

ANA MARIA FRANCO

**BIOLOGIA REPRODUTIVA DE TRÊS ESPÉCIES DE MELASTOMATACEAE (*Tibouchina cerastifolia* Cogn., *T. clinopodifolia* Cogn. e *T. gracilis* Cogn.) NOS MANANCIAIS DA SERRA, PIRAQUARA, PARANÁ**

**Curitiba**

**2007**

ANA MARIA FRANCO

**BIOLOGIA REPRODUTIVA DE TRÊS ESPÉCIES DE MELASTOMATACEAE (*Tibouchina cerastifolia* Cogn., *T. clinopodifolia* Cogn. e *T. gracilis* Cogn.) NOS MANANCIAIS DA SERRA, PIRAQUARA, PARANÁ**

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ecologia e Conservação, Curso de Pós-graduação em Ecologia e Conservação, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Dra. Isabela Galarda Varassin  
Co-orientador: Dr. Renato Goldenberg

**Curitiba**

**2007**

“O amor, o trabalho e o conhecimento são as fontes de nossa vida.  
Devem também governá-la.”

WILHELM REICH

Dedico este trabalho a todas as abelhas e plantas que participaram deste estudo e que não resistiram vivas até o término.

## AGRADECIMENTOS

Para um trabalho feito a muitas mãos, agradeço:

De coração à Professora Isabela por me receber abertamente para me orientar e pelo companheirismo ao longo de todo este trajeto, tanto no campo como no laboratório.

Ao Professor Renato Goldenberg pela prontíssima co-orientação e ajuda na identificação das plantas.

Ao Professor Gabriel A. R. Melo pela identificação das abelhas.

Ao Dr. Antonio J.C. Aguiar pela identificação da *Trigonopedia* sp.

Ao Prof. Dr. Nogueira do Setor de Florestas da UFPR pela disposição de seu laboratório para os experimentos de germinação das sementes.

À Professora Queila da UFMG, pelos experimentos de germinação.

Especialmente à Sanepar pela autorização e na manutenção das áreas de coleta.

Com muito carinho à Bióloga Ana Cristina do R. Barros da Sanepar.

Ao Prof. Dr. Marco Randi pelo empréstimo do laboratório de fluorescência.

Ao companheirismo do Zé durante todo o mestrado.

À coordenação do Mestrado em Ecologia e Conservação pela disponibilidade em todos os momentos que precisei.

A todos aqueles que eu não me lembro neste sórdido momento em que a massa cinzenta já falha e os nervos estão à flor da pele antes de uma defesa de dissertação. Muito Obrigada.

## SUMÁRIO

<b>LISTA DE TABELAS.....</b>	<b>vii</b>
<b>LISTA DE FIGURAS.....</b>	<b>viii</b>
<b>RESUMO.....</b>	<b>ix</b>
<b>ABSTRACT.....</b>	<b>x</b>
<b>1. INTRODUÇÃO.....</b>	<b>1</b>
<b>2. MATERIAL E MÉTODOS.....</b>	<b>4</b>
<b>2.1. Área de estudo.....</b>	<b>4</b>
<b>2.2. Espécies estudadas.....</b>	<b>5</b>
<b>2.3. Sistema reprodutivo.....</b>	<b>5</b>
<b>2.4. Visitantes Florais.....</b>	<b>7</b>
<b>2.5. Germinação das sementes.....</b>	<b>8</b>
<b>2.6. Análise de Dados.....</b>	<b>9</b>
<b>3. RESULTADOS.....</b>	<b>10</b>
<b>3.1. Sistema reprodutivo.....</b>	<b>10</b>
<b>3.2. Visitantes florais.....</b>	<b>11</b>
<b>3.3. Eficiência do polinizador.....</b>	<b>15</b>
<b>3.4. Germinação.....</b>	<b>16</b>
<b>4. DISCUSSÃO.....</b>	<b>17</b>
<b>5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....</b>	<b>27</b>

## LISTA DE TABELAS

<b>Tabela 1.</b> Sucesso reprodutivo (%) nas polinizações controladas em três espécies de <i>Tibouchina</i> .....	34
<b>Tabela 2.</b> Frequência de avistamento dos visitantes florais das três espécies do gênero <i>Tibouchina</i> .....	35
<b>Tabela 3.</b> Resultados de regressões lineares entre o tempo de permanência das abelhas nas flores pelos dois fatores medidos: T – temperatura e UR – umidade relativa.....	36
<b>Tabela 4.</b> Eficiência dos polinizadores na produção de frutos após apenas uma visita em <i>T. cerastifolia</i> , <i>T. clinopodifolia</i> e <i>T. gracilis</i> .....	37

## LISTA DE FIGURAS

<b>Figura 1.</b> Flor de <i>T. clinopodifolia</i> e espécies de abelhas em comportamento de vibração das anteras em <i>T. cerastifolia</i> .....	38
<b>Figura 2.</b> Espécies de abelhas em comportamento de vibração das anteras em <i>T. gracilis</i> .....	39
<b>Figura 3.</b> Fotomicrografia obtida por microscopia de fluorescência mostrando crescimento do tubo polínico em <i>T. clinopodifolia</i> e <i>T. gracilis</i> .....	40
<b>Figura 4.</b> Número de avistamentos das espécies de abelhas ao longo do período da manhã em flores de <i>T. cerastifolia</i> .....	41
<b>Figura 5.</b> Número de avistamento das espécies de abelhas ao longo do período da manhã às flores de <i>T. clinopodifolia</i> .....	42
<b>Figura 6.</b> Número de avistamentos das espécies de abelhas ao longo do período da manhã em <i>T. gracilis</i> .....	43
<b>Figura 7.</b> Tempos de permanência na flor de <i>B. atratus</i> relacionados a umidade relativa em <i>T. gracilis</i> .....	44
<b>Figura 8.</b> Tempos de permanência de <i>M. marginata</i> relacionados negativamente a umidade relativa em <i>T. cerastifolia</i> .....	45

## RESUMO

A biologia floral de três espécies simpátricas de Melastomataceae (*Tibouchina cerastifolia*, *T. clinopodifolia* e *T. gracilis*) foi estudada em uma área de Floresta Atlântica, Paraná, Brasil. Foram realizados experimentos de polinização controladas nos indivíduos em ambiente natural. Os resultados dos experimentos apontam que as espécies não são apomíticas, são auto-compatíveis sendo importante a presença de vetores de pólen para que a polinização ocorra efetivamente. Foram analisados por microscopia de fluorescência, o crescimento dos tubos polínicos, provenientes das polinizações automanual e polinização cruzada, constatando-se que eles se desenvolveram entre 12h e 48 h após a fertilização. Foram encontradas 11 espécies de visitantes florais, sendo que principal espécie polinizadora e mais freqüente foi *Bombus atratus* nas três espécies de planta, seguidas por *Melipona marginata* e *Trigonopedia* sp.. O comportamento básico dos polinizadores foi observado e, predominantemente, não foi influenciado pela umidade relativa e pela temperatura do ar. O pico de atividade de *B. atratus* se concentrou nas primeiras horas da manhã, enquanto as outras espécies de tamanho mais reduzido se concentraram em horas mais quentes do dia. Provavelmente seja influenciado por fatores bióticos decorrentes das maiores concentrações de pólen nas primeiras horas do dia. As espécies de abelhas mais eficientes na produção de frutos foram *Bombus atratus* nas três espécies de planta, seguidas por *Melipona marginata* e *Trigonopedia* sp. para *T. clinopodifolia* e *T. gracilis*. Os testes de germinação indicam que as sementes são fotoblásticas positivas e possuem temperatura ótima de germinação a 25°C.

**PALAVRAS-CHAVE:** abelhas, germinação, polinização, auto-compatibilidade

## ABSTRACT

The reproductive biology of three synchronopatric species of Melastomataceae, (*Tibouchina cerastifolia*, *T. clinopodifolia* e *T. gracilis*), was studied in an area of the Atlantic Rainforest, state of Paraná, Brazil. The floral reproductive experiments were conducted under natural conditions. The results pointed out the three species were able to reproduce sexually by selfing or outcrossing, but were dependent of pollen vectors to pollination due to the herkogamy. The analysis was conducted of the pollinic tube growing under manual selfing and outcrossing conditions with a fluorescence microscope, showing that they developed between 12h and 48h after fertilization. The flowers were visited by a wide range of bee species, causing many overlapping on the flower resource (pollen). It totaled 11 species of bees, in which the most important pollinator was *Bombus atratus*, followed by *Melipona marginata* and *Trigonopedia* sp.. *B. atratus* was the most active in the first hours of the day, whereas the other and species were most active in the hottest hours of the day. The time spent by bees on flowers was not affected by environmental factors, like air humidity and air temperature, suggesting that bee assemblage visiting the three species were under the influence of biotic factors. This activity was likely due to the higher concentrations of pollen in the first hours of the day. About the fruit production, *B. atratus* was the most efficient in the three species of Melastomataceae, followed by *M. marginata* and *Trigonopedia* sp. to *T. clinopodifolia* and *T. gracilis*. The seed germination behaves as expected to pioneer species, with an optimal temperature at 25°C and in the presence of light.

**KEY-WORDS:** bees, germination, pollination, self-compatibility

## 1. INTRODUÇÃO

Melastomataceae é constituída por 166 gêneros e aproximadamente 4.500 espécies, concentradas principalmente nas Américas, onde são conhecidas cerca de 2.950 espécies (Renner 1993). No Brasil, é a sexta família mais diversificada de Angiospermas, com 68 gêneros e mais de 1.500 espécies, que se distribui desde o norte até o sul do país, estando presente na maioria das formações vegetacionais (Romero & Martins 2002).

Melastomataceae tem sido tradicionalmente dividida em 13 tribos (ver Clausen & Renner 2001), porém uma clara delimitação taxonômica destas tribos ainda está por definir (Clausen & Renner 2001, Michellangeli *et al.* 2004, Fritsch *et al.* 2004). *Tibouchina*, gênero pertencente à tribo Melastomeae, apresenta 350 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais das Américas (Wurdack 1962; Sousa 1986).

As espécies de Melastomataceae ocupam ambientes distintos e diversificados, desde herbáceos, arbustivos e arbóreos até os menos comuns como trepadeiras e epífitas (Romero & Martins 2002), sendo que muitas delas são utilizadas com frequência na recuperação de áreas degradadas (Lorenzi 1992).

O sistema reprodutivo predominante nesta família é o xenógamo, com separação espacial entre os estames e o estigma (Renner 1989), havendo a necessidade de vetores de pólen para que ocorra a polinização. Os vetores de pólen mais registrados são as abelhas, embora existam casos de polinização por aves e roedores (Renner 1989) e até por moscas (Goldenberg & Shepherd, 1998). As melastomatáceas geralmente apresentam anteras poricidas (Renner 1989) e seus polinizadores necessitam apresentar mecanismos especiais de extração de pólen (Buchmann 1983). Em função disso, apenas abelhas são capazes de

realizar essa tarefa, pois possuem a capacidade de vibrar seus músculos relacionados ao vôo para a extração do pólen (Buchmann 1983, Renner 1986/1987).

Muitos trabalhos realizados sobre a biologia reprodutiva de espécies de Melastomataceae têm constatado a ocorrência de casos de apomixia (Renner 1989; Goldenberg & Shepherd 1998). A apomixia é um fenômeno pelo qual uma planta é capaz de produzir sementes com embriões viáveis sem que antes houvesse fusão de gametas e formação de zigoto (Nogler 1984; Mogie 1992). Os mecanismos de auto-incompatibilidade e de apomixia são comuns na família, mas geralmente não ocorrem em Melastomeae (Goldenberg & Shepherd 1998).

A importância de espécies de Melastomataceae para conservação de abelhas pode ser julgada a partir de trabalhos realizados em formações neotropicais, como os de Renner (1989) para a Amazônia, e os de Harter *et al.* (2002) para florestas com Araucária no Rio Grande do Sul. Renner (1989) estima que cerca de 27% das espécies que ocorrem naquelas formações forrageiam em Melastomataceae, enquanto que na região estudada por Harter *et al.* (2002) 40% das espécies de abelhas que ocorrem lá visitam plantas de anteras poricidas (Melastomataceae e Solanaceae). Desses 40%, cerca de 30% das abelhas visitam apenas flores de Melastomataceae.

A polinização é um processo ecológico chave nos ecossistemas terrestres, porque determina o sucesso reprodutivo dos constituintes da flora e, portanto, sua capacidade de auto-regeneração natural (Ramalho & Batista 2005). Estima-se que cerca de 92% das espécies de angiospermas dependam de animais para a polinização (Renner 2006). Na floresta pluvial na Costa Rica, mais de 97% das flores são zoófilas, sendo que 34% são polinizadas por abelhas (Kress & Beach 1994).

Por causa de seus impactos na quantidade e distribuição da variação genética dentro e entre populações, os sistemas reprodutivos podem ter um papel importante determinando o desenho e a dimensão das respostas da população para seleção natural e muitos outros traços (Holsinger 2000).

A compreensão tanto dos sistemas reprodutivos das plantas quanto dos polinizadores envolvidos são fundamentais quando se busca propor estratégias para conservação das espécies envolvidas, para as plantas, a necessidade de polinizadores, e para os animais suas fontes de alimento (Ramalho & Batista 2005). Estudos focados em polinização permitem avaliar o grau de especialização dessas interações, o que deve refletir na sensibilidade destas espécies a perturbações (entrada de espécies exóticas ou extinções locais) conforme proposto por Waser *et al.* (1996).

O objetivo geral deste estudo foi estudar a biologia reprodutiva de *Tibouchina cerastifolia* Cogn., *T. clinopodifolia* Cogn. e *T. gracilis* Cogn. (Melastomataceae). Estas espécies são estreitamente aparentadas, pertencentes ao mesmo gênero, coexistem na área de estudo, apresentam sobreposição no período de floração e são visitadas por várias espécies de abelhas. Em função destas observações prévias, foram postas as seguintes questões:

- 1 – Qual o sistema reprodutivo das espécies em foco?
- 2 – Existe sobreposição no uso de polinizadores?
- 3 – Há diferença no uso de recurso floral pelas abelhas?
- 4 – A germinação das sementes é influenciada pela deposição de pólen endógeno e exógeno?

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. ÁREA DE ESTUDO

Este estudo foi desenvolvido nos períodos de fevereiro a abril de 2004, fevereiro a abril de 2005 e de janeiro a abril de 2006 nos Mananciais da Serra – APA da Serra do Mar, município de Piraquara, Paraná. A vegetação predominante é de transição entre Floresta Ombrófila Mista e Floresta Ombrófila Densa Montana. O clima predominante na região é do tipo **Cbf Subtropical Úmido Mesotérmico** (sensu Koeppen) com verões frescos, geadas freqüentes, sem estação seca, cujas médias anuais são: temperaturas dos meses mais quentes inferiores a 22°C e dos meses mais frios inferiores a 18°C; chuvas bem distribuídas, entre 1.300 mm e 1.500 mm; umidade relativa, 85% (FNMA 1996).

Os locais onde as plantas foram estudadas eram ambientes antropizados próximos a estradas e a bordas de florestas, com intensa insolação, podendo sofrer sombreamento em determinadas horas do dia. Esses locais foram abertos a mais de 100 anos para acesso a captação de água da serra para abastecimento de água na cidade de Curitiba. A borda da estrada sofre podas constantes para manutenção do local. Foram estabelecidos ao menos dois sítios de observação constante ao longo do estudo, situados nas seguintes coordenadas: sítio 1 – 25°20' 36,6''S e 48°59'37,9''W com altitude de 981 m e sítio 2 – 25°29'46,7''S e 48°58'53,2''W com altitude de 1013m.

## 2.2. ESPÉCIES ESTUDADAS

*Tibouchina cerastifolia* é uma espécie arbustiva com altura entre 40 e 50 cm, possui flores de pétalas rosadas, com duração de apenas um dia, que não modificam a coloração durante a antese e com diâmetro variando de 20 a 25 mm. Foram observadas flores com estames amarelados e avermelhados e hipanto variando de verde a avermelhado. As plantas desta espécie ocorrem nas bordas da mata onde há espaços (Figura 1).

*Tibouchina clinopodifolia* é uma planta arbustiva com 10 a 30 cm de altura, possui flores pequenas com pétalas de coloração lilás, com duração de um a dois dias, que não modificam a coloração durante a antese e com diâmetro variando de 5 a 10 mm. Foram observadas flores com estames amarelados e hipanto verde. São encontradas nas bordas da mata onde há pouca incidência de sol, com baixo número de indivíduos (Figura 1).

*Tibouchina gracilis* é uma espécie arbustiva com altura aproximada entre 40 a 50 cm, possui flores de pétalas rosadas, com duração de apenas um dia, que não modificam a coloração durante a antese e possuem diâmetro de 30 a 40 mm. As flores observadas continham estames sempre amarelados e hipanto verde. Ocupam áreas abertas com maior incidência de sol, formando agrupamentos com grande número de indivíduos embora, às vezes, ocorrendo isoladamente (Figura 2).

## 2.3. SISTEMA REPRODUTIVO

Para investigação do sistema reprodutivo foram realizadas polinizações controladas com base em cinco tratamentos. Em cada tratamento foram empregadas no mínimo 30 flores. Em *T. clinopodifolia*, usou-se flores de primeiro dia apenas.

1. Controle: os botões foram marcados e acompanhados em condições naturais.
2. Apomixia: foram removidos os estames e o ápice do gineceu, cortando o estilete em botões em pré-antese. Após esse procedimento, os botões foram isolados.
3. Auto-polinização espontânea: os botões foram isolados sem serem manipulados.
4. Auto-polinização manual: as flores foram isoladas na fase de pré-antese e posteriormente polinizadas manualmente com pólen oriundo de flores do mesmo indivíduo, sendo isoladas a seguir.
5. Polinização cruzada: as flores foram isoladas na fase de pré-antese e posteriormente polinizadas manualmente com pólen oriundo de outros indivíduos e, em seguida, isoladas.

O isolamento das flores foi realizado com sacos confeccionados com *voile*. As flores foram marcadas e permaneceram ensacadas por uma semana até o início da formação dos frutos. Todos os cruzamentos foram realizados no período da manhã, entre 9h e 12h. Os frutos foram acompanhados durante um mês até o amadurecimento e posteriormente coletados para realização dos testes de germinação.

Estes ensaios reprodutivos foram acompanhados da observação de tubos polínicos nos tratamentos de autopolinização manual e polinização cruzada. Para cada tratamento foram utilizadas três flores ensacadas em pré-antese. As flores foram coletadas 24 horas e 48 horas após polinizações manuais e fixadas em FAA. As flores foram tratadas em NaOH 6M, a 60°C por 40 min., coradas com azul de anilina e observadas em microscópio de fluorescência, segundo o método de Martin (1959).

O período de floração de *T. gracilis* foi do final do mês de dezembro até o início do mês de março. *T. clinopodifolia* e *T. cerastifolia* iniciaram a floração em janeiro

permanecendo até abril, enquanto. As três espécies apresentaram sobreposição de floração, principalmente no mês de fevereiro.

#### 2.4. VISITANTES FLORAIS

O comportamento dos visitantes florais foi registrado segundo o método do “animal focal” (Dafni, 1992). As atividades dos visitantes florais foram observadas durante o período de floração das espécies, de janeiro a abril de 2005 e de janeiro a abril de 2006, no período da manhã, das 8 às 14 horas perfazendo 6 horas/dia. O período total de observação para cada espécie foi, de 180 horas para *T. cerastifolia*, 180 horas para *T. clinopodifolia* e 144 para *T. gracilis*. O tempo de cada visita e a forma de coleta de recurso (mastigação ou vibração) foi anotado. Concomitadamente foram registradas as variáveis meteorológicas umidade relativa (UR) e temperatura, a cada 30 minutos, ao longo do período de observação da atividade dos visitantes florais. Exemplos de visitantes florais foram coletados com rede entomológica, sacrificados em câmara contendo acetato de etila e posteriormente enviados para identificação por especialistas. O tamanho corporal (comprimento total do corpo, início da cabeça ao final do abdome) das abelhas foi mensurado com auxílio de paquímetro.

Para testar a eficiência de cada polinizador na formação de frutos, foram isoladas flores em pré-antese. As flores foram expostas ao visitante permitindo que ele realizasse apenas uma visita por flor. As flores visitadas foram isoladas e marcadas para o acompanhamento do desenvolvimento dos frutos. A coleta dos frutos foi feita após um mês.

A eficiência dos polinizadores foi avaliada a partir da fecundidade (no. de frutos/ no. de flores) e a partir da taxa de germinação das sementes produzidas.

A frequência dos visitantes florais foi determinada a partir do número total de avisamentos das espécies de abelhas pelo número total de observações em campo (número de registros/ dia).

## 2.5. GERMINAÇÃO DAS SEMENTES

Para *T. cerastifolia*, foram coletados dez frutos de cada tratamento (controle, autopolinização manual, polinização cruzada) antes da deiscência, para a análise de viabilidade das sementes. As sementes de cada fruto foram colocadas para germinar em “gerbox” sobre papel filtro umedecido com água destilada e mantidas em germinador à temperatura de 25°C, com fotoperíodo de 24 horas. As avaliações foram realizadas semanalmente durante um mês. A cada avaliação foram removidas as plântulas provenientes das sementes germinadas. As sementes que não germinaram foram contadas a fim de se obter o número total de sementes por fruto.

Para *T. clinopodifolia* e *T. gracilis* foram utilizadas sementes provenientes dos tratamentos controle (C), autopolinização manual (AM) e polinização cruzada (PC). Foram utilizadas placas de petri revestidas com papel filtro umedecido com água destilada, em quatro repetições de 25 sementes provenientes de dez frutos para cada tratamento. As placas foram colocadas em câmaras de germinação sob temperaturas de 15, 20, 25, 30, 35 e 40°C e fotoperíodo de 12 horas.

## 2.6. ANÁLISE DE DADOS

A diferença na produção de frutos entre os tratamentos dos testes do sistema reprodutivo para cada espécie foi analisada pelo teste de  $\chi^2$ . A relação entre os tempos de permanência das abelhas em cada flor e a produção de frutos foi analisada por teste de regressão linear.

Foi calculado o índice de auto-incompatibilidade (**ISI**, *sensu* Bullock 1985), que é a razão entre a produção de frutos entre os tratamentos de auto-polinização e polinização cruzada, sendo considerado que a razão de 0,25 é o limite superior para espécies auto-incompatíveis.

Para estimar a eficácia das polinizações naturais, foi usado o índice de eficiência reprodutiva, **IER**, (Oliveira & Gibbs 2000), que é a razão entre frutos formados pelo controle e pela polinização cruzada (Zapata & Arroyo 1978).

Para a análise de germinação das sementes, os dados foram transformados em arcoseno e analisados por meio de ANOVA (Zar 1996).

### 3. RESULTADOS

#### 3.1. SISTEMA REPRODUTIVO

Em nenhuma das espécies estudadas ocorreu apomixia, mas todas formaram frutos a partir de autopolinizações manuais, e apenas *T. gracilis* não formou frutos a partir de autopolinizações espontâneas (Tabela 1). Em todas as espécies, o número de frutos formados foi diferente entre os tratamentos (*T. cerastifolia*  $\chi^2= 43,793$ ; GL= 4;  $p < 0,05$ ; *T. clinopodifolia*  $\chi^2= 9,64$ ; GL= 4;  $p=0,047$  e *T. gracilis*  $\chi^2= 48,02$ ; GL= 4;  $p < 0,05$ ). Todas as espécies apresentaram valor de ISI alto, sendo consideradas autocompatíveis e alta eficiência nas polinizações naturais. *T. cerastifolia* apresentou valor do ISI= 0,74 e do IER=0,87. *T. clinopodifolia* apresentou valor do ISI= 0,81 e do IER= 0,75. *T. gracilis* apresentou valor do ISI=1,03 e do IER= 1,04.

Na análise de desenvolvimento de tubos polínicos, em *T. cerastifolia* e *T. clinopodifolia*, foi observado que tanto nas autopolinizações manuais como nas polinizações cruzadas os tubos polínicos germinaram, atingiram o tecido de transmissão e adentraram os óvulos (Figura 3 A e B) em 24 horas. Em *T. gracilis*, nas polinizações cruzadas, houve erro de manipulação no tratamento de 24 horas (ausência de deposição de pólen). No tratamento de 48 horas, foi possível visualizar a germinação e crescimento dos tubos polínicos no estilete, porém houve rompimento da base do estilete e não foi possível visualizar se eles adentram o ovário (Figura 3 C). Nas auto-polinizações manuais após 24 horas e 48 horas não foi possível observar o crescimento dos tubos polínicos em função dos tecidos que envolvem o ovário serem muito espessos, dificultando a visualização.

### 3.2. VISITANTES FLORAIS

Onze espécies de abelhas, pertencentes a nove gêneros distintos, foram registradas visitando as flores das três espécies de *Tibouchina* (Tabela 2). Destas, *Bombus atratus* e *Melipona marginata* foram freqüentes em todas as três espécies e algumas espécies foram vistas esporadicamente (Tabela 2). O número médio das visitas variou entre as espécies de abelhas e para cada espécie de planta (Figura 4, 5 e 6)

*T. cerastifolia* foi a espécie com a fauna associada mais rica, tendo sido encontradas nove espécies de abelhas visitantes em sua flores (Tabela 2, Figura 1). Em *T. clinopodifolia* cinco espécies e em *T. gracilis* foram registradas seis espécies de abelhas (Tabela 2, Figura 2).

Em *T. cerastifolia*, *Augochloropsis* sp.1, *Augochloropsis* sp.2, *Xylocopa artifex*, *Euglossa mandibularis*, *Trichocerapis mirabilis*, apesar de consideradas visitantes esporádicas, podem atuar como polinizadoras. Nesta planta, *Paratrigona subnuda* e *Rophitulus* sp. foram as duas espécies de abelhas que extraem pólen mastigando as anteras, não entrando em contato com o estigma e, portanto, não promovendo a polinização. As outras espécies de abelhas extraem o pólen vibrando as anteras.

Ao longo do período de floração de *T. cerastifolia*, *Augochloropsis* sp.2, *B. atratus*, *M. bicolor* e *M. marginata* (Figura 4) apresentaram maior freqüência de visitas, iniciando as atividades de coleta de pólen entre 8:00h e 9:00h e permanecendo ativas ao longo de toda a manhã. *Bombus atratus*, abelha de grande porte, com aproximadamente 13 mm de comprimento corporal, abordava a flor frontalmente, prendia-se a todos os estames de uma vez, vibrando-os para extrair o pólen nas três espécies de *Tibouchina*, curvando o abdome

em direção aos poros apicais das anteras (Figura 1D e 2B). O pólen aderiu-se ao ventre do abdome da abelha. Durante esse procedimento, ocorria o contato dos grãos de pólen com o estigma, promovendo assim a polinização. Em *T. cerastifolia*, as visitas eram relativamente rápidas, em média 1s em cada flor, enquanto que em *T. clinopodifolia*, 2s. Em *T. clinopodifolia* foi a espécie mais frequente. Nas três espécies de *Tibouchina*, durante as primeiras horas de atividade de coleta de pólen, *B. atratus* permaneceu mais tempo na flor, havendo queda na duração das visitas ao longo da manhã.

Em *T. clinopodifolia*, *B. atratus* sobrevoava as plantas inspecionando algumas flores selecionando as flores de primeiro dia. As flores do dia anterior apresentavam os estames deteriorados e as pétalas caíam facilmente. Seu pico de atividades em *T. cerastifolia* ocorreu entre 8:00h e 9:30h (Figura 4 A), entre 8:00h e 8:30h em *T. clinopodifolia* (Figura 5 A) e *T. gracilis* (Figura 6A). Nestas últimas, a de coleta de pólen por indivíduos de *B. atratus* iniciou-se no período da manhã, entre 7:30h e 8:00h, coincidindo com os primeiros raios solares que incidiam sobre as plantas de *T. gracilis*.

Em geral, o tempo de permanência de *B. atratus* em cada flor das três espécies não foi influenciado pelos fatores abióticos registrados. Porém, a umidade relativa explicou 6,5% da variação do tempo de permanência em *T. gracilis* (Figura 7, Tabela 3). As outras espécies de abelhas registradas em *T. clinopodifolia* não apresentaram amostragem suficiente para análise.

Em *T. cerastifolia*, *M. bicolor*, abelha de médio porte, com aproximadamente 9 mm, abordava a flor frontalmente, prendendo-se aos estames e vibrando de cinco a seis anteras para extrair o pólen. Os grãos de pólen aderiam ao abdome da abelha que se tornava esbranquiçado à medida que ela visitava as flores. O abdome da abelha contactava o estigma promovendo a polinização (Figura 1C). As visitas de *M. bicolor* iniciavam entre 8:00h e

9:00h continuando ao longo da manhã, apresentando dois picos de visitação, um entre 8:30h e 9:00 e, outro, entre 11:00h e 11:30h (Figura 4). Não foram obtidos dados suficientes para análise do tempo de permanência na flor.

*Melipona marginata*, uma abelha de pequeno porte com aproximadamente 7 mm, foi freqüente durante as observações focais. Abordava a flor frontalmente, prendia-se aos estames e vibrava-os. Os grãos de pólen aderidos ao abdome contatavam o estigma, promovendo a polinização (Figura 1B). Em *T. gracilis*, os estames eram presos e vibrados em pequenos feixes (dois ou três) ou um a um (Figura 2C). O pólen aderido ao corpo da abelha era recolhido e depositado nas escopas. A atividade de coleta de pólen iniciava entre 8:00h e 9:00h e se estendia ao longo do período da manhã, sem apresentar picos pronunciados de visitas (Figura 6B) e em *T. clinopodifolia* entre 11:00h e 11:30h. O tempo de permanência de *M. marginata* na flor de *T. cerastifolia* não foi influenciado pela temperatura do ar, mas foi influenciado negativamente pela umidade relativa (Figura 8).

*Augochloropsis* sp.1, *Augochloropsis* sp.2 e *Trigonopedia* sp., espécies de abelhas de pequeno porte, foram observadas com menor freqüência em *T. clinopodifolia* e *T. gracilis*. Porém, *Trigonopedia* sp. foi visitante freqüente em *T. gracilis* (Tabela 2). Em geral, o comportamento dessas abelhas foi semelhante (Figura 2A e 2D). A atividade de coleta de pólen ocorreu ao longo do período da manhã. As visitas dessa abelha foram as mais demoradas, em média 10s em cada flor. Essas espécies de abelhas abordavam as flores frontalmente mas, freqüentemente, pousavam nas pétalas e caminhavam até os estames. Em função do pequeno tamanho da flor de *T. clinopodifolia*, essas abelhas conseguiam prender-se a quase todos os estames de uma vez só, para vibrarem as anteras para a extração do pólen. O abdome das abelhas com pólen aderido contatava o estigma na maioria das visitas, em função da posição central do estigma entre as anteras e do tamanho da flor em relação

ao tamanho das abelhas. Em *T. gracilis*, cuja flor é bem maior, os estames eram presos e vibrados em pequenos conjuntos (2 ou 3) ou um a um. O pólen aderido ao corpo das abelhas era recolhido e depositado nas escopas.

Em *T. cerastifolia*, *Augochloropsis* sp.2, foi a espécie menos freqüente, não apresentando número de indivíduos suficientes para determinar o pico de visitas (Figura 4 D).

Em *T. clinopodifolia* não houve sobreposição entre os picos de atividade de coleta de pólen entre as espécies de abelhas (Figura 5).

### 3.3. EFICIÊNCIA DO POLINIZADOR

Considerando a taxa de sucesso reprodutivo (razão fruto/flor) nos experimentos de primeira visita, *Bombus atratus* foi um eficiente polinizador em todas as espécies de *Tibouchina* (Tabela 4). No entanto outras espécies podem ser tão ou mais eficientes que *B. atratus*. Em *T. cerastifolia*, *B. atratus* apresentou eficiência 68% de produção de frutos com apenas uma visita. Em *T. clinopodifolia*, as abelhas apresentaram diferenças quanto à eficiência na polinização (ANOVA SQ=1726; gl=5; F=102,8; p<0,05). *B. atratus* e *M. marginata* foram as espécies de abelhas mais eficientes na produção de frutos com apenas uma visita, enquanto que *Augochloropsis* sp.2 apresentou um baixo número de frutos formados a partir de uma visita, sendo, portanto menos eficiente na polinização. *Trigonopedia* sp. e *Augochloropsis* sp.1 não visitaram número de flores suficiente para avaliar suas eficiências polinizadoras (Tabela 4).

Em *T. gracilis*, *B. atratus* e *Trigonopedia* sp. foram as espécies de abelhas mais eficientes na produção de frutos com apenas uma visita (ANOVA F=6,39; gl=6; SQ=3515,6; p<0,05), com mais de 93,2% (*B. atratus*) e 78,6% (*Trigonopedia* sp.) de produção de frutos. *M. marginata* foi a terceira espécie de abelha mais eficiente, com 59,3% de produção de frutos com apenas uma visita. *Augochloropsis* sp.1 e *Augochloropsis* sp.2 não produziram frutos com uma única visita (Tabela 4). A observação do comportamento das Halictidae sugere que o tamanho corporal reduzido, em relação às dimensões da flor de *T. gracilis*, dificultava, em várias ocasiões, o depósito dos grãos de pólen aderidos ao corpo sobre o estigma, uma vez que essas abelhas grupo conseguem abraçar apenas uma a duas anteras por vez (Tabela 4).

### 3.4. GERMINAÇÃO

A germinação em *T. cerastifolia* não apresentou diferença entre os tratamentos em temperatura de 25°C e luminosidade constante ( $F=0,85$ ;  $gl=29$ ;  $SQ=11338,39$ ;  $p>0,05$ ).

A taxa de germinação de sementes de *T. clinopodifolia* oriundas de frutos produzidos a partir de polinização em condições naturais variou de 16% a 34% , de frutos oriundos de autopolinização manual, de 30% a 44% e na polinização cruzada de 34% a 49%; com diferenças significativas na faixa de 15°C a 30°C dentro de cada tratamento. Foi observada uma tendência do tempo médio de germinação ser menor nas sementes oriundas de tratamentos de polinização cruzada.

A taxa de germinação das sementes de *T. gracilis* foi diferente nos dois tratamentos examinados. No controle, a taxa de germinação variou de 8% a 52%, sendo os valores semelhantes na faixa de 20°C a 30°C e inferior a 15°C. Na polinização cruzada de 54% a 86%, e na autopolinização manual de 22% a 45%. Estes últimos semelhantes na faixa de 15°C a 30°C. Foi observada uma tendência do tempo médio de germinação ser menor nas sementes oriundas de tratamentos de polinização cruzada.

#### 4. DISCUSSÃO

*Tibouchina cerastifolia*, *T. clinopodifolia* e *T. gracilis* são autocompatíveis, o que é comum em Melastomeae, tribo a qual pertencem, assim como a ausência de apomixia (Goldenberg & Shepherd 1998). A ocorrência de apomixia é maior em espécies que apresentam autoincompatibilidade (Richards 1986), e este padrão é bastante evidente em Melastomataceae (Goldenberg & Shepherd 1998, Goldenberg & Varassin 2001).

Uma vez que não ocorreu a produção de frutos por apomixia nas três espécies estudadas, e que a autopolinização espontânea não ocorre em *T. gracilis*, elas necessitam de abelhas para a reprodução sexuada. Resultados semelhantes foram também observados em estudos com *Tibouchina sellowiana* (Goldenberg & Varassin 2001) e *Tibouchina pulchra* (Silva 2006).

Diferentemente das outras duas espécies estudadas, *T. clinopodifolia* apresenta uma disposição do estigma e das anteras que facilita a autopolinização espontânea. Em *T. cerastifolia*, embora haja separação espacial do estigma e anteras (hercogamia), também ocorre autopolinização espontânea. Essa situação não é comum uma vez que outras espécies do mesmo gênero possuem hercogamia pronunciada, e, onde foram conduzidos experimentos, não ocorre autopolinização espontânea, como em *T. stenocarpa* (Goldenberg 1994), *T. sellowiana* (Schwarzbach 2003) e *T. pulchra* (Silva 2006). Porém, Renner (1989) cita observações feitas por Almeda em 1977 e 1978 da ocorrência de liberação de pólen de anteras poricidas de dois gêneros da tribo Melastomeae por movimentos vigorosos provocados pelo vento ou chuva. Pode ser que fenômeno semelhante tenha ocorrido em *T. clinopodifolia* (que a posição dos órgãos reprodutivos favorece a autopolinização) e *T.*

*cerastifolia*, posto que os locais onde foram feitos os experimentos eram bastante abertos e as plantas foram submetidas a um regime intenso de ventos e chuvas.

A autocompatibilidade garante a segurança reprodutiva (“reproductive assurance” *sensu* Barrett 1998). Para as espécies que apresentam autopolinização espontânea, como *T. cerastifolia* e *T. clinopodifolia*, o sucesso reprodutivo pode ser garantido, mesmo em locais onde ocorra baixo número de visitantes florais nessa espécie. Segundo Gibbs (1990), em terras altas onde o clima é mais frio, como as da área de estudo, espécies auto-compatíveis tendem a ser polinizadas por pequenas abelhas que são polinizadoras menos previsíveis a esta altitude. Apesar disto, durante o período de estudo, grande número de visitas por abelhas, foi registrado nestas espécies. E, embora *T. cerastifolia*, *T. clinopodifolia* e *T. gracilis* sejam espécies autocompatíveis, a presença de vetores de pólen aumenta seu sucesso reprodutivo, uma vez que a taxa de formação de frutos é maior tanto nas autopolinizações manuais, como nas polinizações cruzadas. A limitação reprodutiva pode ser originada na própria população de plantas. Segundo Wells (1979), a autocompatibilidade é vantajosa quando novas populações são fundadas por apenas um indivíduo e a reprodução cruzada é impossível, devido à ausência de outros indivíduos da espécie nas proximidades.

A autocompatibilidade poderá resultar em um excesso de homozigose (Richards 1986). Nesse caso, a necessidade de polinizadores torna-se fundamental para garantir a polinização cruzada e, conseqüentemente, a heterozigose, pois plantas que se reproduzem de forma cruzada têm uma maior representação nos genótipos da população (Holsinger 2000).

A freqüência na progênie de sementes provenientes de polinização cruzada e autopolinização depende de vários fatores (Holsinger 2000). A menos que indivíduos

xenogâmicos tenham de fato maior capacidade de sobreviver e se reproduzir, indivíduos autogâmicos tendem a se espalhar na população, em função de sua capacidade de contribuir na progênie de indivíduos xenogâmicos, ao passo que a contribuição inversa não é possível (Holsinger 2000).

Para espécies que têm características pioneiras, como as aqui estudadas, a possibilidade de autopolinização, tanto espontânea (para duas das espécies), como mediada por vetores de pólen (para todas as espécies), é uma vantagem ecológica para estabelecimento em ambientes novos (Wells 1979, Holsinger 2000).

As espécies estudadas seguem o padrão da maioria das angiospermas, com apenas um tubo polínico produzido por grão de pólen (Richards 1986; Proctor 1996), e crescimento do tubo polínico ocorrendo entre 12h e 48h (Richards 1986).

O comportamento das abelhas observado em *T. cerastifolia*, *T. clinopodifolia* e *T. gracilis* é semelhante ao da maioria das espécies que visitam Melastomataceae neotropicais, que freqüentemente são visitadas por abelhas do gênero *Xylocopa*, *Melipona* e *Augochloropsis* (Renner 1989). As abelhas registradas neste estudo apresentam comportamento de coleta de pólen por vibração das anteras poricidas, comum em muitos grupos de abelhas tropicais (Endress 1994). Esse comportamento também é registrado para o gênero *Solanum* (Solanaceae) (Carvalho *et al.* 2001; Bezerra & Machado 2003). A presença destas anteras poricidas em Melastomataceae resulta em polinização vibrátil dependente de freqüências adequadas de vibração para retirada do pólen (Renner 1986/1987, 1990). O resultado é a restrição a certo grupo de abelhas que possam usar este recurso, limitando o número de potenciais polinizadores.

As abelhas deste estudo aparentam ter comportamento generalista em relação às flores visitadas. Abelhas grandes e pequenas (mamangavas e incluindo os halictídeos), em

estudo realizado na Serra da Bocaina, exibem comportamento de forrageio generalista, visitando flores de diferentes tamanhos, formas e cores, que, em muitos casos são também polinizadas por outros grupos (Freitas & Sazima 2006). Apesar de Endress (1994) afirmar que abelhas pequenas tendem a polinizar flores menores que um centímetro de diâmetro e de cor branca ou creme, neste estudo foram observadas pequenas abelhas (*Trigonopedia* sp. e *M. marginata*) visitando flores de *T. gracilis*, grandes e violáceas, e se comportando como polinizadoras, juntamente com *Augochloropsis* sp.1 e *Augochloropsis* sp.2, embora estas últimas apenas como visitantes. Tem sido observado que este comportamento generalista é típico de espécies brasileiras de *Bombus* (Alves-dos-Santos 1999; Barbola *et al.* 2002).

A maior frequência de visitantes de *T. cerastifolia* ocorreu ao longo do período da manhã, apresentando picos específicos para cada espécie de abelha. Esse comportamento não foi observado em *T. pulchra* por Silva (2006), onde as visitas foram mais intensas por volta das 10:30h e para *Cambessedesia hilariana* por Fracasso (2004) onde o pico de visitas foi por volta dos 10:00h. As abelhas visitantes de *T. clinopodifolia* apresentaram frequência de visitas diferentes ao longo da manhã e em *T. gracilis* a frequência é mais alta nos horários em que as temperaturas são mais amenas e a umidade relativa do ar é mais alta.

*B. atratus* é a mais importante polinizadora nas três espécies de *Tibouchina*. Ela intensificou as visitas nos horários em que as temperaturas são mais amenas e a umidade relativa do ar é mais elevada, como esperado para abelhas do gênero *Bombus*, que possuem atividade de coleta de pólen em temperaturas amenas (Renner 1989). A maioria das espécies deste gênero estão adaptadas a ambientes temperados e realizam suas atividades em temperaturas muito baixas sendo que algumas já foram registradas a 880 Km do Ártico (Barth 1991). Elas são conhecidas como as principais polinizadoras nos ambientes de clima

frio (Kevan *et al.* 1993). As espécies tropicais do gênero *Bombus* também são capazes de voar em temperaturas baixas de até 10°C, tornando-se as principais polinizadoras à medida que se ascende às montanhas neotropicais (Janzen 2003). Nos trópicos, em climas de condições severas, tais como nas altas altitudes brasileiras (e.g., Serra da Bocaina), também apresentam alta importância na polinização (Freitas & Sazima 2006).

As abelhas que apresentaram maior frequência de visitas nos horários, onde houve aumento de temperatura e diminuição da umidade relativa do ar (*M. bicolor* em *T. cerastifolia*, *M. marginata*, *Trigonopedia* sp., *Augochloropsis* sp.1 em *T. clinopodifolia*) podem ter seu comportamento influenciado pela facilidade na obtenção de pólen. Com a baixa umidade relativa, o pólen se desagregaria e facilitaria a retirada das anteras com o comportamento de vibração, o que não aconteceria estando mais úmido nas primeiras horas da manhã.

Entretanto, em *T. gracilis*, houve abelhas que mantiveram as visitas bem distribuídas ao longo de toda a manhã, com exceção de *B. atratus*. A ocorrência deste padrão, predominantemente em *T. gracilis*, pode estar relacionada à maior quantidade de pólen em função do tamanho da flor se comparado às outras duas espécies, embora isto não tenha sido testado. A maior quantidade de pólen diminui o gasto energético na procura por recurso. Outro fator que poderia influenciar é a densidade de indivíduos de *T. gracilis*, que na área de estudo ocorreram, em sua maioria, em grandes aglomerados de vários indivíduos. Em *T. cerastifolia* os indivíduos ocorreram em aglomerados mais esparsos, e em *T. clinopodifolia* os indivíduos ocorreram em aglomerados de poucos indivíduos. Segundo Heinrich (1979), seu estudo com duas espécies de abelhas do gênero *Bombus* (*B. terricola* e *B. vagans*) sugere que, em áreas mais ricas em recurso (néctar), as abelhas reduzem o tempo e a energia gastos em vôo visitando as flores mais próximas. Nos locais

ricos em recurso as abelhas permanecem forrageando até que este comece a esgotar. A partir daí, evitam pousar e sondar flores previamente visitadas e movem-se para longe da área escassa de recurso, visitando flores mais próximas e minimizando o tempo de viagem.

Os picos de visitas de *B. atratus* no início da manhã nas três espécies de *Tibouchina* poderiam estar relacionados à regulação da temperatura corporal (Roubik 1992). Em temperaturas mais altas, próximas ao meio dia, o ambiente se tornaria menos adequado para a abelha. Entretanto, seu tempo de permanência na flor não foi influenciado por fatores abióticos ,exceto a umidade relativa de maneira marginal em *T. gracilis* .

Nas espécies menores, a temperatura corporal poderia ser utilizada para explicar seus picos de visitas em horários mais quentes, já que os mecanismos de regulação de temperatura não são conhecidos para *Apis* e *Bombus* (Roubik 1992). Mas, novamente, a temperatura e a umidade relativa não influenciaram o tempo de permanência na flor, exceto a UR para *M. marginata* em *T. cerastifolia*.

Em *T. gracilis*, há diferença marcante no tempo de permanência na flor entre *B. atratus*, que varia entre 1s a 2s, e nas espécies, *M. marginata*, *Trigonopedia* sp., *Augochloropsis* sp.1 e *Augochloropsis* sp.2, que podem permanecer até 2 minutos. Esse maior tempo de permanência deve estar relacionado ao tamanho das abelhas em relação ao tamanho da flor, forçando a coleta de pólen por vibração de uma antera por vez. Além disto, as vistas podem durar mais em função da pouca quantidade de pólen restante nas anteras, já que as flores de *T. gracilis* são muito visitadas por *B. atratus* nas primeiras horas da manhã, o que diminui a disponibilidade de recurso nas horas subseqüentes. Então, as abelhas menores, mesmo considerando que suas cargas de pólen sejam menores, demandam mais tempo de permanência nas flores a fim de recolher o pólen restante. Os

fatores abióticos não mostraram influência no tempo de permanência das abelhas nas flores, exceto para *B. atratus*, indicando que pode haver fatores biológicos atuando.

Uma única visita de *Bombus atratus* resultou em alto sucesso reprodutivo em todas as espécies. Esse comportamento pode se explicado pela compatibilidade ente o tamanho da flor e o tamanho corporal da abelha que confere a capacidade de deposição de pólen no estigma. Em *T. clinopodifolia*, mesmo com tamanho corporal da abelha maior que o tamanho da flor, ela conseguiu promover a polinização. É possível que em função da menor hercogamia, com a disposição das anteras e do estigma favorecendo a polinização, o tamanho corporal da abelha seja menos importante.

*Melipona marginata* e *Trigonopedia* sp. foram eficientes na polinização de *T. clinopodifolia* e *T. gracilis*, porém esse resultado poderia ser mais confiável caso houvesse um maior número de amostras em *T. clinopodifolia*. *Augochloropsis* sp.2 mostrou ser uma espécie relativamente eficiente na polinização de *T. clinopodifolia*, mas nesse caso há também a necessidade de maior amostragem. Essas três espécies de abelhas possuem o tamanho corporal compatível com o tamanho das flores o que explicaria a alta eficiência como polinizadoras. Em *T. gracilis*, *M. marginata* e *Trigonopedia* sp., mesmo sendo consideradas abelhas pequenas em relação ao tamanho da flor, conseguiram contatar o estigma durante a coleta de pólen, pois elas percorrem a flor à medida em que buscam as anteras para vibração.

Em *T. gracilis*, os halictídeos, *Augochloropsis* sp.1 e *Augochloropsis* sp.2, são consideradas abelhas pilhadoras, pois mesmo apresentando comportamento de vibração das anteras, não conseguem promover a polinização. Isso poderia ser explicado pela diferença entre o tamanho da flor e o tamanho corporal das abelhas. Coleman & Coleman (1982) salientam que, à medida que o tamanho da abelha diminui, a possibilidade de uma abelha

recolher o pólen sem contatar o estigma aumenta. No entanto, *M. marginata* e *Trigonopedia* sp. possuem tamanho semelhante ao das Halictidae e conseguem atuar como polinizadoras. Esse comportamento foi também observado em *T. pulchra* (Silva 2006) e *Cambessedesia hilariana*, onde as abelhas não possuem tamanho adequado para contatar o estigma da flor durante a coleta de pólen, porém possuem comportamento adequado e poderiam ser polinizadoras de espécies de Melastomataceae com flores menores (Fracasso 2004).

Uma coisa que deve ser levada em conta é que como a polinização é por vibração, a nuvem de pólen pode atingir o estigma, sem necessariamente a abelha tocar o estigma. É possível que nas abelhas menores, como elas ficam com o corpo na frente no poro, esta nuvem seja recolhida com mais eficiência, ao passo que em *Bombus*, a nuvem se espalharia antes de atingir o abdome da abelha, facilitando a deposição de pólen no estigma.

Interessante notar que as flores de *T. clinopodifolia* podem durar até dois dias, porém sem apresentar viabilidade e mudança de cor como ocorre com as flores de *T. sellowiana* (Schwarzbach 2003) e *T. pulchra* (Silva 2006) que mudam suas cores de brancas (flor do dia) para púrpura (flores se 2º e 3º dias), possivelmente indicando, assim, a escassez de recursos. As abelhas reconhecem as flores velhas (de dois dias) de *T. clinopodifolia* selecionando as flores de primeiro dia. Isto apoia a hipótese de que outros fatores além da mudança de cor estejam envolvidos no reconhecimento de flores novas.

Os resultados deste estudo apresentam indícios de que a dinâmica dos visitantes florais estaria relacionada a fatores bióticos, principalmente os relacionados à competição. A estratégia das abelhas para minimizar os efeitos da competição direta por pólen nas *Tibouchina* deste estudo seria estabelecer picos de atividade distintos para cada espécie. Estes picos estariam organizados de forma que a espécie de abelha com maior capacidade

de retirar pólen, *B. atratus*, iniciasse as atividades. O pólen restante, que já não se encontraria em quantidades tão vantajosas para *B. atratus*, seria retirado pelas espécies menores que se sucederiam nos horários subseqüentes e cuja quantidade de pólen ainda lhes é rentável.

Outro fator que pode influenciar o sucesso reprodutivo das *Tibouchina* é a sincronia da floração das três espécies estudadas. A sincronia é considerada um tipo de mutualismo floral, onde a partir de um incremento da recompensa para as abelhas, neste caso o pólen, ocorre a promoção da polinização cruzada (Barros 1996). Porém, Proctor *et al.* (1996) afirma que ocorrência de floração simultânea em espécies de plantas que coexistem e atraem as mesmas espécies de polinizadores pode resultar na competição por estes polinizadores. Nas espécies de *Diplusodon* (Lythraceae) no Cerrado brasileiro, a ocorrência de simpatria favoreceu o fluxo indiscriminado de polinização devido à manutenção da fonte alimentar (Barros, 1996). Em bromélias com alta similaridade na época da floração e polinizadas por morcegos, em Floresta Altomontana no Paraná, a sincronia de floração indica elevada sobreposição de nicho (Kaehler *et al.* 2005). Porém, apesar da sobreposição implicar em competição, a protocooperação aparenta ser mais forte pois as espécies se beneficiam da atratividade da floração conjunta, sem haver dependência nesta relação (Pianka 1982 *apud* Kaehler *et al.* 2005).

Luz e temperatura são fatores importantes que podem afetar a germinação das sementes (Labouriau 1983). A luz parece ser o agente que estimula o processo germinativo de muitas Melastomataceae (Andrade & Pereira 1994), uma vez que esta família apresenta muitas espécies com características pioneiras (Baider *et al.* 1999). As sementes das três espécies de *Tibouchina*, deste estudo, se mostraram totalmente sensíveis à luz, não germinando em ausência de luz. Sementes que apresentam tal tipo de resposta, comumente

chamadas fotoblásticas positivas (Vasques-Yanes & Orozco-Segovia 1993; Bewley & Black 1994), são características de espécies pioneiras (Smith 1973). Resultados semelhantes foram encontrados em *T. pulchra* e *T. granulosa* (Zaia & Takaki 1998) e *T. moricandiana* (Andrade & Pereira 1994). O fotoblastismo é, provavelmente, o mais importante mecanismo pelo qual as sementes possam detectar clareiras na vegetação (Zaia & Takaki 1998), principalmente, aquelas provenientes de espécies pioneiras com alta produção de sementes pequenas e com alta longevidade (Souza & Valio 2001) como no caso das espécies estudadas.

## 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves-dos-Santos, I. 1999. Abelhas e plantas melíferas da mata atlântica, restinga e dunas do litoral norte de estado do Rio Grande do Sul, Brasil. *Revista Brasileira de Entomologia* 43: 191-223.
- Andrade, A.C.S. & Pereira, T.S. 1994. Germinação e desenvolvimento pós-seminal de *Tibouchina moricandiana* (DC) Baill. (Melastomataceae). *Acta Botanica Brasilica* 8: 231-239.
- Armbruster, W.S. 1993. Evolution of plant pollination systems hypotheses and tests with the Neotropical wine *Dalechampia*. *Evolution* 47: 1480-1505.
- Baider, C., Tabarelli, M. & Mantovani, W. 1999. O banco de sementes de um trecho de Floresta Atlântica Montana (São Paulo, Brasil). *Revista Brasileira de Biologia* 59: 319-328.
- Barbola, I.F., Laroca, S. & Almeida, M.C. 2000. Utilização de recursos florais por abelhas silvestres (Hymenoptera, Apoidea) da Floresta Estadual Passa Dois (Lapa, Paraná, Brasil). *Revista Brasileira de Entomologia* 44: 9-19.
- Barros, M.A.G. 1996. Biologia reprodutiva e polinização de espécies simpátricas de *Diplusodon* (Lythraceae). *Acta Botânica Mexicana* 37: 11-21.
- Barth, F.G. 1991. *Insect and flowers: the biology of a partnership*. Princeton University Press, Princeton, 408p.
- 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. *American Journal Botany* 71: 736-751.

- Bawa, K.S. 1994. Pollinators of tropical dioecious angiosperms: a reassessment? No, not yet. *American Journal of Botany*, 72: 456-460.
- Bezerra, E.L.S. & Machado, I.C. 2003. Biologia floral e sistema de polinização de *Solanum stramonifolium* Jacq. (Solanaceae) em remanescente de Mata Atlântica, Pernambuco. *Acta Botanica Brasilica* 17: 247-257.
- Bewley, J.D. & Black, M. 1994. *Seeds: physiology of development and germination*. Plenum Press, New York.
- Buchmann, S.L. 1983. Buzz pollination in Angiosperms. *In Handbook of experimental pollination biology* (C.E. Jones & R.J. little, eds.). Van Nostrand Reinhold, New York. P. 73-113.
- Bullock, S.H. 1985. Breeding systems in the flora of a tropical dioecious forest. *Biotropica* 17: 287-301.
- Carvalho, C.A.L.; Marques, O.M.; Vidal, C.A. & Neves, A.M.S. 2001. Comportamento de forrageio de abelhas (Hymenoptera, Apoideae) em flores de *Solanum palinacanthum* Dunal (Solanaceae). *Revista Brasileira de Zoociências* 3: 35-44.
- Clausing, G. & Renner, S.S. 2001. Molecular Phylogenetics of Melastomataceae and Memecylaceae: implications for character evolution. *American Journal of Botany* 88: 486-498.
- Coleman, J.R. & Coleman, M.A. 1982. Reproductive biology of andromonoecious *Solanum* (*Solanum palinacanthum* Dunal.) *Biotropica* 14: 55-87.
- Culley, T.M., Weller, S.G. & Sakai, A.K. 2002. The evolution of wind pollination in angiosperms. *TREE* 17: 361-369.
- Dafni, A. 1992. *Pollination ecology: a practical approach*. Oxford University Press, New York. 250p.

- Endress, P.K. 1994. *Diversity and evolutionary biology of tropical flowers*. Cambridge University Press, Cambridge. 511p.
- FNMA 1996. Manual para recuperação da reserva florestal legal. Curitiba, Paraná. 84 pp.
- Fracasso, C.M. & Sazima, M. 2004. Polinização de *Cambessedesia hilariana* (Kunth) DC. (Melastomataceae): sucesso reprodutivo *versus* diversidade, comportamento e frequência de visitas de abelhas. *Revista Brasileira de Botânica* 27: 794-804.
- Freitas, L. & Sazima, M. 2006. Pollination biology in a tropical high-altitude grassland in Brazil: interaction at the community level. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 93: 465-516.
- Fritsch, P.W.; Almeda, F.; Renner, S.S.; Martins, A.B. & Cruz B.C. 2004. Phylogeny and circumscription of the near-endemic Brazilian tribe Microlicieae (Melastomataceae). *American Journal of Botany* 91: 1105-1114.
- Gibbs, P. 1990. Self-incompatibility in flowering plants: a neotropical perspective. *Revista Brasileira de Botânica* 13: 125-136.
- Goldenberg, R. 1994. Estudo sobre a biologia reprodutiva de espécies de Melastomataceae de Cerrado em Itirapina, SP. Dissertação de mestrado. Unicamp, Campinas. São Paulo.
- Goldenberg, R.; Shepherd, G. J. 1998. Studies on the reproductive biology of Melastomataceae in “cerrado” vegetation. *Plant Systematics and Evolution*. 211: 13-29.
- Goldenberg, R.; Varassin, I. G. 2001. Sistemas reprodutivos de espécies de Melastomataceae da Serra do Japi, Jundiá, São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 24: 283-288.

- Harter, B.; Leistikow, C.; Wilms, W.; Truylio, B. & Engels, W. 2002. Bees collecting pollen from flowers with poricidal anthers in a south Brazilian Araucaria forest: a community study. *Journal of Apicultural Research* 40: 9-16.
- Heinrich, B. 1979. Resource heterogeneity and patterns of movement in foraging bumblebees. *Oecologia* 40:235-245.
- Holsinger, K.E. 2000. Reproductive systems and evolution in vascular plants. *PNAS* 97: 7037-7042.
- Jacobi, C.M.; Carmo, R. & Oliveira, R., 2000. The reproductive biology of two species of *Diplusodon* Pohl (Lythraceae) from Serra do Cipó from southeastern Brazil. *Plant Biology* 2: 1-7.
- Janzen, D.H. 2003. *Ecologia vegetal nos trópicos*. São Paulo: Ed. EPU/EDUSP, 79pp.
- Kaehler, M., Varassin I. G. & Goldenberg R. 2005 Polinização em uma comunidade de bromélias em Floresta Atlântica Alto-montana no Estado do Paraná, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 28: 219-228.
- Kevan, E.A. Tikhmenev & Usui, M. 1993. Insects and plants in the pollination ecology of the boreal zone. *Ecological Research* 8: 247-267.
- Labouriau, I.G. 1983. *A germinação das sementes*. OEA, Washington.
- Lorenzi, H. 1992. *Árvores Brasileiras*. São Paulo, Ed. Plantarum, 368p.
- Martin, F.N. 1959. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Technology* 34: 125-128.
- Michelangeli, F.A.; Penneys, D.S; Giza, J.; Soltis, D.E., Hils, M.H. & Dan Skean Jr., J. 2004. A preliminary phylogeny of the tribe Miconieae (Melastomataceae) based on nrITS sequence data and its implications on inflorescence position. *Taxon* 53: 279-290.

- Mogie, M. 1992. *The evolution of asexual reproduction in plants*. Chapman & Hall, London.
- Nogler, G.A. 1984. Gametophytic apomixis. In: Johri, B.M. (ed.) *Embriology of angiosperms*. Berlin: Springer Verlag: 475-518.
- Oliveira, P.E & Gibbs, P.E. 2000. Reproductive biology of wood plants in a cerrado community of Central Brazil. *Flora* 195: 311-329.
- Proctor, M.; Yeo, P. & Lack, A. 1996. *The natural history of pollination*. Harper Collins publishers, New York. 418p.
- Ramalho, M. & Batista, M. A., 2005. Polinização na Mata Atlântica: perspectiva ecológica da fragmentação. Em: Franke, C.R.; Rocha, P.L.B.; Klein, W. & Gomes, S.L. (org.). *Mata Atlântica e Biodiversidade*: 93-141. 1ed. Editora da UFBA.
- Renner, S.S. 1986/1987. Reproductive biology of *Bellucia* (Melastomataceae). *Acta Amazonica* 16/17: 197-208.
- Renner, S.S. 1989. A survey of reproductive biology in Neotropical Melastomataceae and Memecylaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 76: 469-518.
- Renner, S.S. 1993. Phylogeny and classification of the Melastomataceae and Memecylaceae. *Nord. J. Bot.* 13: 519-540.
- Renner, S.S. & Fiel, J.P., 1993. Pollinators of tropical dioecious angiosperms. *American Journal of Botany* 80: 1100-1107.
- Renner, S.S. 2006. Rewardless flowers in the angiosperms and the role of insect cognition in their evolution. In N Waser & J Ollerton Plant pollinator interactions. From Specialization to Generalization. The university of Chicago Press. Chicago and London. p123-144.

- Romero, R.; Martins, A.B. 2002. Melastomataceae no Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*. 25 (1): 19-24.
- Sousa, M.L.D.R. 1986. Estudo taxonômico do gênero *Tibouchina* Aubl. (Melastomataceae) no Rio Grande do Sul, Brasil. *Insula* 16:110
- Richards, A.J. 1986. *Plant breeding systems*. London: George Allen & Unwin, 529pp.
- Roubik, D.W. 1992. Ecology and natural history of tropical bees. Cambridge University Press, Cambridge. 514p.
- Schwarzbach, S. Biologia reprodutiva de *Tibouchina sellowiana* (Cham.) Cogn. Monografia de Ciências Biológicas. Universidade Federal do Paraná. Curitiba.
- Silva, J.B. 2006. Biologia das interações entre os visitantes florais (Hymenoptera, Apidae) e *Tibouchina pulchra* Cogn. (Melastomataceae). Dissertação de mestrado. Universidade Federal do Paraná. Curitiba.
- Silveira, F.A.O., Negreiros, D. & Fernandes, W. 2004. Influência da luz e da temperatura na germinação de sementes de *Marcetia taxifolia* (A. St.-Hil.) DC. (Melastomataceae). *Acta Botanica Brasilica* 18(4): 847-851.
- Souza, R.P. & Valio, I.F.M. 2001. Germination of seeds of tropical pioneer species under controlled and natural conditions. *Revista Brasileira de Botânica* 24: 79-84.
- Vásques-Yanes, C. & Orozco-Segovia, A. 1993. Patterns of seed longevity and germination in the tropical rain forest. *Annual Review of Ecology and Systematics* 24: 69-87.
- Waser, N.M.; Chitka, L.; Price, M.V.; Williams, N.M. & Ollerton, J. 1996. Generalization in pollination systems, and why it matters. *Ecology* 77: 1043-1060.
- Wells, H. 1979. Self-fertilization: advantageous or deleterious. *Evolution* 33: 255-352.
- Wurdack, J.J. 1962. Melastomataceae of Santa Catarina. *Sellowia* 14: 109-217.

- Zaia, J.E. & Takaki, M. 1998. Estudo da germinação de sementes de espécies arbóreas pioneiras: *Tibouchina pulchra* Cogn. e *Tibouchina granulosa* Cogn. (Melastomataceae). *Acta Botanica Brasilica* 12: 221-229.
- Zapata, T.R. & Arroyo, M.T.K. 1978. Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest in Venezuela. *Biotropica* 10: 221-230.
- Zar, J.H. 1996. *Biostatistical analysis*. 3 ed. Prentice Hall, New jersey.

**Tabela 1.** Sucesso reprodutivo (porcentagem de frutos formados) nas polinizações controladas em três espécies de *Tibouchina*. As letras na coluna à esquerda correspondem a: C: controle, AX: apomixia, AM: auto-polinização manual, AE: auto-polinização espontânea e PC: polinização cruzada. Entre parênteses o número de flores empregado nos tratamentos. ISI: corresponde ao índice de auto-incompatibilidade e IER: índice de eficiência reprodutiva.

<b>Tratamento</b>	<i>T. cerastifolia</i>	<i>T. clinopodifolia</i>	<i>T. gracilis</i>
C	58 (63)	73 (15)	93,8 (48)
PC	67 (46)	96 (30)	89,7 (39)
AM	50 (30)	78 (28)	90,7 (43)
AE	21 (70)	62 (29)	0 (30)
AX	0 (71)	0 (14)	0 (32)
ISI	0,74	0,81	1,03
IER	0,84	0,87	1,04

**Tabela 2.** Visitantes florais das três espécies do gênero *Tibouchina* presentes neste estudo, sendo: **pi** – espécies pilhadoras; **m** – mastigação e **v** – vibração. Os números correspondem à frequência de avisamento das espécies de abelhas ( número de registros/ dia).

Família	Espécie	Espécies			Coleta de pólen
		<i>T. cerastifolia</i>	<i>T. clinopodifolia</i>	<i>T. gracilis</i>	
Anthophoridae					
	<i>Xylocopa artifex</i> Smith, 1874	0,03	-	0,12	v
Apidae					
	<i>Bombus atratus</i> Franklin, 1913	1,96	1,23	5,5	v
	<i>Euglossa mandibularis</i> Friese, 1899	0,03	-	-	v
	<i>Melipona bicolor</i> Lepeletier, 1836	0,4	-	-	v
	<i>Melipona marginata</i> Moure, 1971	0,93	0,1	3,04	v
	<i>Paratrigona subnuda</i> Moure, 1947	0,16 (pi)	-	-	m
	<i>Rophitulus</i> sp.	0,16(pi)	-	-	m
	<i>Trichocerapis mirabilis</i> , Smith 1865	0,03	-	-	v
	<i>Trigonopedia</i> sp.	-	0,23	2,08	v
Halictidae					
	<i>Augochloropsis</i> sp.1	-	0,3	1,12	v
	<i>Augochloropsis</i> sp.2	0,03	0,1	1,08	v

**Tabela 3.** Resultados de regressões lineares entre o tempo de permanência das abelhas nas flores e os dois fatores medidos: T – temperatura e UR – umidade relativa. As espécies de plantas correspondem a TC – *T. cerastifolia*; TCl – *T. clinopodifolia* e TG – *T. gracilis*.

Flores	Abelhas	Fatores	Resultado regressão linear			
			g.l.	F	R <sup>2</sup>	p
TC	<i>B. atratus</i>	T	21	2,30	0,103	0,145
		UR	21	1,55	0,072	0,228
	<i>M. marginata</i>	T	9	0,398	0,05	0,548
		UR*	9	17,20	0,71	0,004
TCl	<i>B. atratus</i>	T	10	0,031	0,003	0,864
		UR	10	0,326	0,107	0,326
TG	<i>A. sp.1</i>	T	10	0,684	0,071	0,313
		UR	10	1,14	0,113	0,429
	<i>B. atratus</i>	T	90	0,031	0,010	0,336
		UR*	90	1,08	0,065	0,014
	<i>M. marginata</i>	T	32	0,100	0,003	0,753
		UR	32	0,308	0,010	0,583
	<i>Trigonopedia</i>	T	18	3,28	0,161	0,088
		UR	18	0,40	0,023	0,534

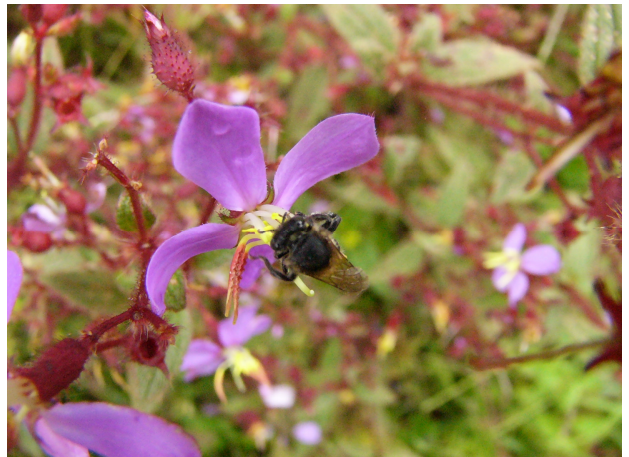
\*regressões significativas

**Tabela 4.** Eficiência dos polinizadores na produção de frutos após apenas uma visita em *T. cerastifolia*, *T. clinopodifolia* e *T. gracilis*.

<b>Polinizador</b>	<b>N° flores</b>	<b>N° frutos</b>	<b>Sucesso (%)</b>
<i>T. cerastifolia</i>			
<i>Bombus atratus</i>	66	45	68,0
<i>T. clinopodifolia</i>			
<i>Bombus atratus</i>	42	39	92,9
<i>Trigonopedia</i> sp.	4	4	100
<i>Augochloropsis</i> sp.1	0	0	0
<i>Augochloropsis</i> sp.2	12	5	41,7
<i>Melipona marginata</i>	9	9	100
<i>T. gracilis</i>			
<i>Bombus atratus</i>	44	41	93,2
<i>Trigonopedia</i> sp.	28	22	78,6
<i>Melipona marginata</i>	54	32	59,3
<i>Augochloropsis</i> sp.1	8	0	0
<i>Augochloropsis</i> sp.2	3	0	0



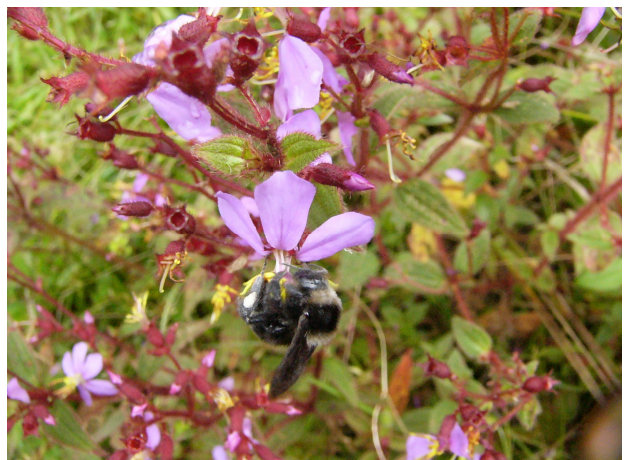
A



B

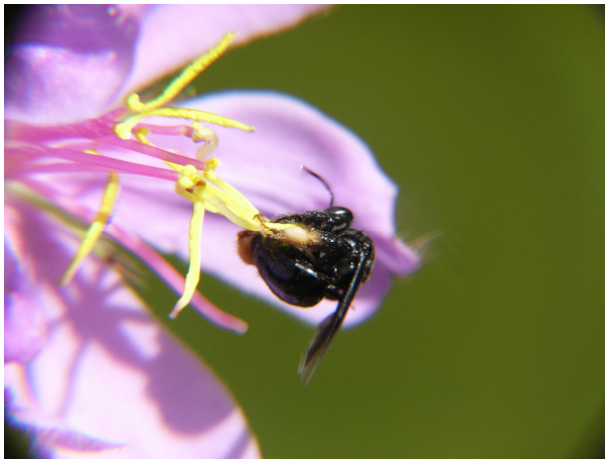


C



D

**Figura 1.** A - Flor de *T. clinopodifolia*. B- *Melipona marginata*, C- *Melipona bicolor* e D- *Bombus atratus* em comportamento de vibração das anteras em *T. cerastifolia*.



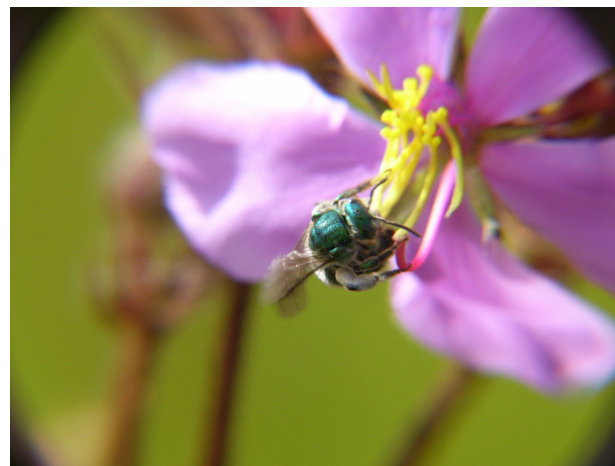
A



B

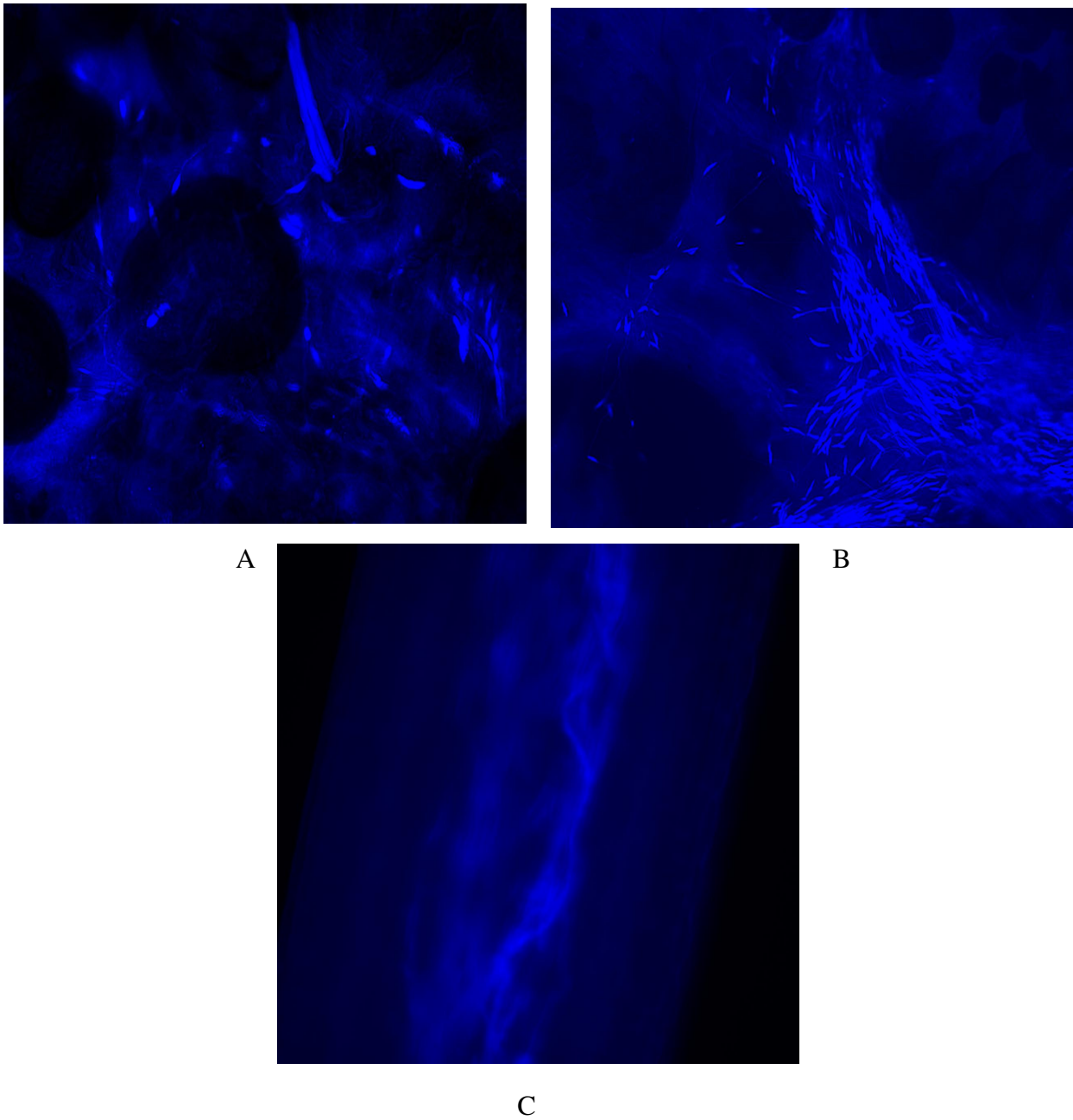


C

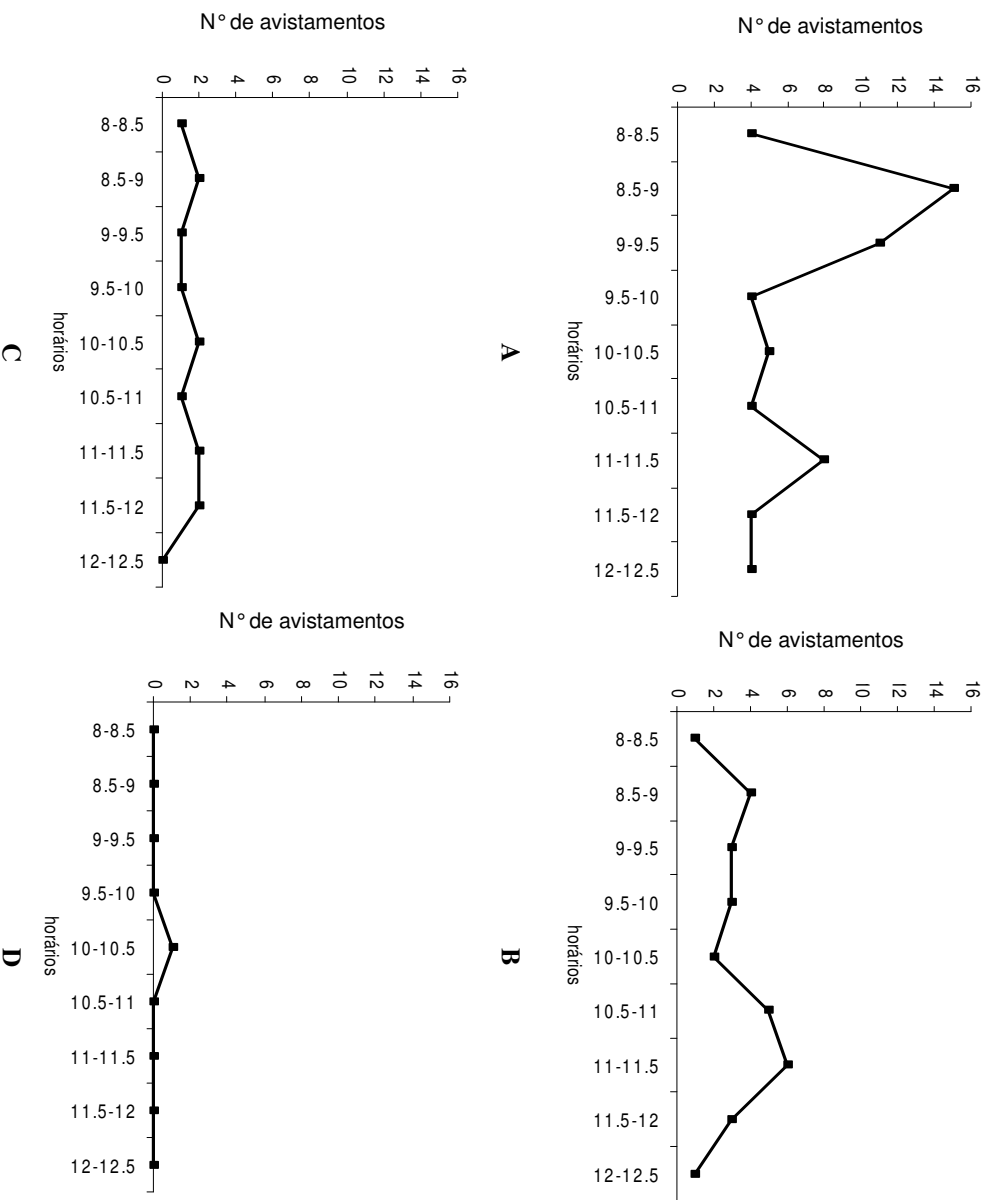


D

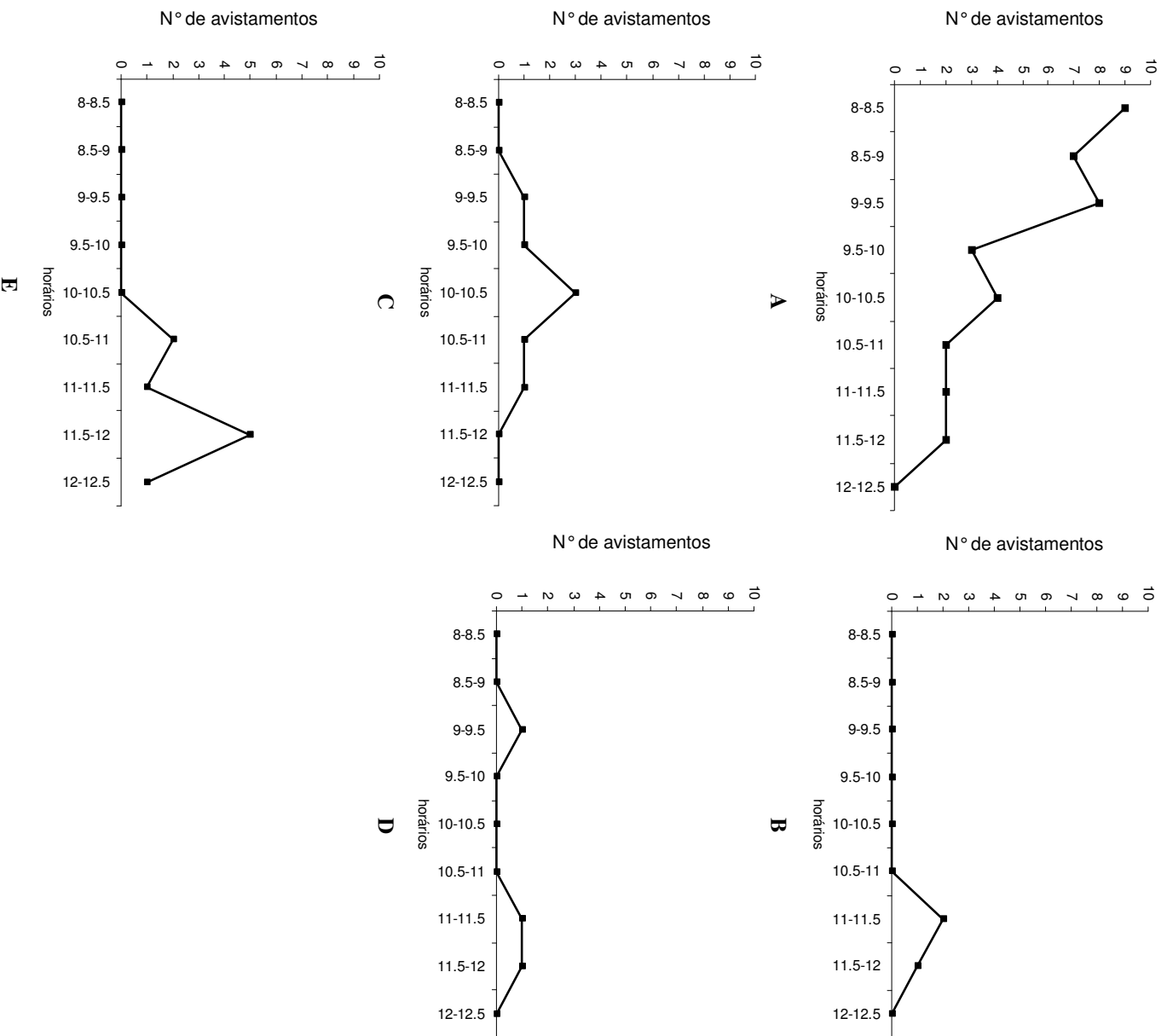
**Figura 2.** A- *Trigonopedia* sp , B- *B. atratus* , C- *Melipona marginata* e D- *Augochloropsis* sp.1 em comportamento de vibração das anteras em *T. gracilis*.



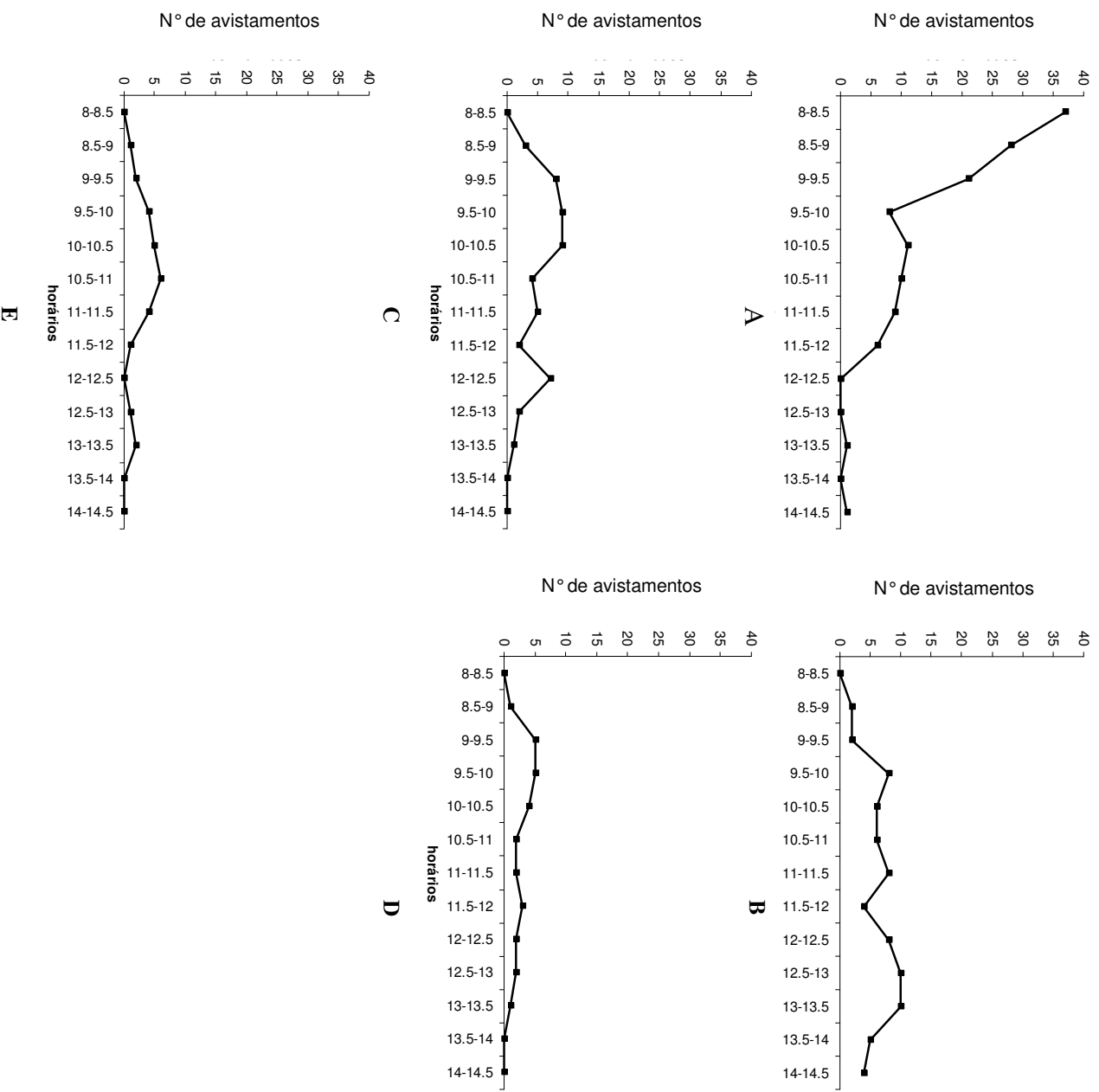
**Figura 3.** Fotomicrografia obtida por microscopia de fluorescência mostrando crescimento do tubo polínico. A– *T. clinopodifolia* por polinização cruzada 24h, B– automanual 24h, C– *T. gracilis* por polinização cruzada 24h.



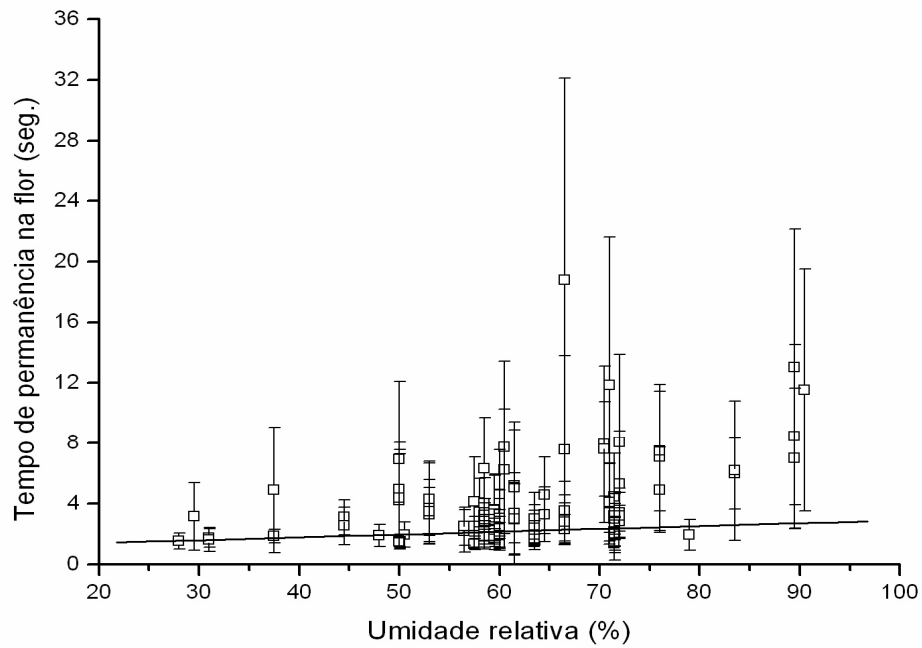
**Figura 4.** Número de indivíduos avistados das espécies de abelhas ao longo do período da manhã em flores de *T. cerasifolia*; A: *Bombus atratus*, B: *Melipona bicolor*, C: *Melipona marginata* e D: *Augochloropsis* sp.2.



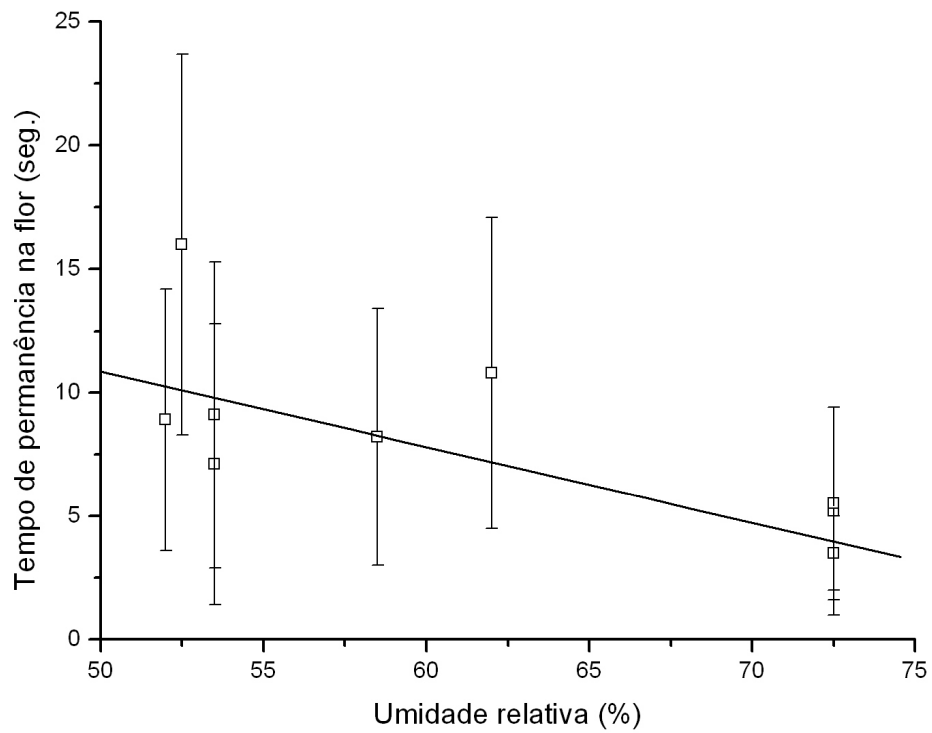
**Figura 5.** Número de indivíduos avistados das espécies de abelhas ao longo do período da manhã às flores de *T. clinopodifolia*. A: *Bombus atratus*, B: *Melipona marginata*, C: *Trigonopedia sp.*, D: *Augochloropsis sp.1* e E: *Augochloropsis sp.2*.



**Figura 6.** Número de indivíduos avistados das espécies de abelhas ao longo do período da manhã em *T. gracilis*. A: *Bombus atratus*, B: *Melipona marginata*, C: *Trigonopedia* sp., D: *Augochloropsis* sp.1 e E: *Augochloropsis* sp.2.



**Figura 7.** Em *T. gracilis*, os tempos de permanência de *B. atratus* foram relacionados à umidade relativa ( $p < 0,05$ ). Os quadrados representam as médias e as barras, os desvios-padrão dos tempos despendidos por um indivíduo em uma flor. Resultados mais detalhados de cada regressão podem ser obtidos na tabela 3.



**Figura 8.** Em *T. cerastifolia*, os tempos de permanência de *M. marginata* foram relacionados negativamente à umidade relativa ( $p < 0,05$ ). Os quadrados representam as médias e as barras, os desvios-padrão dos tempos despendidos por um indivíduo em uma flor. Resultados mais detalhados de cada regressão podem ser obtidos na tabela 3.