos de pólen ocorre quatro horas após a polinização, tanto nos tratamentos de auto-polinizações como nos de polinizações cruzadas, e os tubos atingem a base do estilete após 24 horas e a micrópila dos óvulos após 82 horas (Figs. 11a,11b). Logo após a entrada dos tubos polínicos nos óvulos, ocorre espessamento dos tecidos que envolvem o óvulo, bem como a pigmentação da testa, o que dificulta a visualização dos tubos polínicos no interior do saco embrionário a partir dessa fase.

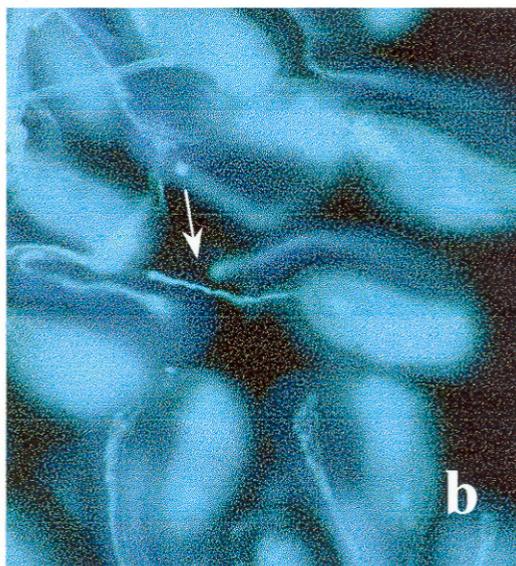
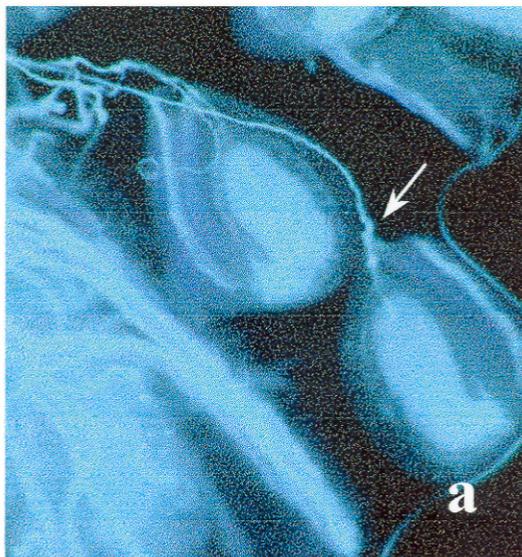


Figura 11. Tubos polínicos penetrando a micrópila dos óvulos (setas) de *Cambessedesia hilariana* 82 horas após a autopolinização (a) e a polinização cruzada (b).

Visitantes florais

Nas flores de *Cambessedesia hilariana* foram observadas 10 espécies de abelhas visitantes, pertencentes a quatro famílias (Tabela 4). *Centris* spp., *Oxaea flavescens*, *Augochloropsis* spp. e *Tapinotaspis* sp. apresentam pêlos plumosos na superfície lateral e ventral do corpo e escopas com pêlos ramificados. *Bombus moria* e *Euglossa cordata* possuem pilosidade longa, fina e plumosa nas superfícies ventral e lateral do corpo; em *Xylocopa* sp. estão presentes pêlos simples, rígidos e densos distribuídos na região ventral do corpo da abelha. No presente estudo foram consideradas três classes de tamanhos, de acordo com o comprimento do corpo e largura do tórax das abelhas, respectivamente:

- (i) pequeno porte: 8,0 a 9,5 mm e 1,7 a 2,5 mm
- (ii) médio porte: 11,0 a 14,0 mm e 3,0 a 4,5 mm
- (iii) grande porte: 15,0 a 20,0 mm e 5,1 a 8,45mm

Tabela 4. Espécies de abelhas visitantes de *Cambessedesia hilariana*. Comprimento total do corpo e largura do tórax de um indivíduo por espécie.

| | Comp. Corpo (mm) | Larg. Tórax (mm) | Porte |
|---|---------------------|---------------------|---------|
| APIDAE | | | |
| Bombinae | | | |
| <i>Bombus morio</i> (Swederus, 1787) | 17 | 8,45 | Grande |
| Euglossinae | | | |
| <i>Euglossa cordata</i> (Linnaeus, 1758) | 12 | 4,5 | Médio |
| ANTHOPHORIDAE | | | |
| Anthophorinae (Centridini) | | | |
| <i>Centris cf. nitens</i> (Lepelletier, 1841) | 17 | 6,1 | Grande |
| <i>Centris</i> sp. | 13 | 3,2 | Médio |
| Anthophorinae (Melitomini) | | | |
| <i>Melitoma segmentaria</i> (Fabricius, 1804) | 11 | 3,0 | Médio |
| Anthophorinae (Exomalopsini) | | | |
| <i>Tapinotaspis</i> sp. | 9,5 | 2,5 | Pequeno |
| Xylocopinae (Xylocopini) | | | |
| <i>Xylocopa</i> sp. | 15 | 5,1 | Grande |
| HALICTIDAE | | | |
| Halictinae (Augochlorini) | | | |
| <i>Augochloropsis</i> sp.1 | 9 | 2,1 | Pequeno |
| <i>Augochloropsis</i> sp.2 | 8 | 1,7 | Pequeno |
| ANDRENIDAE | | | |
| Oxaeinae | | | |
| <i>Oxaea flavescens</i> (Klug, 1807) | 20 | 7,6 | Grande |

A frequência total de visitas das espécies durante os meses de florescimento de *Cambessedesia hilariana* está apresentada na Tabela 5. *Centris* sp. realizou o maior número de visitas, representando 50,65% do total, seguida por *Xylocopa* sp., *Centris* cf. *nitens* e *Bombus morio* que apresentam proporções semelhantes de visitas, sendo que as demais espécies apresentaram frequências bem mais baixas (Tabela 5). Entre essas espécies, *Melitoma segmentaria* e *Tapinotaspis* sp. apresentaram frequência de visitas muito baixa quando comparadas às outras espécies visitantes.

Tabela 5. Número e porcentagem relativa de visitas de abelhas às flores de *Cambessedesia hilariana* durante a floração entre os meses de setembro de 2001 e maio de 2002.

| Espécies de abelhas | Visitas observadas/(%) |
|----------------------------------|------------------------|
| <i>Centris</i> sp. | 2218 (50,651) |
| <i>Xylocopa</i> sp. | 810 (18,497) |
| <i>Centris</i> cf. <i>nitens</i> | 537 (12,263) |
| <i>Bombus morio</i> | 478 (10,916) |
| <i>Euglossa cordata</i> | 161 (3,677) |
| <i>Oxaea flavescens</i> | 83 (1,895) |
| <i>Augochloropsis</i> sp.1 | 51 (1,165) |
| <i>Augochloropsis</i> sp.2 | 36 (0,822) |
| <i>Tapinotaspis</i> sp. | 3 (0,069) |
| <i>Melitoma segmentaria</i> | 2 (0,046) |

Ao longo da estação de florescimento de *C. hilariana* houve variação na frequência relativa dos visitantes (Fig. 12b). *Centris* sp. é a espécie com maior frequência relativa entre os meses de setembro e fevereiro, apresentado pico de visitas em dezembro (Fig. 12a). Este período de atividade de *Centris* sp. coincide com o período de maior florada de *C. hilariana* (Fig. 5). *Centris* sp. foi sucedida em frequência por *Xylocopa* sp. em setembro, outubro, janeiro e fevereiro, por *Centris* cf. *nitens* em novembro e por *Bombus morio* em dezembro, sendo que outras espécies de abelhas foram pouco frequentes neste período (Fig. 12). Em janeiro, *Bombus morio* foi a terceira espécie mais frequente e em fevereiro foi *Oxaea flavescens* (Fig. 12).

Os meses finais da florada, março, abril e maio, quando o número de flores é bastante reduzido (Fig. 5), foram caracterizados pela diminuição nas frequências de algumas das espécies de abelhas na população citadas anteriormente, tornando-se mais frequentes outras espécies. Em março, *Augochloropsis* sp.1 foi a espécie com maior frequência, seguida de *Oxaea flavescens*, *Bombus morio* e *Euglossa cordata*, havendo brusca diminuição da frequência de *Centris* sp. e *Xylocopa* sp., que até então apresentavam grande participação nas visitas (Fig. 12). Em abril as proporções novamente foram alteradas, sendo que *Bombus morio* apresentou o maior pico na frequência de visitação, seguida novamente por *Xylocopa* sp., e em maio, *Euglossa cordata* foi o visitante mais assíduo em rela o aos demais, seguida por *Augochloropsis* sp.2, *Centris* sp. e *Xylocopa* sp. (Fig. 12b).

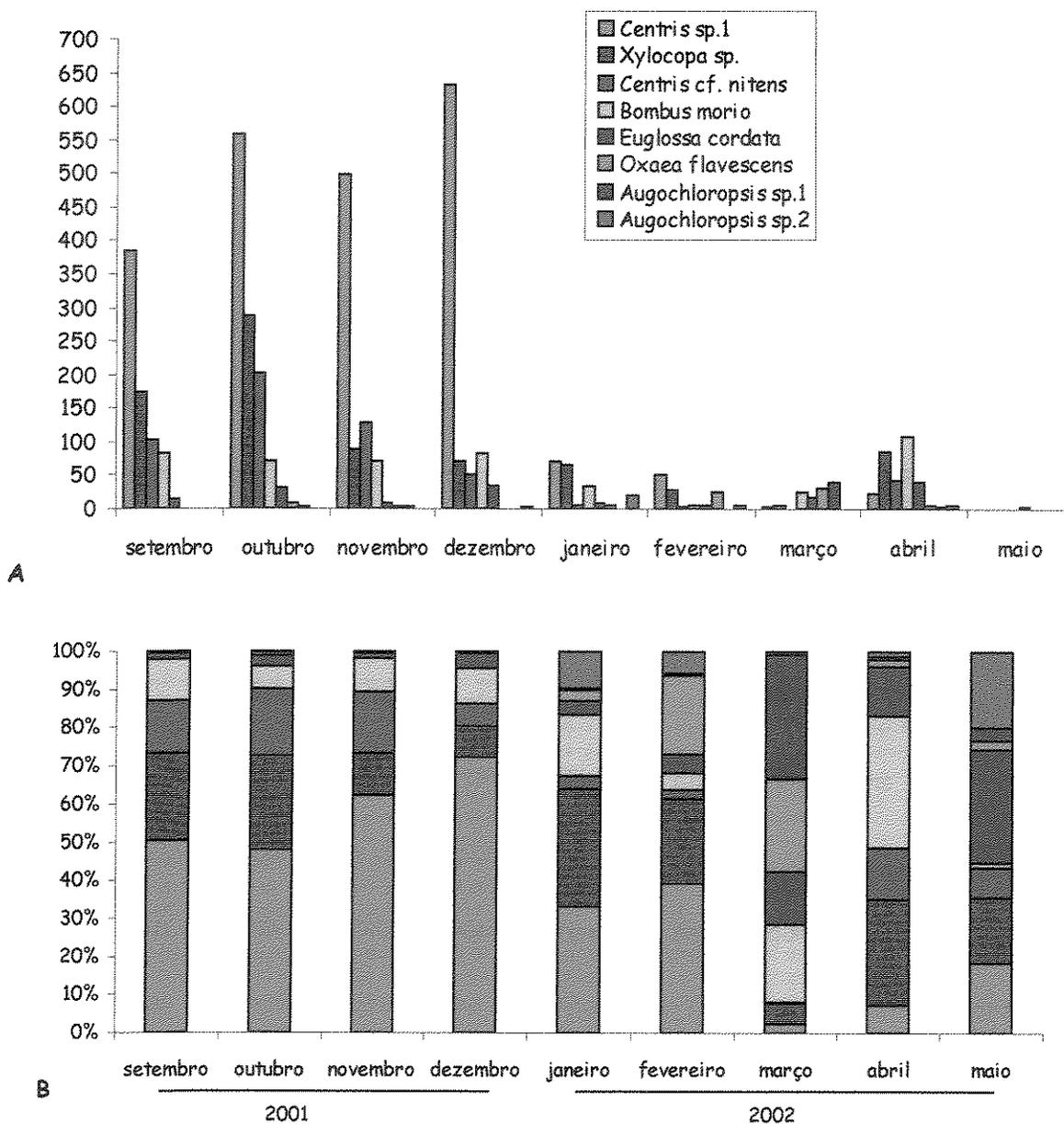


Figura 12. Frequência de visitantes de *Cambessedesia hilariana* ao longo de uma estação de florescimento (setembro de 2001 a maio de 2002). O gráfico A refere-se ao número de visitas por mês de cada espécie de abelha, enquanto o gráfico B refere-se à frequência relativa dos visitantes em cada mês.

Ao longo do dia, *Centris* sp., *Centris* cf. *nitens* e *Bombus morio* apresentam pico de visitação nos horários com temperaturas mais amenas (9:00h às 11:00h), sendo que no período mais quente, compreendido entre 11:00h e 15:00h, ocorre diminuição em sua atividade de forrageio (Fig. 13). As visitas de *Xylocopa* sp. são realizadas com maior frequência entre 11:00h e 13:00h, sendo diminuídas também entre 13:00h e 15:00h (fig 13). Entretanto a frequência de visitas destas quatro espécies de polinizadores é ligeiramente aumentada entre 15:00h e 17:00h, quando as temperaturas voltam a ficar mais amenas (fig.13). *Euglossa cordata* inicia suas atividades de forrageio no meio da manhã (por volta das 10:00h), sendo então observada com frequência ligeiramente maior entre 11:00h e 13:00, apresentando brusca queda no próximo período (13:00h às 15:00h) e atingindo o pico de visitação no período entre 15:00h e 17:00h (fig. 13). *Oxaea flavescens*, da mesma forma, inicia suas atividades por volta de 10:30h, atingindo pico de frequência nos horários mais quentes do dia (13:00h às 15:00h), apresentando a seguir queda de ca. 50% em sua frequência (fig. 13) Padrão semelhante descrito para *O. flavescens* foi encontrado em *Augochloropsis* sp.2. *Augochloropsis* sp.1 mantém sua frequência mais ou menos constante ao longo do dia (Fig. 13).

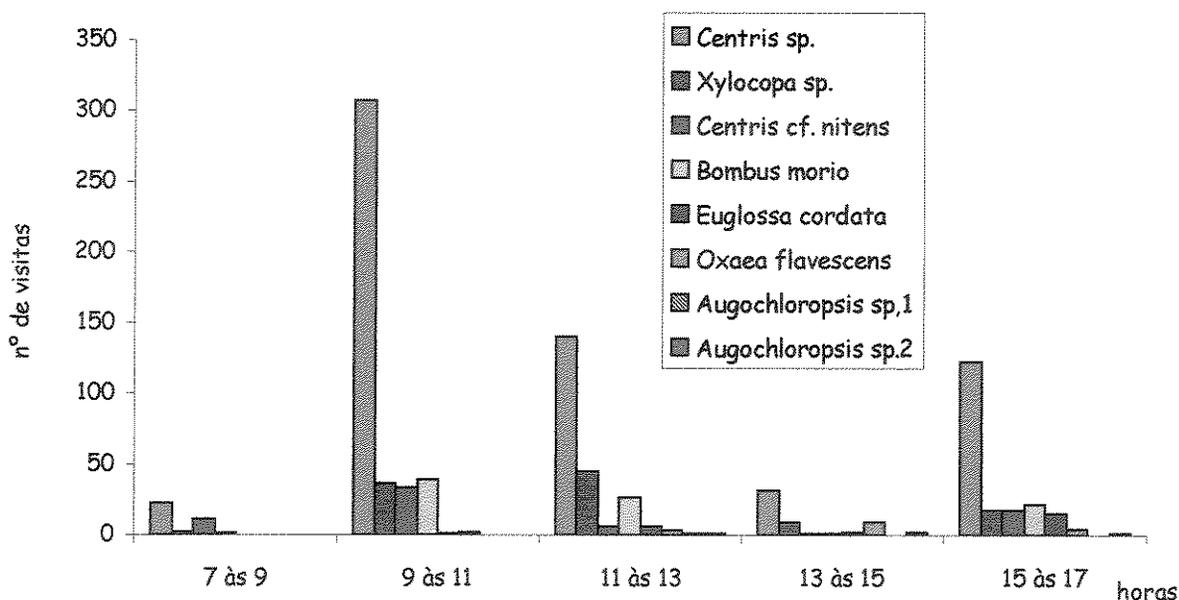


Figura 12. Frequência de visitas das espécies de abelhas ao longo do dia nos meses em que ocorre o pico de floração de *Cambessedesia hilariana* (outubro e novembro).

De maneira geral, o comportamento das abelhas que visitam as flores é semelhante. As abelhas aproximam-se da flor, inspecionam-na e pousam com sua superfície ventral orientada para o centro da flor agarrando o androceu e o estilete com os dois primeiros pares de pernas (Fig.14a). *Bombus morio*, *Euglossa cordata* e *Xylocopa* sp. inspecionam a flor pairando à sua frente brevemente. *Oxaea flavescens*, *Centris* cf. *nitens*, *Centris* sp. e as duas espécies de *Augochloropsis* inspecionam e pousam na flor numa seqüência mais rápida que as espécies anteriores. Ao pousarem, com exceção das espécies de *Augochloropsis*, as abelhas contatam o estigma com a sua superfície ventral. A seguir as abelhas vibram mantendo encurvado o abdome (Fig. 14b), e uma nuvem de pólen é liberada das anteras aderindo à superfície ventral torácica e/ou abdominal da abelha. A deposição

do pólen nestas regiões foi constatada pela análise das abelhas. Após algumas visitas, as abelhas fazem a limpeza, em vôo estacionário ou pousadas, transferindo o pólen para as corbículas ou escopas. Em determinadas ocasiões, *Bombus morio*, as espécies de *Centris* e *Oxaea flavescens* pousam em um ramo ou numa folha para recolher o pólen, tornando-se esta uma atividade mais demorada do que quando a fazem em vôo. As demais abelhas foram vistas realizando essa atividade de limpeza apenas em vôo.

O padrão de deslocamento entre as flores é distinto entre *Centris* sp. e as demais abelhas. Enquanto *Centris* sp. visita um grande número de flores de um mesmo indivíduo antes de se dirigir a outro, o que favorece a geitonogamia, *Xylocopa* sp., *Bombus morio*, *Centris* cf. *nitens*, *Euglossa cordata* e *Oxaea flavescens* realizam a coleta do pólen em uma seqüência de flores distantes entre si, o que favorece a polinização cruzada.



Figura 14. *Centris* sp. pousada em uma flor de *Cambessedesia hilariana* (a). Em (b), *Centris* sp. vibrando uma flor de *C. hilariana*. Note que seu abdome permanece encurvado enquanto vibra.

Augochloropsis sp.1 e *A.* sp.2, devido ao tamanho (Tabela 4), não são capazes de agarrar todos os estames e o estilete de uma só vez. Assim, vibram um ou dois estames, de forma que apenas contatam o estigma à medida que se deslocam na flor para coletar pólen das outras anteras, movimento raramente observado durante o estudo. A deposição de pólen no corpo destas abelhas é generalizada, ou seja, há aderência de pólen em toda sua superfície ventral e lateral. No momento em que vibram cada antera, toda a flor é vibrada e há liberação de pólen das demais anteras. Dessa forma, grande quantidade de pólen não é coletada por essas abelhas, sendo então desperdiçada.

Tapinotaspis sp e *Melitoma segmentaria* visitam as flores de *C. hilariana* e coletam o pólen de forma diferente das demais. Estas abelhas não vibram, mas "ordenham" as anteras individualmente e, muitas vezes, rasgam os tecidos das anteras ou até mesmo arrancam-nas. É raro o contato com o estigma. Dado esse comportamento de coleta de pólen aliado à frequência muito baixa de suas visitas, sua atividade como polinizadores é muito eventual.

Nas primeiras horas da manhã, antes que as flores estejam completamente abertas, os estames ainda não estão posicionados formando um conjunto. Durante esse período as abelhas, mesmo as espécies maiores, não conseguem agarrar o conjunto dos elementos reprodutivos, mas um ou dois estames. Assim, no momento da vibração toda a flor é vibrada sendo o pólen expulso de todas as anteras, independente de estarem sendo agarradas ou não pelas abelhas. Nesta ocasião, estas abelhas recebem pólen também na superfície lateral de seu corpo.

Durante o pico de floração, estão abertas e disponíveis para visitas aproximadamente 100.000 flores na população (Fig. 5). Desta maneira, é impossível mensurar-se a quantidade de flores visitadas durante um dia. Entretanto, por meio de observações indiretas, é possível inferir que determinada flor foi visitada. Isto se baseia nas marcas deixadas nos filetes e nas anteras, locais onde as abelhas se agarram durante a visita (Fig 8a). Desse modo, ao final de um dia são raras as flores sem esses vestígios de visitas.

Com base em observações pontuais, foi verificado que cada flor recebe poucas visitas ao longo do dia e que abelhas da mesma espécie raramente fazem mais de duas visitas à mesma flor durante um dia.

No experimento no qual o número de visitas de cinco espécies de abelhas foi controlado, a frutificação em *C. hilariana* resultante de visitas de *Centris* sp. indica que as visitas desta espécie resultam em menor número de frutos (38,46%) do que a resultante das visitas de *Euglossa cordata* (69,23%) (Fig. 15). Na segunda visita destas mesmas espécies de abelhas, pode-se notar que a porcentagem de frutos formados quase não difere da decorrente de uma visita (Fig. 15). Este fato se repete para as demais espécies de abelhas (Fig. 15).

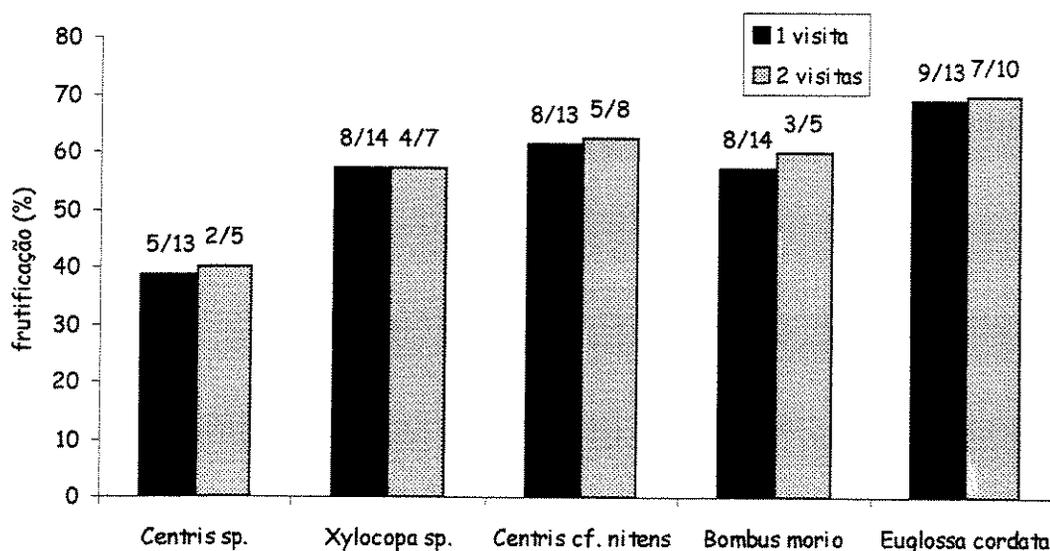


Figura 15. Frutificação de *Cambessedesia hilariana* decorrente de uma e duas visitas de cada espécie de polinizador. As frações acima das barras referem-se ao número de frutos/número de flores visitadas.

Entretanto, ao se analisar a porcentagem de sementes formadas nestes mesmos frutos, a menor porcentagem de sementes formadas foi decorrente de visitas únicas de *Centris* sp. (20,34%) e *Euglossa cordata* (22,85%), enquanto a porcentagem de sementes formadas como resultado de uma visita de *Xylocopa* sp. foi de 65,42% (Fig. 16). Como resultado de duas visitas acrescidas, houve um sensível aumento na quantidade de sementes formadas para todas as espécies de abelhas, em especial como decorrência das visitas de *Centris* cf. *nitens* e *Euglossa cordata* (Fig. 16).

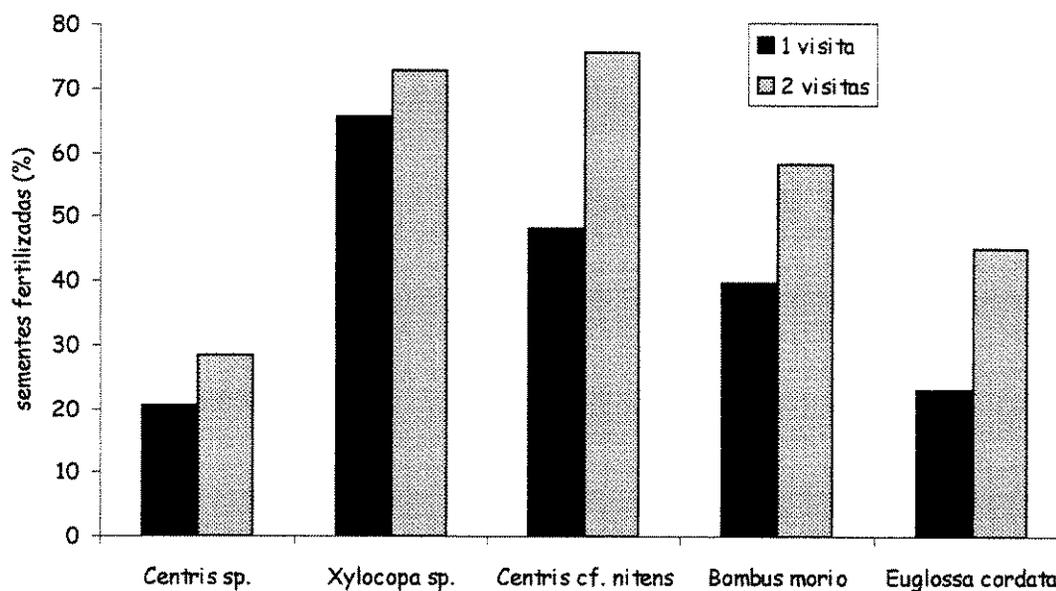


Figura 16. Formação de sementes em *Cambessedesia hilariana* a partir de uma e duas visitas de cada espécie de abelha.

As taxas de germinação das sementes formadas nestes experimentos foram semelhantes às taxas de germinação encontradas em frutos mantidos em condições naturais e variaram de 65,89 a 98,05%.

DISCUSSÃO

Fenologia

O padrão de floração de *Cambessedesia hilariana* é do tipo anual extenso, segundo a classificação de Newstrom *et al.* (1994), pois apresenta um longo episódio de floração no período de um ano, com produção de muitas flores. De acordo com Gentry (1974), este tipo de floração é denominado "cornucópia" e indica recurso disponível durante a maior parte do ano para as abelhas visitantes.

O início da produção de botões e da floração de *C. hilariana* parece estar relacionado ao início do período chuvoso. Umidade, temperatura e fotoperíodo são fatores que funcionariam como "gatilhos" ambientais reguladores do florescimento (Rathcke & Lacey 1985).

Morfologia e biologia floral

As inflorescências de *Cambessedesia hilariana* apresentam-se expostas, tornando as flores acessíveis aos polinizadores e o número muito grande de flores por indivíduo aumenta a atratividade das plantas (Richards 1997), características que podem explicar o grande número de visitas e a diversidade de visitantes.

A sua estrutura floral é característica da família Melastomataceae e está relacionada à síndrome de polinização por vibração (Buchmann & Hurley 1978), cujo recurso disponível é o pólen produzido em quantidades abundantes e liberado em forma de nuvem. A coloração amarela dos elementos reprodutivos e da base das pétalas, surgida em espécies isoladas na família (Renner 1989), é um atributo relacionado à atração de abelhas (Faegri & Pijl 1979), pois corresponde a faixas de comprimento de onda no espectro visual perceptível pelas abelhas (Kevan & Baker 1983). Além dos atrativos visuais, o odor acre-saponáceo perceptível nas flores, provavelmente é produzido em osmóforos localizados em pontos isolados do androceu e gineceu e no centro da corola, podendo ser fator adicional de atração das abelhas. Entretanto, odor semelhante ao percebido durante o florescimento de *C. hilariana* é também perceptível em suas partes vegetativas nos períodos entre as floradas, porém com menor intensidade. Esse odor pode ser proveniente dos numerosos tricomas glandulares existentes no cálice, ovário, base dos filetes e nos ramos, porém a sua função glandular não é evidenciada pelo teste do vermelho neutro, uma vez que possuem coloração vermelha. Em *Marcetia hatschbachii* há presença de substância odorífera

produzida pelos tricomas existentes nas folhas (Martins, com. pess.). A presença de odores nas flores foi também mencionada por Buchmann *et al.* (1977) e Renner (1989) em outras espécies de Melastomataceae, porém identificados como adocicados. Goldenberg & Shepherd (1998) descreveram odor desagradável em *Miconia pepericarpa* como um provável atrativo desta espécie.

Em *Cambessedesia hilariana*, o padrão de torção do androceu, juntamente com a torção sofrida pelo estilete, resulta numa disposição adequada desses elementos, conferindo zigomorfia à flor e permitindo aos polinizadores acesso e posicionamento a todos os estames e ao estigma, que é contatado momentos antes da abelha realizar a coleta do pólen. Dessa forma, o conjunto dos elementos sexuais, além de desempenhar a função de atração dos polinizadores, oferece ainda superfície para pouso dos visitantes, características mencionadas por Renner (1989) para a família Melastomataceae.

As flores de *C. hilariana* apresentam hercogamia, ou seja, o estigma está localizado distante do nível dos poros das anteras, diminuindo as chances de que o pólen endógeno chegue ao estigma, favorecendo a polinização cruzada. Segundo Renner (1989), a hercogamia, aliada ao fato do pólen estar inserido nas anteras tubulares que se abrem em apenas um poro são os principais meios para promover a polinização cruzada nesta família, tornando quase nulas as chances de ocorrer auto-polinização espontânea. Há, no entanto, outros mecanismos que favorecem a xenogamia, como a dicogamia no gênero *Monochaetum* (Almeda 1978) e a dioiccia no gênero *Miconia* (Renner 1989).

Para que o pólen possa ser retirado das anteras, é imprescindível o seu dessecamento (Heslop-Harrison 1979). Entretanto, no início da antese, antes de ocorrer a torção dos elementos reprodutivos, o pólen ainda se encontra úmido. Se, nesta ocasião, houvesse a possibilidade das abelhas retirarem o pólen, as anteras não seriam vibradas em conjunto e os grãos não seriam depositados na superfície ventral da abelha — local onde o estigma é contatado. Dessa forma, o sincronismo entre a perda d'água do pólen e o posicionamento final dos estames é um fator importante que contribui para diminuir o desperdício de pólen ao mesmo tempo em que torna a visita eficiente.

O dimorfismo dos estames está apenas na diferença de tamanho, o que, teoricamente, está relacionado à deposição diferenciada de pólen no corpo dos visitantes. Entretanto, devido à pequena diferença de tamanho entre os estames, a deposição diferenciada é traduzida em um aumento na área em que o pólen adere, aumentando, assim, as chances do estigma ser contatado.

A viabilidade do pólen dos dois tamanhos de estames de *Cambessedesia hilariana* é muito semelhante e não foram verificadas diferenças funcionais no pólen, como as freqüentemente relatadas para a família, uma das quais consistindo no pólen estéril utilizado como alimento larval (Proctor & Yeo 1972, Faegri & van der Pijl 1979). Vogel (1978) menciona a estratégia de "engano" dos polinizadores, na qual os apêndices do conectivo assemelham-se aos estames em alguns gêneros de *Melastomataceae*: em *Meriania longifolia*, enquanto a abelha vibra este falso estame (apêndice do conectivo), o pólen fértil é expulso das anteras aderindo em seu abdome.

A maneira como o pólen é expulso em forma de nuvem das anteras pode sugerir contaminação do estigma com o pólen da mesma flor. Mas, no momento em que pousam, as abelhas contatam o estigma, obstruindo-o com seu corpo enquanto realizam a vibração, evitando auto-polinização. O pólen é liberado gradualmente durante toda a antese, de modo que há pólen disponível para várias visitas de abelhas, maximizando a dispersão do pólen (Harder & Barrett 1996). Ao mesmo tempo, o estigma, que está receptivo durante toda a antese, pode receber pólen exógeno em mais de uma visita, aumentando potencialmente a quantidade de grãos aderidos às papilas estigmáticas e conseqüentemente de óvulos fertilizados. Além disso, as visitas às flores são realizadas a grandes intervalos de horas, o que significa tempo suficiente para a germinação dos grãos, assegurando sua aderência às papilas estigmáticas e diminuindo a probabilidade de serem desprendidos pela vibração das abelhas em visitas subseqüentes.

Assim, a organização floral de *Cambessedesia hilariana*, como da maioria das melastomatáceas, requer uma série de adaptações morfológicas, fisiológicas e temporais para que a polinização seja garantida a cada visita de seus polinizadores (M.C.B. Pinheiro, com. pess.).

Sistema de Reprodução

A frutificação de *Cambessedesia hilariana* em condições naturais é bastante elevada e semelhante à frutificação nos experimentos de polinização cruzada, o que indica que seus polinizadores são muito eficientes. Uma vez que não há auto-polinização espontânea, nem produção de frutos apomíticos, esta espécie depende de abelhas para se reproduzir sexuadamente. Os resultados de frutificação decorrentes dos experimentos de cruzamentos manuais indicam que *C. hilariana* apresenta certo grau de auto-compatibilidade mas a formação de frutos decorrentes de auto-polinização é notavelmente reduzida quando comparada à polinização cruzada, indicando a manutenção preferencial de frutos obtidos por xenogamia (Holsinger 1996). Sob condições naturais, o padrão fenológico e o comportamento dos polinizadores caracterizam o cruzamento com pólen misto (Richards 1997).

Na família *Melastomataceae* existe grande diversidade de sistemas reprodutivos, havendo espécies auto-compatíveis, auto-incompatíveis e apomíticas (Renner 1989, Goldenberg & Shepherd 1998). Em *C. hilariana*, há dois motivos para se crer que a maior parte dos frutos formados em condições naturais seja proveniente de polinizações cruzadas: (i) a pequena taxa de frutos formados por auto-polinizações manuais e (ii) pelo comportamento dos visitantes cujas re-visitas são escassas e cuja coleta de pólen é realizada de maneira a favorecer o transporte de pólen entre indivíduos (com exceção de *Centris* sp.).

A taxa de formação de sementes encontrada em 54,93% dos frutos de *Cambessedesia hilariana* foi de 40-60%, dado semelhante à estimativa feita por Wiens (1984), cujo estudo, baseado nos frutos desenvolvidos, revelou que a proporção sementes/óvulos em espécies perenes é aproximadamente 50%. As Angiospermas comumente produzem mais óvulos do que sementes, ou seja, após fertilização bem sucedida, uma proporção considerável de óvulos não forma sementes em muitas espécies (Bawa & Webb 1984).

Algumas hipóteses podem ser lançadas como explicação para esse fato ocorrer em *C. hilariana*.

(i) aborto seletivo de embriões, fenômeno no qual alguns genótipos são abortados mais freqüentemente que outros, de modo que um aumento no nível de aborto de genótipos com "qualidade" potencialmente baixa levaria a um aumento na qualidade dos descendentes (Korbecka *et al.* 2002). Esse abortamento pode envolver: (a) o controle materno, feito pelo endosperma, uma vez que a maioria dos genes que são expressos no estágio embrionário são também expressos na vida adulta da planta, e (b) a competição entre os embriões pelos recursos da planta-mãe, que, atualmente, é a idéia mais aceita como explicação do aborto seletivo de embriões (Korbecka *et al.* 2002);

(ii) auto-fertilidade críptica, verificada por Bertin *et al.* (1989) e é assim denominada quando a aplicação de pólen endógeno puro leva a baixas taxas de frutificação enquanto misturas de pólen endógeno com pólen xenógamo aumentam substancialmente a quantidade de sementes formadas. Bertin & Sullivan (1988) e Bertin *et al.* (1989)

verificaram, ainda, que a mistura de pólen em *Campsis radicans* (Bignoniaceae) resulta em um número mínimo de óvulos fertilizados com pólen cruzado, os quais permitirão ao pistilo sobreviver e produzir fruto que também tenha óvulos auto-fertilizados que produzirão sementes viáveis.

(iii) auto-esterilidade que pode ser resultado de um sistema de auto-incompatibilidade de ação tardia ou depressão endogâmica regular e profunda ao estágio de zigoto (Bertin *et al.* 1989).

(iv) quantidade de pólen depositada no estigma.

As quatro hipóteses mencionadas acima podem explicar a razão sementes/óvulos próxima a 50% encontrada na maioria dos frutos em condições naturais, uma vez que os polinizadores carregam mistura de pólen endógeno e exógeno. O aborto seletivo de embriões e a auto-fertilidade críptica são fenômenos que podem ocorrer em *Cambessedesia hilariana*, mas não foram abordados neste estudo. Experimentos realizados com a mistura de pólen podem ajudar a esclarecer os mecanismos que estejam ocorrendo nesta população. A quantidade de pólen depositada no estigma não foi controlada e, de fato, poderia explicar a grande variação do número de sementes encontrada por fruto em todos os tratamentos, inclusive em condições naturais.

Os esforços desse trabalho concentraram-se na tentativa de se distinguir entre a existência de sistema de auto-incompatibilidade e depressão endogâmica quando foi observada a formação preferencial de frutos decorrentes de polinizações cruzadas. A

germinação dos grãos de pólen e o crescimento dos tubos polínicos indicaram que não ocorre reação de auto-incompatibilidade do estigma até o ovário. Entretanto, ocorrem altas taxas de abortamento de frutos decorrentes de auto-polinizações durante todo o desenvolvimento do fruto, não sendo observado sincronismo nos tempos de abortamento. Esses fatos, segundo Seavey & Bawa (1986) seriam indícios de que mecanismos de depressão endogâmica estariam atuando nesta população, pois diferentes combinações de genes letais em recessividade são refletidas nos diferentes tempos de abortamento dos pistilos auto-polinizados. Klekowski (1988) argumenta, porém, que "os mecanismos de auto-esterilidade são insuficientemente compreendidos para permitir predizeres a respeito do tempo de auto-rejeição"; além disso, um número muito grande de genes letais poderia mimetizar um sistema de auto-incompatibilidade (Sage *et al.* 1994). Sendo assim, a distinção entre auto-incompatibilidade pós-zigótica e depressão endogâmica é baseada em suposições acerca das bases genéticas destes dois fenômenos (Nic Lughadha 1998) e, em muitos casos, esta distinção torna-se tarefa árdua e por vezes impossível de ser comprovada. Em *Cambessedesia hilariana* fazem-se necessários outros testes para suportar tal distinção.

As taxas de formação de sementes por fruto desenvolvido como consequência de auto-polinizações em *Cambessedesia hilariana* são variáveis (entre 24,56% e 73,98%) e essa variação é semelhante às taxas dos frutos decorrentes de polinizações cruzadas (32,12% a 78,12%) e sob condições naturais (19,16 e 78,88). Duas questões devem ainda ser consideradas: o número de tubos polínicos que penetram os óvulos é semelhante em auto-

-polinizações e em polinizações cruzadas? e, o número de óvulos fertilizados em auto-polinizações é semelhante nos frutos abortados e nos frutos desenvolvidos? Essas duas questões não foram abordadas neste estudo e devem ser investigadas, pois se o número de tubos polínicos for diferente nos dois tratamentos, fica bastante forte a evidência de que a reação de rejeição ativa do auto-pólen ocorre ainda no ovário. Da mesma forma, nos frutos obtidos por auto-polinizações, se o número de óvulos fertilizados em frutos abortados for menor que em frutos mantidos na planta-mãe, esse fato indicaria auto-rejeição de pólen. Por outro lado, se a contagem de tubos polínicos e óvulos fertilizados não for suficiente para determinar a presença de um sistema de auto-incompatibilidade ou mecanismos de depressão endogâmica, seria necessária a análise do saco embrionário a fim de se investigar, durante o estágio de desenvolvimento da semente, o momento de falência.

Segundo Stephenson *et al.* (2000), freqüentemente os pesquisadores botânicos relacionam a ocorrência de sistema de auto-incompatibilidade em determinada espécie de planta à fertilização cruzada como caminho obrigatório para formação de sementes. Entretanto, quando é investigado o sistema de reprodução de determinada espécie, bem como para *Cambessedesia hilariana*, é importante levar em conta que a variabilidade genética característica de indivíduos de uma população, bem como a plasticidade exibida pelos sistemas de auto-incompatibilidade, podem ser reflexos da variação de diversos fatos, como: (i) a ação dos S-alelos; (ii) a expressão de genes modificadores; (iii) a composição do pólen depositado no estigma (se somente pólen endógeno ou mistura de pólen endógeno e exógeno); (iv) condições ambientais externas, como temperatura; (v) condições

internas do estilete, como idade da flor, período do ano, presença de frutos em desenvolvimento (Stephenson *et al.* 2000).

As taxas de frutificação, bem como o abortamento contínuo dos frutos obtidos por auto-polinização de *Cambessedesia hilariana* ao longo de seu desenvolvimento, de acordo com Seavey & Bawa (1986) podem sugerir a ocorrência de depressão endogâmica na população estudada. Baixos níveis de fecundidade semente/óvulos podem ser característicos da família, independentemente de seu sistema de reprodução (Nic Lughadha 1998). Dessa forma, com base nas características estudadas para *C. hilariana*, não está clara sua estratégia reprodutiva, havendo necessidade de testes mais precisos para se inferir como funciona o seu sistema reprodutivo.

Visitantes Florais

A população de *Cambessedesia hilariana* estudada é composta por indivíduos que produzem grande quantidade de flores ao longo da floração, o que influencia a visita às plantas uma vez que a atração exercida sobre as abelhas depende de sinais florais e da abundância das plantas e flores, além da quantidade de recursos existentes (Gumbert 2000). Com exceção da espécie da tribo Melitomini, todas as abelhas observadas visitando as flores possuem adaptações para o transporte de pólen pequeno e seco, característico da maioria das espécies que possuem anteras com deiscência poricida (Buchmann 1983), como densa pilosidade na superfície corporal, densas escopas com pêlos ramificados ou, quando simples, apresentam-se rígidos (Thorp 1979).

As altas taxas de frutificação de *C. hilariana* são mantidas durante todo o período de florescimento. Nos primeiros meses de florescimento, nos quais existe a maior quantidade de flores, a frequência de *Centris* sp. é muito alta, o que viabiliza, possivelmente, a visita a quase todas as flores. Nos meses subsequentes, a frequência de espécies que mais contribuem para a formação de sementes é mantida, garantindo, assim, continuidade do alto sucesso reprodutivo, mesmo quando ocorre aumento na frequência de espécies pilhadoras: *Augochloropsis* sp.1 no mês de março e de *Augochloropsis* sp.2 em maio. As espécies de *Augochloropsis* apresentam ampla distribuição geográfica, sendo observadas em flores de numerosas espécies de plantas (I.A. Santos, com. pess.). Essas abelhas são consideradas pilhadoras em *C. hilariana* apenas por não possuírem tamanho adequado para

contatar o estigma da flor durante a coleta do pólen, porém possuem comportamento adequado e poderiam ser polinizadores de espécies de Melastomataceae com flores menores. Tendo em vista a necessidade da adequação morfológica entre a flor e o polinizador, possivelmente essas espécies de abelhas são pilhadoras de diversas espécies de Melastomataceae que possuem flores com diâmetro maior que dois centímetros, como ocorre em *Tibouchina stenocarpa* (M.B.L.B. Sartor, com. pess.).

A frequência dos visitantes de *Cambessedesia hilariana* na população estudada intensifica-se por volta das 10:00 h, quando as temperaturas começam a se elevar. O comportamento de vibração das abelhas para a coleta de pólen está também relacionado com a termorregulação corpórea (Buchmann 1983). Dessa forma, esse método de coleta parece estar mais apropriado aos horários com temperaturas mais amenas do dia (Renner 1989) ou ao nascer do sol como ocorre em espécies de Melastomataceae de restinga (M.C.B. Pinheiro, com. pess.), local em que as temperaturas são bastante elevadas logo nas primeiras horas da manhã. O local em que se encontra a população estudada situa-se em ambiente aberto e no topo de morro (880 m de altitude), apresentando temperaturas mais baixas quando comparadas às das localidades nas baixadas, o que pode explicar o tardio início da atividade de forrageio das abelhas.

O comportamento de coleta do pólen das espécies estudadas, com exceção de *Melitoma segmentaria* e *Tapinotaspis* sp., foi eficaz na polinização de *C. hilariana*, pois as abelhas conseguiam efetivamente retirar o pólen e transferi-lo para a superfície estigmática em apenas uma visita. A eficiência das visitas é aumentada quando as abelhas

agarram todos os estames, pois conseguem coletar maior quantidade de pólen evitando seu desperdício. O comportamento de coleta de pólen, baseado na vibração da musculatura, é uma característica que se desenvolveu independentemente nos diversos grupos de abelhas (Buchmann 1983). Assim, as abelhas visitantes, com exceção das espécies de *Augochloropsis* aqui consideradas pilhadoras, são polinizadores em potencial de *C. hilariana* por apresentarem tamanho e comportamento adequados à morfologia floral (Bawa & Webb. 1984), ou seja, as abelhas aqui consideradas de médio e grande porte são capazes de agarrar todos os estames quando pousam na flor e contatar o estigma.

Centris sp. foi o visitante cujo comportamento de forrageio favoreceu, aparentemente, o transporte de pólen entre flores do mesmo indivíduo, o que pode explicar a baixa formação de frutos (38,46%) e sementes desenvolvidas (20,34%) em uma visita. Essas porcentagens conferem a *Centris* sp. a menor contribuição para o sucesso reprodutivo de *C. hilariana* de todo o grupo de abelhas polinizadoras, apesar de ter apresentado a maior frequência de visitação (50,65%). *Euglossa cordata*, porém, foi a espécie de abelha cujas visitas resultaram nas maiores porcentagens de frutos (69,23%) em uma visita, porém, apenas 22,85% dos óvulos formaram sementes nestes frutos, porcentagem próxima aos valores observados como consequência das visitas de *Centris* sp. Entretanto, os valores de formação de sementes são consideravelmente mais altos quando *Euglossa cordata* visita pela segunda vez a mesma flor (45,12%). Assim, considera-se que *E. cordata* dê maior contribuição do que *Centris* sp. no que diz respeito à porcentagem de frutos formados, mas que tem a sua eficiência muito aumentada na segunda visita quanto à porcentagem de

sementes formadas por fruto. Destacam-se ainda as taxas de formação de sementes decorrentes de visitas de *Xylocopa* sp. como as maiores encontradas em uma única visita (65,42%). Dessa maneira, *Xylocopa* sp. pode ser considerada a espécie polinizadora que mais contribui com o sucesso reprodutivo de *C. hilariana* nesta população, pois, apesar de apresentar frequência de visitas (18,49%) bem menor que *Centris* sp. (50,65%), apresenta a maior contribuição quanto à formação de sementes em uma única visita (65,42%).

De um modo geral, a porcentagem de frutos formados por cada espécie de abelha em uma e duas visitas foi semelhante, mas ocorreu aumento grande no número de sementes formadas (com exceção de *Centris* sp.) quando a abelha repete a visita, em especial para *Centris* cf. *nitens*, cuja segunda visita aumentou em cerca de 57,26% as sementes. Esse aspecto, no qual as flores que recebem polinização suplementar podem ter sua fertilidade aumentada, foi demonstrado por Burd (1994), cujas espécies aumentaram em até 62% as taxas de fertilização. As taxas de frutificação decorrentes de visitas de *Bombus morio* foram semelhantes às de *Xylocopa* sp., mas as taxas de formação de sementes por fruto são menores como decorrência de visitas da primeira espécie. As diferentes taxas de sementes formadas como decorrência de visitas de espécies de abelhas que, a princípio, possuem características morfológicas e comportamentais adequadas à polinização de *C. hilariana*, pode ser explicada pela eficiência na retirada de pólen das anteras, ou seja, a fertilidade de espécies cuja síndrome de polinização é vibrátil pode ter como fator crítico a limitação de pólen associada com a liberação gradual de pólen das anteras poricidas (Larson & Barret 1999).

Assim, faz-se necessária a verificação da porcentagem de sementes formadas e viáveis para que seja demonstrada a eficiência dos polinizadores. Como demonstrado neste estudo, as abelhas podem ser responsáveis por altas taxas de frutos que contém poucas sementes, talvez porque essas abelhas tenham trazido grande quantidade de pólen endógeno, como é o caso de *Centris* sp.

Dessa forma, durante o período de floração na população estudada, foram consideradas polinizadores de grande importância para o sucesso reprodutivo de *Cambessedesia hilariana*: *Xylocopa* sp., *Centris* cf. *nitens*, e *Bombus morio* levando-se em conta a porcentagem de frutos e sementes formados em uma e duas visitas e a frequência total ao longo da floração; *Centris* sp., por sua alta frequência de visita na população; e *Euglossa cordata* por promover altas taxas de formação de frutos e sementes. Todas as espécies de abelhas polinizadoras de *C. hilariana* contribuem de maneira que as altas taxas de formação de frutos e sementes sejam mantidas durante toda a floração, cada qual em um período do ano e com suas características como polinizadores.

Em condições naturais, diferentes espécies de abelhas, ainda que pouco frequentes, podem visitar a mesma flor, o que pode contribuir para o aumento na porcentagem de óvulos fertilizados e explicaria o fato de ca. de 50% dos frutos de *C. hilariana* terem em média 50% de seus óvulos desenvolvidos em sementes. A mesma espécie de abelha raramente visita a mesma flor num mesmo dia, não sendo observadas visitas repetidas do mesmo indivíduo de abelha à uma única flor. Ainda que fizerem re-visitas, as fazem com grande intervalo de tempo, ultrapassando pelo menos cinco horas. Alguns

experimentos têm demonstrado que as abelhas se utilizam de marcas de odor como repelente e/ou atração usadas na exploração dos recursos florais (Schmitt & Bertsch 1990). As abelhas solitárias usam marcas de dois tipos ou de um tipo com dois componentes: (i) marcas de atração se a flor estiver no seu território, ou foi conveniente em sua rota ou ainda se apresentar recursos em grande quantidade. Este tipo de marca teria uma taxa de declínio lenta e seria provavelmente reconhecida individualmente; (ii) marca de odor repulsivo, utilizado em flores recentemente visitadas: sua taxa de declínio seria relativamente mais rápida (Dukas & Real 1991). Aparentemente, essas marcas não são individuais ou espécie-específicas, mas marcas generalizadas, às quais outras espécies também respondem e que podem ter períodos de duração que variam de minutos a muitos dias (Gilbert *et al.* 2001). Em *Cambessedesia hilariana*, as marcas de odor podem sinalizar a ocorrência de visita prévia a determinada flor e, frente à grande quantidade de flores disponíveis, permitirá aos visitantes a coleta de pólen em flores intocadas, assegurando o menor tempo gasto com a manipulação das anteras, uma vez que, em espécies com anteras poricidas, o pólen é liberado mais facilmente nas primeiras visitas, exigindo maior tempo de manipulação das anteras pelas abelhas a cada visita subsequente (Buchmann 1983). Como consequência da longa pausa entre visitas a xenogamia é favorecida, aumentando a porcentagem de sementes com maior variabilidade genética. É necessário ressaltar que o baixo número de flores amostradas para as visitas de abelhas decorre da conveniência e das condições de amostragem em campo, uma vez que havia a necessidade de que a flor

selecionada para o experimento fosse visitada. Assim, é preciso aumentar o número amostral para que haja maior confiabilidade dos resultados.

Os mecanismos de reprodução de *Cambessedesia hilariana* envolvem as seguintes características:

- (i) favorecimento de frutos que contenham sementes provenientes de polinização cruzada;
- (ii) formação de frutos com, no mínimo, 20% de sementes formadas em uma visita de qualquer espécie de polinizador, ainda que seja o menos eficiente;
- (iii) manutenção de frutos com quantidades baixas de sementes (ca. 20%);
- (iv) baixas taxas de re-visitas dos seus polinizadores;
- (v) altas taxas de germinação de sementes (80 a 100%).

Todos esses fatores constituem a adaptação de *Cambessedesia hilariana* ao ambiente em que se encontra, refletida em seu grande sucesso reprodutivo.

Referências Bibliográficas

- Alexander, M.F., 1980. A versatile stain for pollen, fungi, yeast and bacteria. **Stain Technology** 55: 13-18.
- Almeda, F., 1978. Systematics of the genus *Monochaetum* (Melastomataceae) in Mexico and Central America. **Univ. Calif. Publ. Bot.** 75: 1-134.
- Almeda, F. & Martins, A.B., 2001. New combinations and new names in some Brazilian Microliceae (Melastomataceae), with notes on the delimitation of *Lavoisiera*, *Microlicia*, and *Trembleya*. **Novon** 11: 1-7.
- Bawa, K.S. & Webb, C.J., 1984. Flower, fruit and seed abortion in tropical forest trees: implications for the evolution of paternal and maternal reproductive patterns. **Amer. J. Bot.** 71(5): 736-751.
- Bertin, R.I., 1982. Paternity and fruit production in trumpet creeper (*Campsis radicans*). **Amer. Nat.** 119: 694-709.
- Bertin, R.I., Barnes, C. & Guttman, S.I., 1989. Self-sterility and cryptic self-fertility in *Campsis radicans* (Bignoniaceae). **Bot. Gaz.** 150: 397-403.
- Bertin, R.I. & Sullivan, M., 1988. Pollen interference and cryptic self-fertility in *Campsis radicans*. **Am. J. Bot.** 75: 1140-1147.
- Buchmann, S.L., 1983. Buzz pollination in Angiosperm, *In*: Jones, C.E. Little, R.J. (eds), **Handbook of experimental pollination biology**. Van Nostrand Reinhold, New York. p. 294-309.
- Buchmann, S.L. & Hurley, J.P., 1978. A biophysical model for buzz pollination in Angiosperms. **J. Theor. Biol.** 72: 639-657.

- Buchmann, S.L., Jones, C.E. & Colin, L.J., 1977. Vibratile pollination of *Solanum douglasii* and *S. xanti* (Solanaceae) in southern California. **Wasmann J. Biol.** **35**: 1-25.
- Burd, M., 1994. Bateman's principle and plant reproduction: the role of pollen limitation in fruit and seed set. **Bot. Rev.** **60**: 83-139.
- Casper, B.B. & Wiens, D., 1981. Fixed rates of random ovule abortion in *Cryptantha flava* (Boraginaceae) and its possible relation to seed dispersal. **Ecology**, **62**: 866-869.
- Dafni, A., 1992 . **Pollination ecology: a practical approach**. Oxford University Press, New York. 250p.
- Dukas, R. & Real, L.A., 1991. Learning foraging tasks by bees: a comparison between social and solitary species. **Animal Behaviour**, **42**: 269-276.
- Faegri, K. & van der Pijl, L., 1979. **The principles of pollination ecology**. Pergamon Press, Oxford. 244 p.
- Gentry, A.H., 1974. Flowering phenology and diversity in tropical Bignoniaceae. **Biotropica** **6(1)**: 64-68.
- Gilbert, F., Azmeh, S., Barnard, C., Behnke, J., Collins, S.A., Hurst, J. & Shuker, D., 2001. Individually recognizable scent marks on flowers made by a solitary bee. **Animal Behaviour**, **61**: 217-229.
- Goldenberg, R. & Shepherd, G.J., 1998. Studies on the reproductive biology of Melastomataceae in "cerrado" vegetation. **Pl. Syst. Evol.**, **211**: 13-29.
- Goldenber, R. & Varassin, I.G., 2001. Sistemas reprodutivos de espécies de Melastomataceae da Serra do Japi, Jundiá, São Paulo, Brasil. **Rev. Bras. Bot.**, **24(3)**: 283-288.

- Gross, C.L., 1993. The breeding system and pollinators of *Melastoma affine* (Melastomataceae), a pioneer shrub in Tropical Australia. **Biotropica**, **25**: 468-473.
- Guimarães, R.J.F. & Ranga, N.T., 1993. Sistema de reprodução de *Rhynchanthera dichotoma* (Lam.)DC. (Melastomataceae). **Acta Bot. Bras.** **11**: 41-44.
- Gumbert, A., 2000. Color choices by bumble bees (*Bombus terrestris*): innate preferences and generalization after learning. **Behav. Ecol. Sociobiol.**, **48**: 36-43.
- Harder, L.D. & Barrett, S.C.H., 1996. Pollen dispersal and mating patterns in animal-pollinated plants. *In*: D.G. Lloyd, S.C.H. Barrett (eds.). **Floral Biology**. Chapman & Hall. New York. p.140-190.
- Heslop-Harrinson, J., 1979. An interpretation of hydrodynamics of pollen. **Amer. J. Bot.** **66(6)**: 737-743.
- Holsinger, K.E., 1996. Pollination Biology and the evolution of mating systems in flowering plants. *In*: M.K. Hecht, *et al* (eds.). **Evolutionary Biology**. Plenum Press, New York. p.107-149.
- Kevan, P.G. & Baker, H.G., 1983. Insects as flower visitors and pollinators. **Ann. Ver. Entomol.** **28**: 407-453.
- Klekowski, E.J.Jr., 1988. **Mutation developmental selection and plant evolution**. Columbia University Press, New York.
- Korbecka, G., Klinkhamer, P.G.L. & Vrieling, K., 2002. Selective embryo abortion hypothesis revisited - a molecular approach. **Plant Biol.**, **4**: 298-310.
- Larson, B.M.H. & Barrett, S.C.H., 1999. The ecology of pollen limitation in buzz-pollinated *Rhexia virginica* (Melastomataceae). **Jour. Ecol.**, **87**: 371-381.

- Martin, F.W., 1959. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. **Stain Technol.**, **34**: 125-128.
- Martins, A.B., 1984. **Revisão taxonômica do gênero *Cambessedesia* DC. (Melastomataceae).** Dissertação apresentada ao Departamento de Botânica para obtenção do Título de Mestre em Biologia Vegetal. UNICAMP, SP.
- Melo, G.F. & Machado, I.C., 1996. Biologia da reprodução de *Henriettea succosa* DC. (Melastomataceae). **Rev. Bras. Biol.** **56(2)**: 383-389.
- Melo, G.F. & Machado, I.C., 1997. Auto-incompatibilidade em *Miconia ciliata* (L.C.Rich.)DC. (Melastomataceae). **Acta Bot. Bras.** **12**: 113-120.
- Newstrom, L.E., Frankie, F.W. & Baker, H.G., 1994. A new classification for plant phenology based on flowering patterns in lowland tropical rain forest trees at La Selva, Costa Rica. **Biotropica**, **28(2)**: 180-191.
- Nic Lughadha, E. 1998. Preferencial outcrossing in *Gomidesia* (Myrtaceae) is maintained by a post-zygotic mechanism. *In*: S.J. Owens and P.J. Rudall (eds.). **Reproductive biology**. Royal Botanic Gardens, Kew. p. 363-379.
- Olmstead, R.G., 1989. The origin and function of self-incompatibility in flowering plants. **Sex. Plant. Reprod.** **2**: 127-136.
- Proctor, M. & Yeo, P., 1972. **The pollination of flowers**. Taplinger Publ. Company, New York. 418p.
- Rathcke, B. & Lacey, E.P., 1985. Phenological patterns of terrestrial plants. **Ann. Ver. Ecol. Syst.**, **16**: 179-193.

- Renner, S.S., 1989. A survey of reproductive biology in Neotropical Melastomataceae and Memecylaceae. *Ann. Missouri Bot. Gard.*, **76(2)**: 496-518.
- Renner, S.S., 1993. Phylogeny and classification of the Melastomataceae and Memecylaceae. *Nordic. J. Bot.* **13**: 519-540.
- Richards, A.J., 1997. *Plant breeding systems*. George Allen & Unwin Ltd., London. 529p.
- Sage, T.L., Bertin, R.I. & Williams, E.G., 1994. Ovarian and other late-acting self-incompatibility systems. *In*: E.G. Williams, A.E. Clarke & R.B. Knox (eds). *Genetic control of self-incompatibility and reproductive development in flowering plants*. Kluwer Dordrecht. p. 116-140
- Schmitt, U. & Bertsch, A., 1990. Do foraging bumblebees scent-mark food sources and does it matter? *Oecologia*, **82**: 137-144.
- Seavey, S.R. & Bawa, K.S., 1986. Late-acting self-incompatibility in Angiosperms. *Bot. Review*, **52**: 195-219.
- Stephenson, A.G. & Bertin, R.I., 1983. Male competition, female choice and sexual selection in plants. *In*: L. Real (ed.). *Pollination Biology*. Academic Press, Orlando/ Florida Inc. p. 110-149.
- Stephenson, A.G., Good, S.V. & Vogler, D.W., 2000. Interrelationships among inbreeding depression, plasticity in the self-incompatibility system, and the breeding system of *Campanula rapunculoides* L. (Campanulaceae). *Annals of botany* **85(sA)**: 211-219.
- Thorp, R.W., 1979. Structural, behavioral, and physiological adaptations of bees (Apoidea) for collecting pollen. *Ann. Miss. Bot. Gard.* **66**: 788-812.
- Vogel, S.T., 1978. Evolutionary shifts from reward to deception in pollen flowers. *In*: A.J. Richards (ed.) *The pollination of flowers by insects*. Academic Press, London. p. 89-95.

Waser, N.M. & Price, M.V., 1983. Optimal and actual outcrossing in plants, and the nature of plant-pollinator interaction. *In: C.E. Jones and R.J. Little (eds). Handbook of experimental pollination biology*. Van Nostrand Reinhold, New York. p. 341-359.

Wiens, D., 1984. Ovule survivorship, brood size, life history, breeding systems, and reproductive success in plants. *Oecologia*, **64**: 47-53.