

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM ENTOMOLOGIA

**BIOLOGIA DAS INTERAÇÕES ENTRE OS VISITANTES
FLORAIS (HYMENOPTERA, APIDAE) E *Tibouchina
pulchra* Cogn. (MELASTOMATACEAE)**

JULIANA BERTOLINO DA SILVA

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências, pelo Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Entomologia), do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, sob a orientação do Prof. Dr. Gabriel Augusto Rodrigues de Melo e co-orientação do Prof. Dr. Renato Goldenberg.

Curitiba, 2006.

Curitiba, fevereiro de 2006.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Gabriel A. R.Melo _____

Prof. Dr. Renato Goldenberg _____

Prof. Dr. Fernando A. Silveira _____

Prof. Dra. Isabela G. Varassin _____

Aos meus pais pelo amor incondicional e
ao mimo que acalenta os meus dias.

Dedico

Aos meus irmãos Ricardo e Camila
que tanto amo.

Ofereço

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que participaram de alguma forma na elaboração deste trabalho.

Agradeço ao Gabriel e ao Renato pela oportunidade de trabalho.

Aos professores da Engenharia Florestal pelo material e espaço cedido.

Ao Prof. Dr. Carlos A H. Flechtmann pelas análises estatísticas, ensinamentos, apoio e dedicação, um muito obrigado especial.

Aos professores que participaram da Banca examinadora Dr. Fernando A. Silveira e a Dra. Isabela G. Varassin pelas sugestões e contribuições no meu trabalho.

A CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de nível superior, pela bolsa de estudos concedida.

Ao seu Daniel, a D. Diva e a Jack por todo apoio, carinho e dedicação, sem vocês meus dias não teriam o mesmo colorido naqueles dias tão solitários de trabalho no campo.

A todas aquelas pessoas que de alguma maneira contribuíram para o desenvolvimento do meu projeto. Muito Obrigada!

À turma da sala 7, Eduardo, Ozana, Andreza, Marcel, Stela e aos agregados que já são parte integrante do nosso cantinho, Miriam, Rodolfo, Joelma, Lu, Nakajo, Joaquim, Ana, Gabriel... um muito obrigado por terem feito parte da minha vida curitibana, e por tornarem meus dias mais doce.

Aos amigos tão especiais que fiz e que marcaram a minha vida, sem vocês nada teria graça... Minha doce Rose (azedim às vezes, mas muito queridim), Aninha pelas conversas, companhia e risada (vou sentir saudade), Leozinho, coisa querida que tanto tenho a agradecer, Gil, meu fiel escudeiro quanta honra ser tua amiga...Ao Mauricio

(que nessa altura deve estar dando graças aos céus pelas chatas estarem indo embora), um obrigado especial por tudo, até no último momento eu repito, o que teria sido de mim sem você!

Aos meus amigos de Pelotas que me fizeram tanta falta, mas, que naqueles momentos em que titubiei vocês estavam lá...

Aos meus pais por estarem incondicionalmente ao meu lado, sempre com muito amor! Aos meus irmãos que tanto amo!

Ao “mimo”, por todo amor....

INDICE

RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
INTRODUÇÃO.....	01
Família Melastomataceae.....	02
Gênero <i>Tibouchina</i>	04
METODOLOGIA.....	06
Área de estudo.....	06
Morfologia e Biologia Floral.....	06
Sistema Reprodutivo.....	07
Visitantes Florais.....	10
Análise Estatística.....	11
RESULTADOS.....	12
Características da Espécie.....	12
Morfologia e Biologia Floral	14
Sistema Reprodutivo.....	15
Visitantes Florais.....	16
DISCUSSÃO.....	23
Morfologia e Biologia Floral	23
Sistema Reprodutivo.....	25
Visitantes Florais.....	27
LISTA DE FIGURAS.....	30
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48

RESUMO

Tibouchina pulchra é uma espécie pioneira, nativa de Mata Atlântica, pertencente à família Melastomataceae. Ela possui a peculiaridade de mudar a coloração das suas peças florais, no 1º dia são brancas, tornando-se rosadas, rosas e roxas nos dias subsequentes. As flores são melitófilas com as anteras dimórficas e poricidas. Estas características restringem a polinização a um grupo de abelhas capazes de vibrar as anteras para a retirada do pólen. Os objetivos deste trabalho foram obter dados a respeito do sistema reprodutivo e da biologia floral das espécies e relacionar a alteração da coloração das peças florais com o comportamento dos visitantes além de identificar os efetivos polinizadores. O experimento realizou-se no IAPAR, situado em Morretes/PR, de novembro de 2004 a fevereiro de 2005. A investigação do sistema reprodutivo envolveu polinizações controladas com flores brancas e flores rosa, formação do fruto, germinação de sementes e viabilidade de grãos de pólen das anteras dimórficas. A biologia e morfologia da flor foram acompanhadas desde a antese até a queda das peças florais. Registrou-se o comportamento de indivíduos das espécies que visitaram as flores. *T. pulchra* mostrou-se não apomítica e auto-compatível, produzindo frutos e sementes viáveis em proporção semelhante nos tratamentos de polinização cruzada, testemunho e autopolinização manual. A viabilidade do pólen, a receptividade do estigma e o número de frutos formados em flores rosa não diferiram estatisticamente daqueles registrados em flores brancas. Foram encontradas 15 espécies de visitantes florais, todas pertencentes à família Apidae sensu lato. À exceção de *Tetragonisca angustula*, todas as espécies eram capazes de vibrar as anteras para a retirada do pólen. Os polinizadores efetivos foram *Xylocopa frontalis*, *X. brasilianorum*, *Bombus morio* e *B. atratus*, por contatarem o estigma em seu comportamento de coleta de pólen. Enquanto as espécies de halictíneos (*Augochloropsis* sp., *Augochlora* sp. e *Pseudaugochlora* sp.) e as espécies de *Bombus* coletaram pólen em flores brancas e rosas, as demais espécies apenas coletaram pólen em flores brancas. Os resultados obtidos sugerem que alterações de cor das peças florais não podem ser atribuídas à polinização ou à fertilização dos óvulos; as flores rosa poderiam estar funcionando como um atrativo visual adicional, de longa distância, para os visitantes às flores.

ABSTRACT

Biology of the interactions between flower visitors (Hymenoptera, Apidae) and *Tibouchina pulchra* Cogn. (Melostomataceae)

Tibouchina pulchra is a pioneer tree species, native to the Atlantic Forest. It has as a peculiarity the progressive change of the color of its floral parts; petals are white in the first day, changing to pinkish, pink and finally violet. The plant is melitophilous with dimorphic, poricidal anthers. These traits restrict pollination to a group of bees capable of vibrating the anthers for pollen removal. The objectives of this paper were to provide information regarding the reproductive system and floral biology of *T. Pulchra* and to correlate the change in floral parts to flower visitor behavior and to identify the effective pollinators. The studies were carried out at IAPAR, in municipality of Morretes, state of Paraná, Brazil, between November 2004 and February 2005. Experiments included controlled pollination of white and pink flowers. Fruit formation, percentage of seed germination and pollen viability of the dimorphic anthers were recorded. The biology and morphology of the flower were monitored from anthesis until abscission of floral parts. Behavior of visitor insect on flowers were recorded. *T. pulchra* proved to be non-apomictic and auto-compatible, producing fruits and viable seeds in similar ratios among the manual cross-pollination, control and manual auto-pollination treatments. Pollen viability, stigma receptivity and number of produced fruits in pink flowers did not differ statistically from those in white flowers. Fifteen species of flower visitors were recorded, all of them in the family Apidae. Except for *Tetragonisca angustula*, all of them were able to vibrate the anthers for pollen removal. Effective pollinators were *Xylocopa frontalis*, *X. brasilianorum*, *Bombus morio* and *B. atratus*, which touched the stigma while foraging. While the halictine bees (*Augochloropsis* sp., *Augochlora* sp. and *Pseudaugochlora* sp.) and *Bombus* foraged on white and pink flowers, the remaining species foraged only on white flowers. Results suggest that color change in floral parts cannot be attributed to pollination or fecundation of the ovary; pink flowers could be serving as an additional visual cue for long range attraction of visitors to a tree's flowers.

INTRODUÇÃO

A biologia da polinização estuda fatores envolvidos no processo de reprodução das plantas desde a antese até a formação de frutos e sementes (Faegri & van der Pijl 1979).

O sistema de polinização pode servir como instrumento para se estudar os processos de co-evolução, onde o grau de adequação morfológica, fisiológica e comportamental observada entre planta e polinizador pode ser avaliado (Proctor *et al.* 1996). Nesse contexto, aspectos concernentes à morfologia floral e comportamento de visitação, bem como aqueles relativos à fisiologia e morfologia da flor, servem como parâmetros para mensurar o grau de rela o entre espécies de plantas e seus visitantes florais, analisando quais dentre eles contribuem efetivamente para a reprodu o da planta (Faegri & van der Pijl 1979; Bertin 1989; Proctor *et al.* 1996; Avanzi & Campos 1997).

A poliniza o, para os visitantes florais,   um produto secundário da coleta de recursos alimentares, normalmente pólen e/ou néctar, que   fornecido pela flor. Nesta atividade de busca por recurso, a transferência do pólen pode ou não ocorrer. Se ocorrer efetivamente a poliniza o, os visitantes são considerados polinizadores. A poliniza o efetiva depende, entre outros fatores, da adequa o do formato do corpo ou determinados órgãos do visitante   morfologia floral, de como ele aborda a flor e de seu comportamento durante a visita (Proctor & Yeo 1972; Pont 1994).

A maioria das angiospermas apresenta flores hermafroditas, o que as torna potencialmente capazes de se reproduzir por autofecunda o (Seavey & Bawa 1986; Proctor & Yeo 1996). Entretanto, há mecanismos que restringem ou previnem a autofecunda o, como dicogamia e hercogamia. Sistemas genéticos têm atuado na diminui o da endogamia, como a auto-incompatibilidade resultante da impossibilidade de gr os de pólen aderir 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 reprodu o cruzada são otimizadas, aumentando conseqüentemente a variabilidade genética (Janzen 1980).

Muitas angiospermas desenvolveram uma série de características que, como resultado, permite a elas “mobilidade” direta na procura de um parceiro reprodutivo, esta série de características está personalizada na flor. Por atrair polinizadores com suas flores, e por direcionar o comportamento destes, de forma que a poliniza o cruzada possa ocorrer com freq ncia, às angiospermas transcenderam as suas condi es fixas ao solo, e de certa maneira, tornaram-se tão móveis quanto os visitantes (Janzen 1980).

MELASTOMATACEAE

Melastomataceae representa uma das mais importantes famílias da flora neotropical, compreendendo de 4500 a 5000 espécies distribuídas em 185 gêneros e 11 tribos. É bem representada em ecossistemas tropicais e subtropicais das Américas, onde são encontradas cerca de 3000 espécies (Renner 1993).

No Brasil, representa a sexta maior família de angiospermas, com 68 gêneros e mais de 1500 espécies, que se distribuem desde a Amazônia até o Rio Grande do Sul (Romero & Martins 2002). Existe grande quantidade de gêneros endêmicos, tais como *Lavoisiera*, *Lithobium*, *Eriocnema*, *Trembleya*, *Chaetostoma* (Almeda & Martins 2001), *Svitramia*, *Microlepis*, *Tibouchinopsis* (Renner 1993), entre outros.

Quanto à representatividade florística as melastomatáceas se encontram presentes em algumas formações regionais no Brasil, como Mata Atlântica (Melo *et al.* 1999), Floresta Amazônica (Renner 1986|1987), cerrados (Renner 1990), além de restingas e dunas (Alves-dos-Santos 1999).

Os representantes desta família apresentam uma grande diversidade de hábitos, que vai desde o herbáceo até o arbustivo, com muitas espécies arbóreas e poucas trepadeiras e epífitas (Renner 1989). A família é caracterizada por um conjunto de atributos, tais como filotaxia oposta, folhas inteiras, sem estípula com nervação acródoma, flores perfeitas, completas, cíclicas, com estames diplostêmones, livres, com deiscência geralmente poricida, frutos capsulares ou baciformes, com sementes diminutas, no entanto havendo algumas exceções (Barroso 1984).

Ainda quanto às características morfológicas, alguns gêneros apresentam certas peculiaridades que influenciam sua ecologia da polinização, como dimorfismo dos estames relacionados à cor e forma e mudança de coloração de peças florais (Baumgratz & Silva 1988). Há gêneros como *Heeria*, por exemplo, que apresentam anteras nutritivas de tamanho menor e cor amarela e anteras reprodutivas de tamanho maior e cor vermelha. *Centradenia floribunda*, *Rhexia glandulosa*, *Monochaetum ensiferum* e *Pleroma sellowianum* são espécies cujas flores apresentam coloração branca inicialmente que, com o passar do tempo tornam-se vermelho-purpúreas (Baumgratz & Silva 1988). Estes mesmos autores comentam que esta mudança de coloração encontrada nas espécies mencionadas estaria relacionada à polinização, guiando o visitante na direção correta.

A polinização na família é realizada, em geral por abelhas (Renner 1989). Como as melastomatáceas apresentam anteras poricidas, seus polinizadores precisam apresentar

mecanismos especiais para extração do pólen (Goldenberg & Varassin 2001). Por isso, somente as abelhas são aptas a realizarem essa tarefa, pois possuem a capacidade de vibrar seus músculos relacionados ao vôo para a retirada do pólen das anteras (Renner 1986/1987, 1990). O movimento vibratório é transferido às anteras que assim expulsam o pólen seco e pulverulento em forma de nuvem, que se aderem ao corpo das abelhas. Dependendo do comportamento de vibração apresentado pelo visitante, o pólen pode ou não ser depositado no estigma da flor visitada (Buchmann & Hurley 1978). Essa vibração deve apresentar frequências adequadas para que ocorra a liberação do pólen, como o que ocorre nas flores de *Bellucia*, por exemplo, onde as vibrações devem ter frequências elevadas (por volta de 420 Hz) (Renner 1987, 1990).

Este mecanismo de polinização é chamado polinização por vibração ou “buzz pollination”, pois as abelhas durante a extração do pólen emitem um ruído audível. A maioria das espécies de angiospermas com anteras poricidas não possui néctar, e, portanto são visitadas exclusivamente por fêmeas coletoras de pólen (Buchmann 1983). Dukas & Dafni (1990) sugerem que flores polinizadas por movimentos vibratórios evoluíram de flores poliândricas nectaríferas com o número reduzido de estames (e conseqüentemente produção reduzida de pólen) que em seguida, teriam eliminado a produção de néctar.

Essa forma de apresentação do pólen restringe o número de espécies de abelhas visitantes (Laroca 1970; Melo & Machado 1996; Alves-dos-Santos 1999). As abelhas *Xylocopa*, *Melipona*, *Augochloropsis*, *Bombus*, *Thygater* e *Zikanapis* estão freqüentemente associadas com a polinização das flores de melastomatáceas neotropicais (Laroca 1970; Renner 1986/1987, 1989; Larson & Barrett 1999b).

O sistema reprodutivo tem sido estudado em cerca de 120 espécies da família (Renner 1989, 1990, 1993; Gross 1993; Melo & Machado 1996, 1997; Guimarães & Ranga 1997; Goldenberg & Varassin 2001; Fracasso & Sazima 2004), entre as quais predomina o sistema reprodutivo xenógamo, caracterizado pela união entre gametas de indivíduos geneticamente distintos. Mecanismos de auto-incompatibilidade e de apomixia são relativamente freqüentes, nas tribos Rhexieae e Miconieae, e menos característico nas tribos Melastomeae e Microlicieae (Goldenberg & Varassin 2001).

GÊNERO *Tibouchina*

Tibouchina pertence à tribo Melastomeae, apresentando 350 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais das Américas (Wurdack 1962; Sousa 1986). As espécies arbóreas e arbustivas deste gênero são popularmente conhecidas como quaresmeiras ou manacás e geralmente apresentam como único recurso para seus visitantes, o pólen. Algumas espécies, no entanto, produzem néctar (Stein & Tobe 1989) e, portanto, são visitadas por diversos animais além de abelhas (Renner 1989; Goldenberg & Shepherd 1998).

Muitas espécies de melastomáceas são rústicas e heliófitas, sendo utilizadas com frequência na recuperação e reflorestamento de áreas degradadas (Lorenzi, 1992; Pompéia et al. 1989). *Tibouchina pulchra* é considerada uma espécie pioneira sendo capaz de ocupar áreas recém perturbadas, onde as condições de solo, luz e temperatura favorecem a germinação de suas sementes (Martinez-Ramos, 1985), bioindicadora, encontrada em Floresta Ombrófila Densa (Leitão-Filho et al. 1993) e, apresenta notável valor ornamental (devido às cores vistosas de suas pétalas).

Outra peculiaridade que *T. pulchra* possui é a alteração de coloração das peças florais, que são brancas na antese e tornam-se roxas progressivamente nos dias subseqüentes. Essa peculiaridade foi registrada também em outras nove espécies de diferentes gêneros de Melastomataceae, todas encontradas nas Américas (Weiss 1995).

Alguns autores sugerem que esta mudança de coloração atua como um aviso às abelhas para que estas não visitem flores velhas (Endress 1994). No entanto, a persistência destas na planta confere-lhe um colorido intenso, atuando na sinalização aos polinizadores à longa distância (Weiss 1991).

Após sofrer o processo de mudança de cor, as flores geralmente não ofertam mais recurso e o estigma deixa de ser receptivo (Weiss 1995). Larson & Barrett (1999), em seu trabalho com *Rhexia virginica*, constataram que as flores após alterarem sua coloração tornam-se estéreis, sendo os visitantes direcionados às flores que ainda não sofreram alteração de coloração.

A mudança de coloração, quando associada à permanência de flores velhas, pode aumentar o número de visitas de polinizadores, devido ao papel chamariz que estas assumem, atraindo os vetores a longas distâncias. Dessa maneira, planta e polinizador são beneficiados, as flores são polinizadas com mais eficiência enquanto os polinizadores, direcionados às flores com recurso, acabam poupando tempo e energia (Weiss 1995).

Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivos relacionar o comportamento dos visitantes florais com a alteração da coloração das peças florais e fornecer dados a respeito do sistema reprodutivo e da biologia floral da espécie *T. pulchra*, com referência à composição da fauna visitante e seu comportamento de coleta do pólen.

MATERIAL E METODOS

ÁREA DE ESTUDO

O presente estudo foi desenvolvido entre os meses de novembro de 2004 a fevereiro de 2005, na Estação Experimental do IAPAR, situado no Município de Morretes, 25° 30' S, 48° 48' W, a 68 km de Curitiba, PR. A região está situada na encosta da Serra do Mar e coberta por Floresta Ombrófila de encosta Atlântica (Silva, 1989). Apresenta clima AF segundo a classificação de Köppen, tropical super úmido, com temperatura média anual de 25 °C (Maack 1981).

Os indivíduos de *Tibouchina pulchra* estudados encontravam-se na borda de fragmentos de vegetação secundária.

MORFOLOGIA E BIOLOGIA FLORAL

Dois andaimes de 4,5m de altura foram montadas no local do experimento para serem realizadas as observações de campo. As flores foram observadas quanto à morfologia, tamanho, coloração, duração e horário de abertura. Esses aspectos foram considerados desde a pré-antese até a queda de todas as peças florais.

Para a avaliação da viabilidade dos grãos de pólen, foram coletados três botões em pré-antese e flores 24h após o início da antese- flores de 2º dia, previamente ensacadas, de cada um. O material foi fixado em FAA (50%) e posteriormente analisado sob microscopia ótica. Os estames foram retirados, colocados sobre lâmina e corados com azul de toluidina 0,05%/H₂O. As anteras foram pressionadas com lamínula expulsando os grãos de pólen. A contagem de grãos de pólen foi realizada em campos arbitrários do microscópio óptico, onde foram classificados em viáveis ou não viáveis de acordo com sua coloração. Para cada botão foram contados cerca de 100 grãos de pólen. A viabilidade polínica foi estimada para anteras grandes e anteras pequenas.

SISTEMA REPRODUTIVO

Nos testes para a determinação do sistema reprodutivo, foram realizadas polinizações em 3 indivíduos, divididos em 5 tratamentos controlados. Em cada tratamento foram manipuladas 30 flores.

1. Testemunha: as flores são apenas marcadas, sem serem isoladas, e monitoradas;
2. Apomixia: foram removidos os estames. O gineceu não foi danificado. Após esse procedimento, as flores foram isoladas;
3. Autopolinização espontânea: os botões foram isolados, sem receber manipulação;
4. Autopolinização manual: as flores foram polinizadas com pólen oriundo de flores do mesmo indivíduo, sendo isoladas a seguir.
5. Polinização cruzada: as flores foram polinizadas com pólen oriundo de outros indivíduos e, em seguida isoladas.

O isolamento das flores foi realizado com sacos confeccionados com voil.

O pólen foi retirado das anteras com o auxílio de 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 de flores do mesmo indivíduo ou em flores de outro indivíduo, de acordo com o tratamento. As flores foram ensacadas no dia anterior à antese e, os cruzamentos realizados no período da manhã. Logo em seguida essas flores foram re-ensacadas, permanecendo isoladas até a queda do estigma.

Foram realizadas anotações diárias para cada tratamento sobre a mudança de coloração e a queda das peças florais. Estipularam-se quatro estágios de gradação de cores para as pétalas: estágio 1- pétalas brancas; estágio 2- pétalas rosadas; estágio 3- pétalas rosas e estágio 4- pétalas roxas.

As flores de cada tratamento foram marcadas com fitas coloridas e numeradas, e as marcações mantidas no campo até a frutificação, sendo registrados o tempo de desenvolvimento dos frutos e eventuais abscisões. A partir do número de frutos que se desenvolveram até a deiscência foi calculada a proporção fruto/flor, sendo estabelecida à taxa de frutificação em cada tratamento. Foram coletados 10 frutos de cada tratamento antes da deiscência, para a análise da viabilidade das sementes. Os frutos foram armazenados individualmente em saco de papel e em seguida postos para germinar. As sementes de cada fruto foram colocada em placas de petri sobre papel filtro úmido e mantidas em BOD à temperatura de 25 °C e umidade de 75%, com fotoperíodo de 12h. As avaliações foram realizadas a cada dois dias no mês de fevereiro e semanalmente nos meses de março, abril,

maio e junho. Em cada avaliação foram removidas as plântulas provenientes das sementes germinadas. As sementes que não germinaram foram contabilizadas.

POLINIZAÇÕES TARDIAS

A fertilidade do pólen e a receptividade do estigma foram avaliadas em flores após 24h do início da antese. Tal procedimento visava verificar possíveis diferenças na quantidade de frutos formados em relação àqueles provindos de flores polinizadas no primeiro dia da antese. Para cada tratamento foram utilizadas 20 flores.

Utilizaram-se flores do 2º dia à tarde, manipuladas entre as 14:00h e 16:00h e, 3º dia no período da manhã, manipuladas entre 7:00h e 10:00h. Todas as flores manipuladas nas polinizações tardias foram ensacadas em pré-antese e mantidas ensacadas após as manipulações. Estes sacos permaneceram até a queda do estigma.

As flores de 1º dia foram polinizadas por meio de polinização cruzada no período da manhã com pólen proveniente de flores do 2º e 3º dia. Flores do 2º dia no período da tarde, sofreram polinização cruzada. Flores do 3º dia no período da manhã sofreram polinização cruzada.

A tabela abaixo demonstra resumidamente os tratamentos realizados durante o experimento.

Tabela 1- Tratamentos realizados no estudo de sistema reprodutivo e, o número de flores utilizadas em cada um. 1° M - flores de 1° dia tratadas pela manhã; 2° T = flores do 2° dia tratadas à tarde; 3° M = flores de 3° dia tratadas pela manhã; 1° M - pólen de 2° dia = flores de 1° dia tratadas pela manhã polinizadas com flores de 2° dia; 1° M – pólen de 3° dia = flores de 1° dia tratadas pela manhã com pólen de flores de 3° dia.

Tratamento	Número de flores
Testemunha (1° M)	30
Apomixia (1° M)	30
Autopolinização espontânea (1° M)	30
Autopolinização manual (1° M)	30
Polinização cruzada (1° M)	30
Polinização cruzada (2° T)	20
Polinização cruzada (3° T)	20
Polinização cruzada (1° M - pólen de 2° dia)	20
Polinização cruzada (1° M – pólen de 3° dia)	20

Os frutos foram acompanhados pelo período de dois meses, sendo considerados como efetivamente formados aqueles que permaneceram presos aos ramos.

VISITANTES FLORAIS

A atividade dos visitantes florais em *T. pulchra* foi observada durante os meses de novembro de 2004 a janeiro de 2005, entre 5:00h e 21:00h.

O comportamento dos visitantes foi registrado por meio de observações diretas e fotográficas. Foram anotados os modos de abordagem à flor, o comportamento de coleta e abandono das flores, o tempo de permanência na flor, a seqüência de flores visitadas e a frequência de visitas de cada espécie de abelha. Alguns exemplares de visitantes foram coletados com rede entomológica, mortos em câmara com acetato de etila, alfinetados para identificação e tomadas às medidas do tamanho corporal.

Para se testar a eficiência de cada polinizador na formação de frutos, as flores no 1º dia de antese, ensacadas em pré-antese, foram expostas às espécies de abelha. Imediatamente após receber um visitante, essas flores foram isoladas e os sacos mantidos até a queda do estigma. Assim, foram formados frutos a partir de uma visita de cada espécie de abelha polinizadora.

Flores de 2º e 3º dia, ensacadas em pré-antese, foram expostas aos visitantes, a fim de se testar o comportamento dos visitantes em flores que apresentavam coloração alterada, porém as anteras estavam repletas de pólen. Foi observado tempo de visitação, se houve hesitação na visita e o comportamento do visitante.

Foram realizadas remoções de peças florais, em flores do 1º dia, ensacadas na pré-antese e expostas aos visitantes, a fim de avaliar o comportamento destes frente às alterações visuais. As remoções foram: i) retirada de todos os estames, ii) retirada de estames maiores, iii) retirada de estames menores e iv) retirada das pétalas. O procedimento foi realizado durante quatro dias. Foram expostos conjuntos de oito flores para cada remoção, totalizando 32 flores para cada tratamento. Analisou-se o comportamento e permanência na flor de cada espécie de polinizador.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Mudança de coloração foi analisada nos tratamentos com polinizações controladas (apomixia, autopo_esp, autopo_man, poliniz_cruz, testemunha), avaliando-se os 4 estágios estipulados de gradação de cores (estágio 1 –pétalas brancas; estágio 2- pétalas rosadas; estágio 3- pétalas rosas e estágio 4- pétalas roxas). O número de flores brancas, rosadas, rosas e roxas foram comparadas, dentro de cada tratamento (apomixia, autopolinização espontânea, autopolinização manual, polinização cruzada e testemunha) pelo teste *Sign Rank*.

A formação de frutos foi avaliada em polinizações controladas, incluindo as polinizações tardias. Tratamentos foram separados pelo teste de Kruskal-Wallis.

A taxa de germinação foi avaliada através das sementes viáveis em cada tratamento envolvendo polinização controlada. Os números de sementes germinadas foram transformados em porcentagem de germinação e submetidos à análise de variância, com médias separadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

A frequência de visitação foi avaliada através das espécies de abelha mais freqüente durante todo o experimento. Os números de abelhas, de cada espécie, foram comparados em 8 intervalos de horário agrupados de 2 em 2h das 6:00h as 21h, pelo teste do Qui-quadrado de Friedman.

Todas as análises foram realizadas com a utilização do pacote estatístico SAS (SAS 1990b).

RESULTADOS

CARACTERÍSTICAS DA ESPÉCIE

As flores de *T. pulchra* apresentam os botões protegidos por quatro bractéolas verdes, caducas (Fig.1a). As flores são pentâmeras, presas a ramos curtos. A corola é actinomorfa, mas, em conjunto com o androceu, formam uma estrutura zigomorfa.

Os estames são filiformes e dimórficos, apresentando cinco filetes com tamanhos menores e cinco filetes com tamanhos maiores (Fig.2a). A articulação entre o filete e o conectivo dos estames menores, aliada ao peso das abelhas durante a visitação na flor, impulsionam o visitante em direção ao ápice do estigma, dando à antera um efeito de balanço ou balancim. As anteras são bitecas, com pequenos poros apicais, o pólen é seco amarelado. O estilete é sigmoidal, com curvatura oposta à dos estames e apresenta tricomas esbranquiçados. O estigma é punctiforme.

Os frutos são cápsulas autocóricas, verdes no início de seu desenvolvimento (Fig. 4a, b), que se dá a partir do 8^o dia após o início da antese, tornando-se marrons quando maduros (Fig. 4c). As sementes são pequenas, numerosas e apresentam coloração marrom, sendo liberadas entre 45 e 50 dias após a antese floral.

Os filetes, no primeiro dia, são brancos com tricomas vermelhos, nos dias subsequentes, os filetes tornam-se progressivamente roxos e os tricomas arroxeados. Os lóculos das anteras permanecem amarelados. Os estiletos são brancos na antese e tornam-se roxos nos dias posteriores. Dentre essas estruturas, as pétalas são as primeiras a iniciarem a mudança de cor.

MORFOLOGIA E BIOLOGIA FLORAL

A floração é do tipo cornucópia (Gentry 1974), apresentando um período de floração curto (três meses de duração) com produção de muitas flores. O recurso é disponível durante toda a florada para as abelhas visitantes.

A produção de flores se dá no final da primavera, com pico de floração no verão, o qual possui o período chuvoso intenso.

Tibouchina pulchra produziu botões em meados de setembro (Fig.1 a, b e c). Em novembro iniciou-se a floração, estendendo-se até fevereiro. No final de novembro, abriram-se as primeiras flores, tendo o pico de floração ocorrido entre dezembro e início de janeiro. Em final de fevereiro, a floração já terminara e a maioria dos frutos amadureceu, com suas sementes sendo dispersadas pelo vento. Algumas cápsulas secas perduraram até a florada posterior (Fig. 4c).

As folhas permanecem na planta durante todo o período, não ocorrendo queda em nenhuma época do ano.

No período de pré-antese, os botões florais perdem suas bractéolas, dispostas duas a duas cruzadas (Fig. 1c). As pétalas encontram-se embricadas e os estames dobrados em direção ao centro da flor.

O início da antese floral pode ser dividida em três fases, a primeira ocorre o afastamento das pétalas, visualizando-se os estames, que se encontram dobrados, com as anteras voltadas para o centro da flor. Na segunda fase, ocorre a distensão dos estames. Na última fase, as pétalas estão completamente abertas e os estames se posicionam em conjunto na porção inferior da flor. O processo de abertura da flor é contínuo, iniciando-se por volta das 6:00h, sendo concluída por volta das 9:00h. Em dias chuvosos ou nublados, esse processo é retardado em cerca de 1h.

Nas primeiras horas da manhã, após a abertura da flor, os grãos de pólen estão úmidos dentro das anteras, mantendo-se aglutinados. À medida que a temperatura ambiente eleva-se, o pólen perde a umidade, tornando-se seco e pulverulento. Em dias chuvosos esse processo é prolongado devido à maior umidade relativa do ar.

No primeiro dia as flores são brancas (Fig. 2a). Ao entardecer, as flores expostas tornam-se rosadas. No segundo dia, essas flores apresentam a coloração das pétalas alterada, tornando-se rosa (Fig. 2b), assim como o estame que apresenta o filete rosa e a antera escurecida pelo desgaste e redução da quantidade de pólen. O estigma torna-se rosado com ápice bem claro. A partir do terceiro dia (Fig. 2c), até a queda das peças florais, que se inicia no 4º dia (Fig. 3a), a flor apresenta uma grande mudança na coloração de suas peças florais. A corola torna-se roxa, assim como os filetes, as anteras marrons escuro, o estigma bem rosa com ápice amarelo. As flores fecundadas iniciam a queda das pétalas a partir do 6º dia, os estames no 4º dia (Fig. 3b) e o estigma cai entre o 5º e 6º dia (Fig. 3c).

As flores que não são fecundadas retardam o processo em um dia e, após a queda de todas as pétalas ocorre a queda do gineceu.

VIABILIDADE DO PÓLEN

A análise dos grãos de pólen ao microscópio (Tab. 2) mostrou que eles são viáveis tanto nos botões, quanto nas flores de segundo dia. A taxa de viabilidade ficou em média 68% para os períodos analisados.

A viabilidade do pólen dos dois tipos de estames foi muito semelhante, não apresentando diferença significativa na viabilidade entre as diferentes fases da antese.

Tabela 2 - Viabilidade do pólen dos estames de diferentes tamanhos, utilizando-se o corante azul de toluidina. Apresenta-se a porcentagem de grãos viáveis e entre parênteses o valor total amostrado (n =3).

Fases da antese	Tamanho dos estames	
	Grande	Pequeno
Antese	72% (300)	65% (300)
24h depois	74% (300)	74% (300)

SISTEMA REPRODUTIVO

Os testes demonstraram que as flores não formam fruto por autopolinização espontânea e por apomixia. Nos testes de autopolinização manual, polinização cruzada e testemunho, os números de frutos formados foram similares entre os tratamentos (Fig. 5) ($\chi^2 = 0,0001$).

A porcentagem de sementes formadas e a variação da taxa de germinação das sementes dos frutos obtidos nos testes de germinação foram semelhantes às encontradas em condições naturais.

O tempo de germinação entre as sementes providas das condições naturais e das providas da autopolinização manual foi muito semelhante, enquanto que as sementes providas da polinização cruzada demoraram um mês a mais para germinar. Contudo, os números de sementes viáveis e não viáveis entre os três tratamentos foi semelhante (Fig. 6).

Quanto à análise da gradação das cores nos diferentes tratamentos, observou-se que as flores que não foram polinizadas (apomixia e autopolinização espontânea), apresentaram os quatro estágios estipulados, flores brancas no 1º dia, flores rosadas no 2º dia, flores rosa nos 3º e 4º dia e flores roxas nos 5º, 6º, 7º, 8º e 9º dia (Fig. 7) Nos tratamentos de autopolinização manual e polinização cruzada, a gradação de cores não apresentou o estágio 2, ou seja, flores brancas no 1º dia, flores rosas no 2º e 3º dia e, flores roxas nos 4º, 5º, 6º, 7º e 8º dia (Fig. 8). Quanto à testemunha, as flores que não receberam visitas apresentaram os quatro estágios estipulados, enquanto as flores que receberam visitas, não apresentaram a coloração rosada (Fig. 9).

POLINIZAÇÃO TARDIA

Os resultados das polinizações tardias demonstraram que flores de primeiro dia, polinizadas com pólen oriundo de flores de 2º dia, e flores de 2º dia polinizadas com pólen de flores de 2º dia, por meio de polinização cruzada, apresentaram a proporção de frutos formados semelhantes entre si e, semelhantes às produzidas a partir de polinização controlada realizada em flores de 1º dia.

Nos tratamentos realizados por meio de polinização cruzada, em flores do 1º e 3º dia com pólen oriundo de flores de 3º dia, nota-se uma queda na formação do fruto (Fig. 10), apresentando significância (qui-quadrado): $\text{prob} > \chi^2 = 0,0005$.

VISITANTES FLORAIS

Nas flores de *T. pulchra*, foram encontradas 15 espécies de abelhas visitantes (Tab. 3). Espécimes testemunhos dessas espécies estão depositados na coleção Padre Jesus Santiago Moure, no Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná. *Melipona marginata*, *Tetragonisca angustula*, *Bombus atratus*, *B. morio*, *Exomalopsis analis*, *Xylocopa brasilianorum*, *X. frontalis*, *Augochloropsis* sp., *Augochlora* sp., e *Pseudaugochlora* sp., foram as espécies observadas.

De acordo com o comprimento do corpo, as abelhas foram divididas em três classes de tamanho corporal: (i) pequeno porte (abaixo de 10 mm), (ii) médio porte (entre 10 e 15 mm) e (iii) grande porte (acima de 15 mm).

Tabela 3- Espécies de abelhas visitantes de *Tibouchina pulchra*. Classes de tamanho corporal: P- pequeno (abaixo de 10 mm), M- médio (entre 10 e 15 mm) e G-grande (acima de 15 mm).

Espécies	Porte
<i>Bombus (Fervidobombus) atratus</i> Franklin, 1913	M-G
<i>Bombus (Fervidobombus) morio</i> (Swederus, 1787)	M-G
<i>Tetragonisca angustula</i> (Latreille, 1811)	P
<i>Exomalopsis (Exomalopsis) analis</i> Spinola, 1853	P
<i>Augochloropsis</i> sp.1	P
<i>Augochloropsis</i> sp.2	P
<i>Augochloropsis</i> sp.3	P
<i>Augochloropsis</i> sp.4	P
<i>Augochloropsis</i> sp.5	P
<i>Augochloropsis</i> sp.6	P
<i>Pseudaugochlora</i> sp.	P-M
<i>Augochlora</i> sp.	P
<i>Xylocopa (Neoxylocopa) brasilianorum</i> (Linnaeus, 1767)	G
<i>Xylocopa (Neoxylocopa) frontalis</i> (Olivier, 1789)	G
<i>Melípona marginata</i> Lepeletier, 1836	P

Xylocopa, *Bombus* e Halictinae (o conjunto das espécies de *Augochloropsis* sp., *Augochlora* sp., *Pseudaugochlora* sp.) apresentaram maior frequência de visitas, enquanto as demais apresentaram frequência baixa, quando comparada a essas espécies.

As espécies de abelhas visitantes citadas mantiveram-se em todo o período de floração, não havendo variação na frequência durante os estudos de campo.

Ao longo do dia, os halictíneos foram frequentes, porém apresentaram um pico de visita no período da manhã nos horários em que as temperaturas eram mais amenas (9:30h às 10:30h). Sendo que no período mais quente compreendido entre 11:00h e 12:30h essas espécies cessaram sua atividade de forrageio. Houve diferença no período de atividade dos halictíneos ($\chi^2 = 60,397$; $p = 0,001$) (Fig. 11).

Bombus morio foi muito frequente, poucas vezes foi observado *Bombus atratus* no decorrer do experimento. As espécies de *Bombus* apresentaram um pico de visita no período da manhã (11:00h às 11:30h) e um pico menor no período da tarde (14:00h às 14:30h). Houve diferença no período de atividade das espécies de *Bombus* ($\chi^2 = 52,567$; $p = 0,002$) (Fig.12).

Xylocopa frontalis foi a espécie de abelha mais frequente no decorrer do experimento. As espécies de *Xylocopa* apresentaram dois picos de visita no período da manhã (9:00h às 10:00h e 11:00h às 11:30h) e dois picos menores no período da tarde (14:00h às 14:30h e 17:00h às 17:30h). Houve diferença no período de atividade das espécies de *Xylocopa* ($\chi^2 = 41,773$; $p = 0,035$) (Fig. 13).

O estudo do comportamento destas abelhas na população de *Tibouchina pulchra* (Tab. 5) demonstrou que a maioria das espécies visitou mais de uma flor por planta, com exceção de *Tetragonisca angustula* que nas poucas visitas em que foi observada a atividade de coleta de pólen se deu em uma única flor. *T. angustula* é uma abelha de porte pequeno, que não é capaz de vibrar, apenas recolhe o pólen deixado nas pétalas pelas visitas anteriores de outras abelhas, sendo considerada 'lixreira'.

O comportamento, ao visitarem a flor, das diferentes espécies de halictíneos, no geral, é semelhante. Durante a visita, estas abelhas escolhiam as anteras aleatoriamente, não havendo preferência por estames maiores ou menores. As abelhas aproximam-se da flor e abordam diretamente cada antera, curvando seu abdome sobre o poro apical da antera (Fig. 14 a, b e c). A vibração era realizada antera por antera, mas, nem todas as anteras de uma mesma flor foram visitadas. Geralmente após uma visita, esse grupo de visitantes frequenta uma outra flor do mesmo indivíduo. Após a visita, essas abelhas transferem o pólen para as escovas. A duração da visita em cada flor é bem maior que a de abelhas de porte maior, em média 35s

por flor. Os representantes dessa família não são polinizadores, pois, não contatam o estigma durante o comportamento de atividade de coleta de pólen.

De modo geral, as abelhas de espécies de maior porte apresentaram o comportamento inicial de coleta de pólen semelhante. Elas se aproximavam da flor, inspecionavam-na, pairando em sua frente por um breve momento, e pousavam com a superfície ventral do corpo voltada para o centro da flor onde agarram o androceu e o estilete com os dois primeiros pares de pernas.

Bombus morio (Fig. 15) e *B. atratus* (Fig. 16) aproximavam-se da flor frontalmente, abraçavam os estames do centro da flor, e vibravam, liberando uma nuvem de pólen que se aderiam ao corpo do visitante. Foi observado em algumas visitas um segundo abraçamento dos estames para a retirada do pólen. Em geral, o tempo de permanência na flor durante a atividade de coleta de pólen foi de 6s. Foi observado que várias flores do mesmo indivíduo foram visitadas e que algumas vezes houve o retorno à mesma flor. A transferência do pólen para as corbículas se dá em vôo.

Xylocopa brasiliatorum apresentou o mesmo comportamento observado nas espécies de *Bombus*.

X. frontalis aproximava-se da flor frontalmente e na maioria das visitas todos os estames são abraçados e vibrados (Fig. 17), liberando uma nuvem de pólen que se aderiam ao corpo do visitante, cada visita durando em média 3s. Foram registradas até 106 visitas de um mesmo indivíduo em flores da mesma planta, em busca de recurso.

Quanto à coloração das estruturas florais, as espécies de halictíneos preferencialmente coletavam pólen de flores brancas no início da floração, mas, ao longo da floração essas espécies visitaram flores rosadas e rosas (Tab. 4) (Fig. 18).

As espécies de *Bombus* visitaram flores rosa apenas no final da floração quando as flores brancas estavam ficando escassas, porém as visitas às flores com a coloração alterada eram sempre inferiores a visitas às flores brancas (Tab. 4).

As espécies de *Xylocopa* coletaram pólen apenas de flores brancas, não foi observado visita a flores com coloração das peças florais alteradas (Tab. 4).

Nos testes realizados com flores de 2^o e 3^o dia previamente ensacadas que, apesar da mudança de coloração possuíam recurso, não foram visitas por nenhuma espécie de abelha, ocorrendo a abscisão de todas as flores a partir do 9^o dia.

Tabela 4-. Visitantes de *Tibouchina pulchra* em flores branca e rosas no período de 5 de dezembro/2004 a 20 fevereiro/2005, Morretes/PR (n=50).

Visitantes	Flores	
	Brancas	Rosas
Halictidae	79%	21%
<i>Bombus</i>	90%	10%
<i>Xylocopa</i>	100%	-

Tabela 5 – Comportamento das abelhas nas flores de *T. pulchra*. Pv: polinização vibrátil; Pi: pilhagem; (+) contatam o estigma; (-) sem contato com o estigma.

Espécies	Captura do pólen	Manuseio da antera	Contato com estigma	Permanência na flor (s)
<i>Xylocopa frontalis</i>	Pv	Vibração em conj.	+	3
<i>Xylocopa brasiliatorum</i>	Pv	Vibração em conj.	+	5
<i>Bombus atratus</i>	Pv	Vibração em conj.	+	6
<i>Bombus morio</i>	Pv	Vibração em conj.	+	6
<i>Augochloropsis</i> sp.	Pv	Vibração uma a uma	-	30
<i>Augochlora</i> sp.	Pv	Vibração uma a uma	-	35
<i>Pseudoaugochlorella</i> sp.	Pv	Vibração uma a uma	-	35
<i>Exomalopsis analis</i>	Pv	Vibração uma a uma	-	25
<i>Melípona marginata</i>	Pv	Vibração uma a uma	-	20
<i>Tetragonisca angustula</i>	Pi	Coleta em pétalas	-	25

EFICIÊNCIA DO POLINIZADOR

Os polinizadores efetivos foram *Xylocopa frontalis*, *Xylocopa brasiliatorum*, *Bombus atratus* e *Bombus morio*, por contatarem o estigma em seu comportamento de coleta de pólen.

As flores expostas à visita controlada às abelhas polinizadoras mais frequentes, *B. morio* e *X. frontalis*, demonstraram que apenas uma visita é suficiente para a polinização, visto que todas formaram fruto.

REMOÇÃO DAS PEÇAS FLORAIS

Nas 32 flores utilizadas para cada tratamento de manipulação das peças florais, não foi observado nenhum visitante em duas situações: (1) quando da retirada de todas as pétalas e (2) quando da retirada de todos os estames.

As flores das quais foram retirados os estames maiores foram visitadas por *Xylocopa frontalis* e *Bombus morio*. Nenhuma das duas espécies de abelha hesitou em coletar o pólen nessas flores íntegras.

As flores que tiveram seus estames menores removidos foram visitadas por *Xylocopa frontalis* e *Bombus morio*. No comportamento de coleta de pólen, *B. morio* não hesitou em visitar essas flores íntegras. *X. frontalis*, entretanto, apesar de coletar pólen nessas flores, demorava mais tempo (5s) juntando os estames maiores para vibrar.

DISCUSSÃO

MORFOLOGIA E BIOLOGIA FLORAL

A estrutura floral observada em *T. pulchra* é característica da família Melastomataceae, estando relacionada à polinização vibrátil, descrita por Buchmann & Hurley (1978), cujo recurso disponível é o pólen produzido em quantidades abundantes e liberado em forma de nuvem. *T. pulchra* apresenta antese diurna, corola com padrão visível de coloração, estames vistosos, anteras poricidas, grãos de pólen pequenos e leves, liberados por vibração mecânica direta, enquadrando-se na síndrome da melitofilia descrita por Faegri & van der Pijl (1979). Esta combinação de características e a deiscência das anteras definiram a polinização por vibração (buzz pollination). Além dos atrativos visuais, os osmóforos localizados nos filetes das anteras maiores e no estilete podem ser um fator adicional na atração das abelhas.

As flores de *T. pulchra* apresentam hercogamia, ou seja, o estigma está localizado distante das anteras, diminuindo as chances de pólen endógeno atingir o estigma, favorecendo a polinização cruzada. A hercogamia, aliada ao fato do pólen estar inserido em anteras poricidas, são os principais meios que promovem a polinização cruzada nesta família, tornando quase nulas as chances de ocorrer autopolinização espontânea (Renner 1998). No entanto, a dicogamia no gênero *Monochaetum* (Almeda, 1978), e dioícia no gênero *Miconia* (Renner, 1998), são outros mecanismos que favorecem a xenogamia.

Na pré-ntese a umidade no interior das anteras de *T. pulchra* mantém os grãos de pólen aglutinados, entretanto, com o aumento da temperatura ambiente o pólen perde umidade gradativamente, tornando-se seco e pulverulento, processo imprescindível para sua retirada. Dessa forma, o sincronismo entre perda de água do pólen e 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 em *T. pulchra* não está relacionado com a fertilidade do pólen, restringindo-se à diferença de tamanho, o que, teoricamente, está relacionado à deposição diferenciada de pólen no corpo dos visitantes e ao “efeito balancim” produzido pelos estames menores no contato com o estigma. 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 *T. pulchra* é muito semelhante e não foram verificadas diferenças funcionais no pólen, como frequentemente 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) relata a estratégia de engano dos polinizadores, na qual os apêndices do conectivo assemelham-se aos estames em alguns gêneros de Melastomataceae, enquanto a abelha vibra este falso estame (apêndice do conectivo), o pólen fértil é expulso das anteras aderindo em seu abdômen.

A maneira como o pólen é expulso das anteras pode sugerir contaminação do estigma com o pólen da mesma flor. Mas, no momento em que pousam, as abelhas de grande porte contactam o estigma, obstruindo-o com seu corpo enquanto realizam a vibração, evitando autopolinização. O pólen é liberado gradativamente durante as visitas, maximizando a dispersão do pólen. Dessa maneira, o estigma 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, que eventualmente receberem outra visita, são realizadas em grandes intervalos, o que significa tempo suficiente para a germinação dos grãos, assegurando sua aderência às papilas estigmáticas e diminuindo a probabilidade de serem desperdiçados pela vibração das abelhas subseqüentes.

Tibouchina pulchra, além de possuir anteras poricidas, que representam um dos mecanismos mais sofisticados para proteger o pólen da ação da chuva e dos pilhadores (Harter *et al* 2002), apresentam outra peculiaridade, a alteração de coloração de suas peças florais. Deve-se ressaltar que essa mudança de cor das peças florais é um fenômeno comum em Melastomataceae (Renner 1989), sendo observada em flores de outras espécies, como por exemplo, *Miconia mirabilis*, *M. dodecandra*, *M. serrulata*, *M. stenostachya* (Baumgratz & Silva 1986/1988) e *Tibouchina sellowiana* (Goldenberg & Varassin 2001).

Segundo Muller (*apud* Baumgratz & Silva 1986/1988), a alteração de coloração das peças florais pode trazer ou não vantagem à planta. Para *T. pulchra* pode ocorrer os dois fenômenos, a vantagem: a coloração rosa de todas as peças florais poderiam indicar ao inseto ausência de recurso fazendo com que o inseto se dirigisse a flores brancas, desse modo não há perda de energia na busca pelo recurso, uma vez que o inseto se dirige a flores com as anteras com pólen; desvantagem: provavelmente, a mudança de cor não está relacionada com a fertilidade da planta, visto que flores de 2º dia apresentam pólen viável e estigma receptivo. Se esta mudança de coloração ocorrer antes da visita do inseto, haverá perda do material nutritivo (pólen), uma vez que não ocorrerá mais visita dos mesmos e, geralmente, tais flores fenecem.

SISTEMA REPRODUTIVO

A frutificação de *Tibouchina pulchra* em condições naturais é bastante elevada e semelhante à frutificação nos experimentos de polinização cruzada e autopolinização manual, indicando a ausência de mecanismos de auto-incompatibilidade e de manutenção preferencial de frutos provenientes de polinização cruzada. Uma vez que não há autopolinização espontânea, nem produção de frutos apomíticos, esta espécie depende de abelhas para se reproduzir. A receptividade do estigma e a viabilidade do pólen ocorrem sincronicamente, abrindo possibilidade para a autopolinização.

Renner (1989) infere que em Melastomataceae a polinização vibrátil é tão eficiente que, uma vez estabelecida, dificilmente qualquer outro mecanismo de polinização pode evoluir, mesmo em grupos muito rico em espécies. O tipo básico de flores em Melastomataceae seria provavelmente o resultado de co-evolução entre antigos ancestrais de Melastomataceae e abelhas (Renner 1990).

Tibouchina pulchra, apesar de auto-compatível, requer um vetor de pólen para seu sucesso reprodutivo. O sistema de polinização cruzada de uma espécie pode ser influenciado pela atividade do polinizador e pela densidade de flores. Em populações com baixa densidade floral ocorre aumento na dispersão do pólen e menor incidência de autopolinização (Levin & Kirsten 1974). Nas interações entre planta e seus polinizadores, o espaço entre plantas e seus polinizadores, o espaço entre plantas vizinhas parece ser fator importante no sucesso da polinização (Kunin 1997). Como *T. pulchra* é auto-compatível, a eficiência da polinização cruzada também pode ser determinada pelo comportamento da planta, pela distribuição espacial dos indivíduos e pelo número de flores disponíveis simultaneamente na planta.

A reprodução cruzada provê duas vantagens, (1) a cada nova planta contém uma nova combinação de genes podendo adaptar-se a variações ambientais; (2) a recombinação gênica pode prevenir a expressão de mutações deletérias (Proctor *et al.* 1996). Assim, o alto índice de reprodução sexuada contribui para a sobrevivência dos descendentes e conseqüentemente da espécie.

A autocompatibilidade, por sua vez, demonstra sua vantagem quando novas populações são fundadas por apenas um indivíduo (Wells 1979). Neste caso, a reprodução cruzada é impossível, devido à ausência de outros indivíduos da espécie nas proximidades. Provavelmente através da autocompatibilidade, *T. pulchra* consiga maior sucesso no estabelecimento em clareiras recém abertas, conferindo sua capacidade de pioneirismo.

O alto número de sementes germinadas em *T. pulchra* sugere que a viabilidade é satisfatória para todos os tratamentos. Geralmente espécies pioneiras apresentam fotoblastismo positivo e alta produção de sementes pequena e com alta longevidade (Souza & Souza 2001). Provavelmente, a germinação das sementes em *T. pulchra*, provenientes da polinização cruzada, que retardaram seu processo de germinação comparativamente com os outros tratamentos, funcionaria como uma estratégia da planta, que reconheceria a nova combinação gênica e manteria por mais tempo sementes viáveis no solo, constituindo um banco de sementes.

POLINIZAÇÕES TARDIAS

A taxa de frutificação em flores de primeiro dia com pólen oriundo de segundo dia demonstra que, nesse período, a polinização ainda é satisfatória, porém o pólen oriundo de terceiro dia demonstra um decréscimo na produção de frutos.

Investigando o sistema reprodutivo de *T. sellowiana*, uma espécie que apresenta mecanismo de alteração de coloração similar a *T. pulchra*, Goldenberg & Varassin (2001), inferem que, em flores de 2º dia, o sucesso reprodutivo é menor do que o de flores de 1º dia. Esses resultados não se aplicam a *T. pulchra* visto que o número de frutos formados em tratamentos de 2º dia foi similar àqueles obtidos em flores de 1º dia.

Ainda nesse trabalho, os autores inferem que o menor sucesso nas polinizações de segundo dia se dá porque os tubos polínicos levam entre 24h e 48h para atingir os óvulos e, é nesse período que os estiletos começam a cair. Em *T. pulchra*, a queda dos estiletos inicia-se após 120h da antese, dependendo do tratamento realizado, possibilitando a chegada do tubo polínico à micrópila, mesmo em flores polinizadas tardiamente.

As polinizações cruzadas e autopolinizações manuais realizadas com flores de segundo dia demonstram que tanto o estigma está receptivo, quanto os estames estão viáveis pela alta taxa de frutificação.

VISITANTES FLORAIS

A frequência dos visitantes de *Tibouchina pulchra* na população estudada intensifica-se por volta das 10:30h, quando as temperaturas começam a se elevar, tornando escassa por volta das 12:00 h quando as temperaturas são mais elevadas. O comportamento de vibração das abelhas para a coleta do pólen está relacionado com a termorregulação corpórea (Buchmann 1983). Dessa maneira, esse método de coleta parece estar mais apropriado aos horários com temperaturas mais amenas do dia (Renner 1989).

O comportamento dos insetos polinizadores observados em *T. pulchra* são semelhantes ao da maioria das espécies de Melastomataceae neotropicais, que frequentemente são visitadas por abelhas do gênero *Xylocopa*, *Melipona* e *Augochloropsis* (Renner 1989). Esse comportamento está relacionado com a presença de anteras tubulares e porcidas.

As espécies de abelhas encontradas em *T. pulchra* (*Bombus*, *Xylocopa*, *Melipona*, *Halictidae* e *Exomalopsis*), apresentam comportamento típico de visitação, vibrando as anteras na extração do pólen, esse tipo de coleta também foi observado em Solanaceae, no gênero *Solanum* (Carvalho *et al.* 2001; Bezerra & Machado 2003). Com exceção de *Tetragonisca angustula* que coletava o pólen deixado nas pétalas pelos visitantes maiores.

Os halictíneos são considerados pilhadores, já que vibram as anteras, mas seu tamanho diminuto não é suficiente para contatar o estigma da flor durante a coleta. Provavelmente, grande parte das espécies de Halictidae é pilhadora de espécies de Melastomataceae que possuem flores com diâmetro maior que dois centímetros, como *Henriettea succosa* DC. (Fracasso & Sazima 2004). Entretanto, esse comportamento de coleta poderia torná-los polinizadores efetivos de espécies de Melastomataceae em flores menores como *Miconia ciliata* (Melo & Machado 1998). 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.

O comportamento de coleta de pólen das espécies do gênero *Bombus* e *Xylocopa* encontradas em *T. pulchra* foram eficazes na polinização, pois, estas abelhas em apenas uma visita foram eficientes na formação do fruto.

A mesma espécie de abelha raramente visita a mesma flor num mesmo dia e, re-visitas ocorrem quando as flores brancas são escassas. Schmitt & Bertsch (1990) inferem que as abelhas utilizam marcas de odor como repelente e/ou atração usadas na exploração dos recursos. As abelhas solitárias utilizam marcas de dois tipos ou de um tipo com dois componentes: marcas de atração se a flor estiver no seu território, ou convenientes em sua

rota ou ainda se apresentar recurso em grande quantidade. Esse tipo de marca teria uma taxa de declínio lenta e seria provavelmente reconhecida individualmente. No caso de marcas de odor repulsivo, utilizado em flores recentemente visitadas, sua taxa de declínio seria relativamente mais rápida (Dukas & Real 1990). Gilbert *et al.* (2001) inferem que essas marcas não são individuais ou espécie-específicas, mas marcas generalizadas às quais outras espécies também respondem e que podem ter duração que varia de minutos a dias. Em *T. pulchra*, as marcas de odor podem sinalizar a ocorrência de visita prévia a determinada flor e, em virtude da grande quantidade de flores disponíveis, isso asseguraria ao visitante coleta de pólen a flores intocadas. Isto representaria uma economia de energia, 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).

Algumas espécies de Melastomataceae, como *Miconia pepericarpa* (Goldenberg e Shepherd 1998) e *Cambessedesia hilariana* (Fracasso & Sazima 2004), apresentam osmóforos, que se encontram no interior da corola, filetes, anteras, estilete e papilas estigmáticas provenientes dos tricomas glandulares. *T. pulchra* apresenta tricomas glandulares localizados nos filetes maiores e no estilete. Quando as pétalas e os estames forma retirados, não ocorreu visitação. É possível que os tricomas glandulares sejam osmóforos e importantes na atração dos insetos, aliados à coloração da flor. No primeiro dia os osmóforos atrairiam os insetos e, no segundo dia o odor já não estando tão perceptivo ao visitante e a coloração das peças florais alteradas induziria o visitante a flores de 1º dia.

Com a remoção de todas as pétalas ou com a remoção de todos os estames, provavelmente a abelha não é atraída pela ausência das peças florais e pelo pouco odor exalado, sugerindo a importância desse conjunto de estruturas para a eficiência da polinização.

A deiscência poricida, de certo modo, restringe a variedade de visitantes florais a apenas um grupo reduzido de abelhas, que conseguem vibrar seus músculos indiretos de vôo. Esse sistema reduz a perda de pólen, visto que há um direcionamento do pólen expelido, através da vibração, para partes bem definidas do corpo (Buchmann 1983). Porém, nas primeiras visitas, é visível a perda de quantidade considerável de grãos ao ser expelida a nuvem de pólen da antera. A deiscência poricida das anteras faz com que *Tibouchina pulchra* selecione uma guilda de polinizadores hábeis na coleta do recurso, ao passo que a abundância de flores aliadas à alteração das peças florais e a grande quantidade de pólen promovem a constância das abelhas, garantindo assim a sua reprodução.

O fenômeno de mudança de coloração de peças florais ocorre em 214 gêneros, 74 famílias e 33 ordens (Weiss 1995). O fenômeno é mais comumente encontrado entre os grupos considerados derivados e raramente basais.

Em *Rhexia virginica* as flores de 2^o dia ao alterarem sua coloração, tornam-se estéreis e não recebem mais visitas. Essa mudança de cor funcionaria como um *display*, direcionando os visitantes às flores férteis (Gross & Kukuk 2001). Em *T. pulchra*, as flores velhas têm efeito de permanência, pois, a longa distância, funcionaria com atrativo aos polinizadores e, a curta distância, a mudança de coloração das flores associada à diminuição de odor, direcionariam o visitante a flores brancas. Weiss (1995) menciona em seu trabalho, a retirada de flores velhas da planta, e comparativamente com um indivíduo sem manipulação, constatou a diminuição de visitantes, indicando um efeito de permanência.

As flores que foram ensacadas na antese e, expostas no 2^o dia, apesar de terem suas anteras repletas de pólen, não receberam visita de seus polinizadores efetivos, com exceção dos halictíneos. Isso pode ter ocorrido por alguns fatores, devido à grande quantidade de flores brancas; à escassez dos visitantes devido às temperaturas elevadas; à umidade alta nos dias em que se realizaram os testes ou ainda ao fato da coloração rosa indicar ao inseto escassez de recurso.

Weiss (1991) sugere que a peça floral que muda de cor está relacionada ao tipo de polinizador. Flores polinizadas por abelhas, normalmente apresentam mudança de coloração numa região específica, como por exemplo, o centro da flor, o hipanto, nectários, guias de néctar, etc.; flores polinizadas por morcegos ou mariposas sofrem alteração de cor em todas as peças florais. Em *T. pulchra*, uma espécie polinizada por abelha, a mudança de coloração ocorre em toda a flor, e não em uma região específica da flor, não corroborando com hipótese de Weiss.

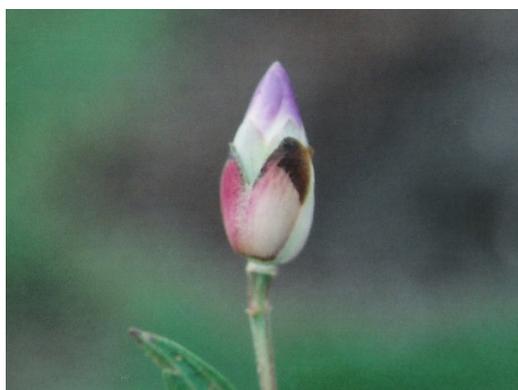
A receptividade do estigma, permanecendo viável nas flores de 2^o e 3^o dia, demonstra que a alteração da coloração das peças floral não está relacionada com a fertilização dos óvulos. As flores de 2^o dia nesta espécie, podem ser fertilizadas com sucesso, porém não são atrativas aos polinizadores efetivos, com exceção de *Bombus* que freqüentou flores rosa quando o número de flores brancas decresceu. O número de flores rosa visitadas por um mesmo indivíduo não ultrapassava o número de flores brancas na visitação.

Os resultados obtidos com *T. pulchra* sugerem que alterações de cor das peças florais não podem ser atribuídas à polinização ou à fecundação do estigma. As flores rosa poderiam estar funcionando como um atrativo visual adicional, de longa distância, na atração dos visitantes às flores.

LISTA DE FIGURAS



a



b



c

Fig. 1- (a) Botões florais, com presença das bractéolas. (b) Botões florais, sem duas bractéolas. (c) Botões na pré-antese.



a



b



c

Fig 2- (a) Flor de 1^o dia. (b) Flor de 2^o dia. (c) Flor de 3^o dia.



a



b



c

Fig. 3 (a) Flor de 4^o dia. (b) Queda dos estames. (c) Presença do estigma e pétalas.



a



b



c

Fig.4- (a) Início do desenvolvimento do fruto. (b) Fruto com coloração esverdeada. (c) Fruto da floração anterior.

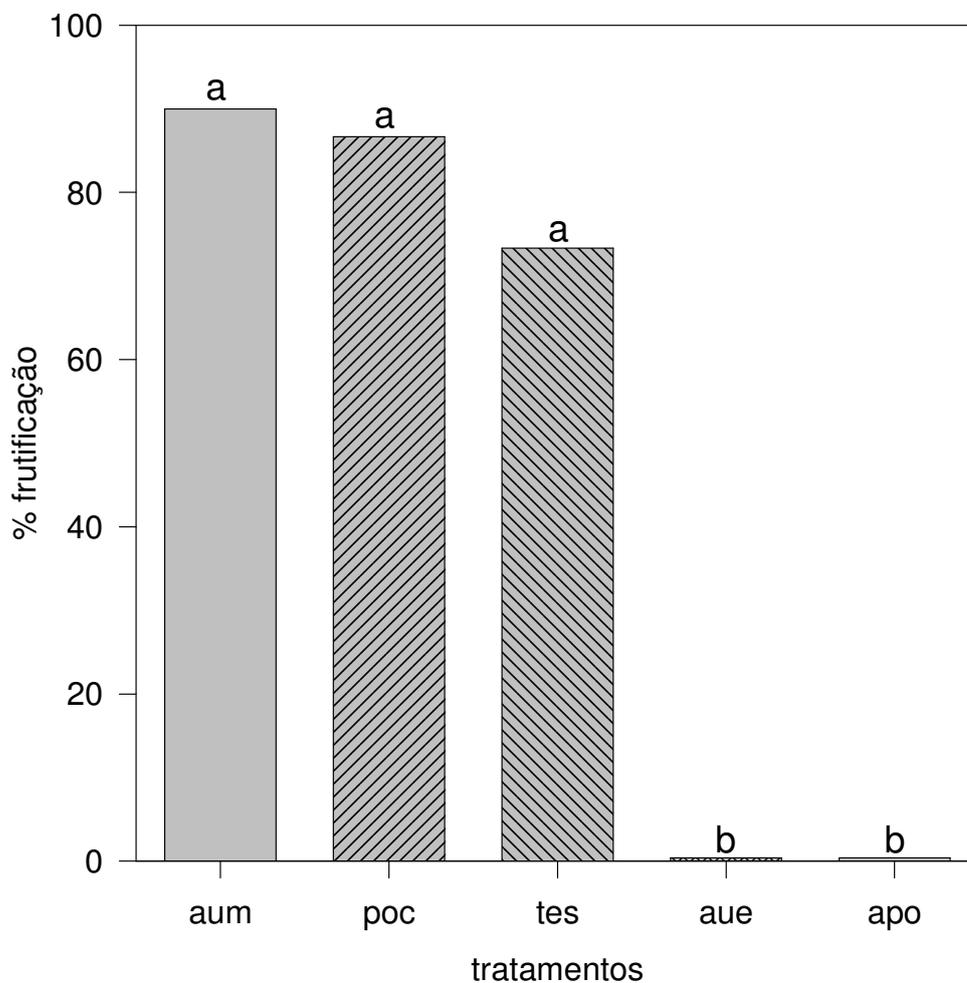


Fig. 5 – Porcentagem de formação de fruto nos tratamentos controlados nas flores de *Tibouchina pulchra*. Sendo: Aum-Autopolinização manual, poc – polinização cruzada, test- testemunha, que- autopolinização espontânea, apo- apomixia. Realizadas em Morretes/PR, de 5 de janeiro /04 a 20 fevereiro/05.

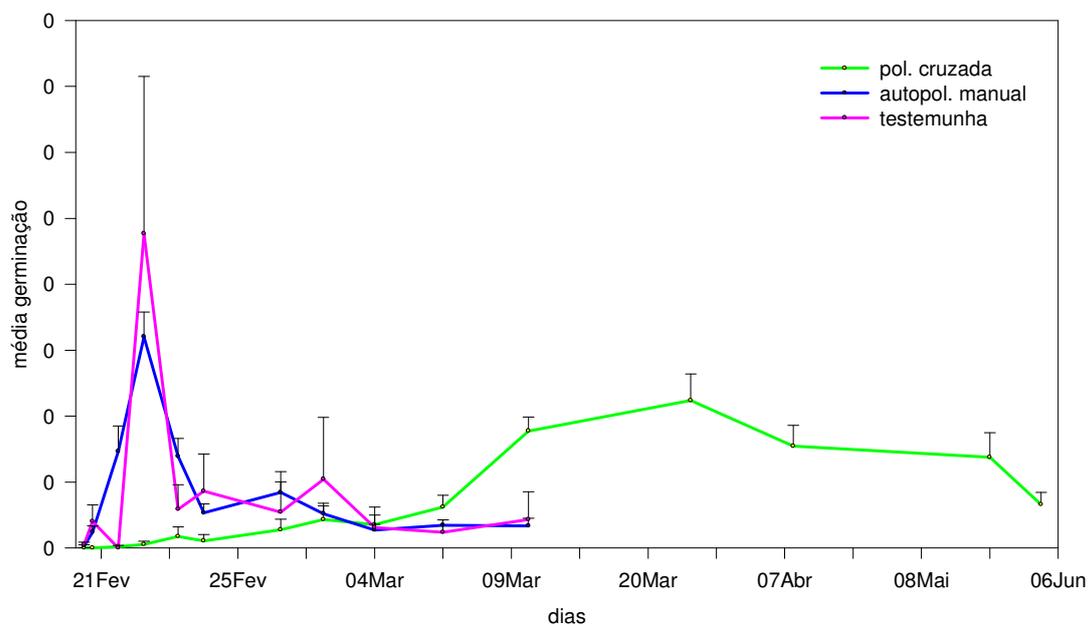


Fig.6- Médica de germinação das sementes de *Tibouchina pulchra*, nos tratamentos controlados de polinização cruzada, autopolinização manual e testemunha, Morretes/PR, entre 15 de fevereiro a 06 de junho de 2005.

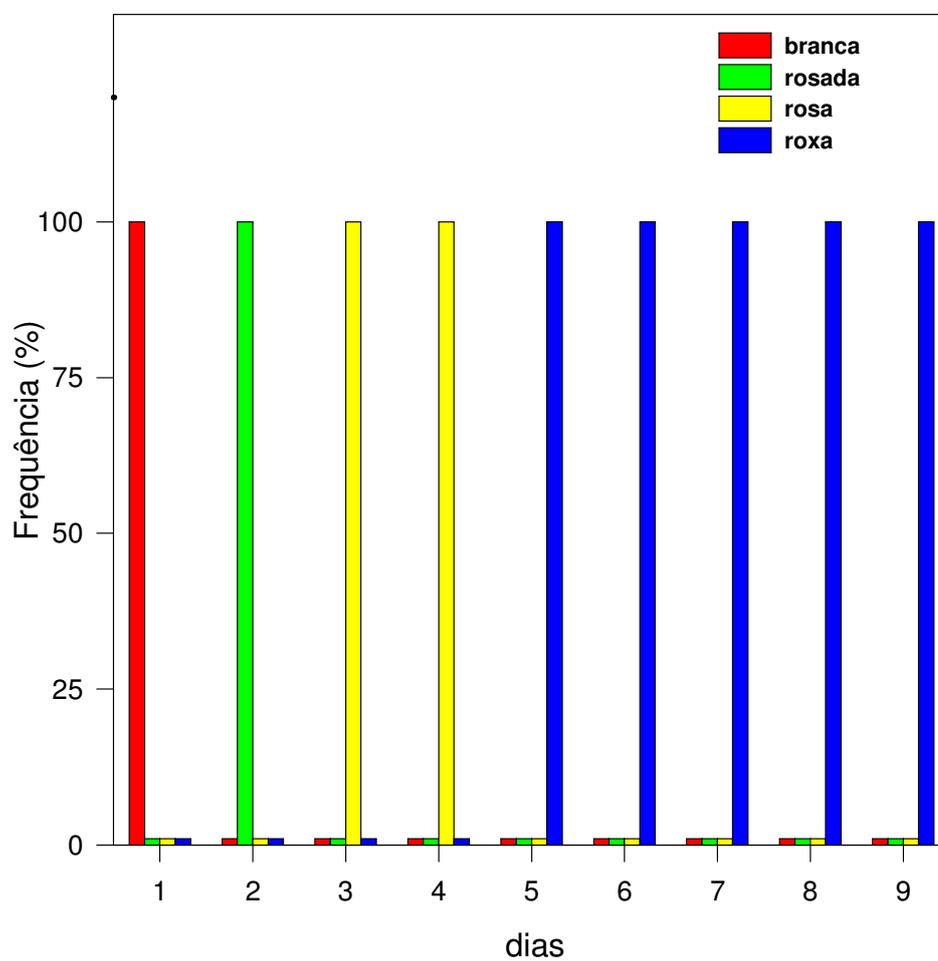


Fig. 7 Porcentagem de gradação de cores das pétalas das flores de *Tibouchina pulchra*, realizado no tratamento de autopolinização espontânea e apomixia, desde a antese até a queda das peças florais, em Morretes/PR, de 5 de dezembro/04 a 20 de fevereiro/05.

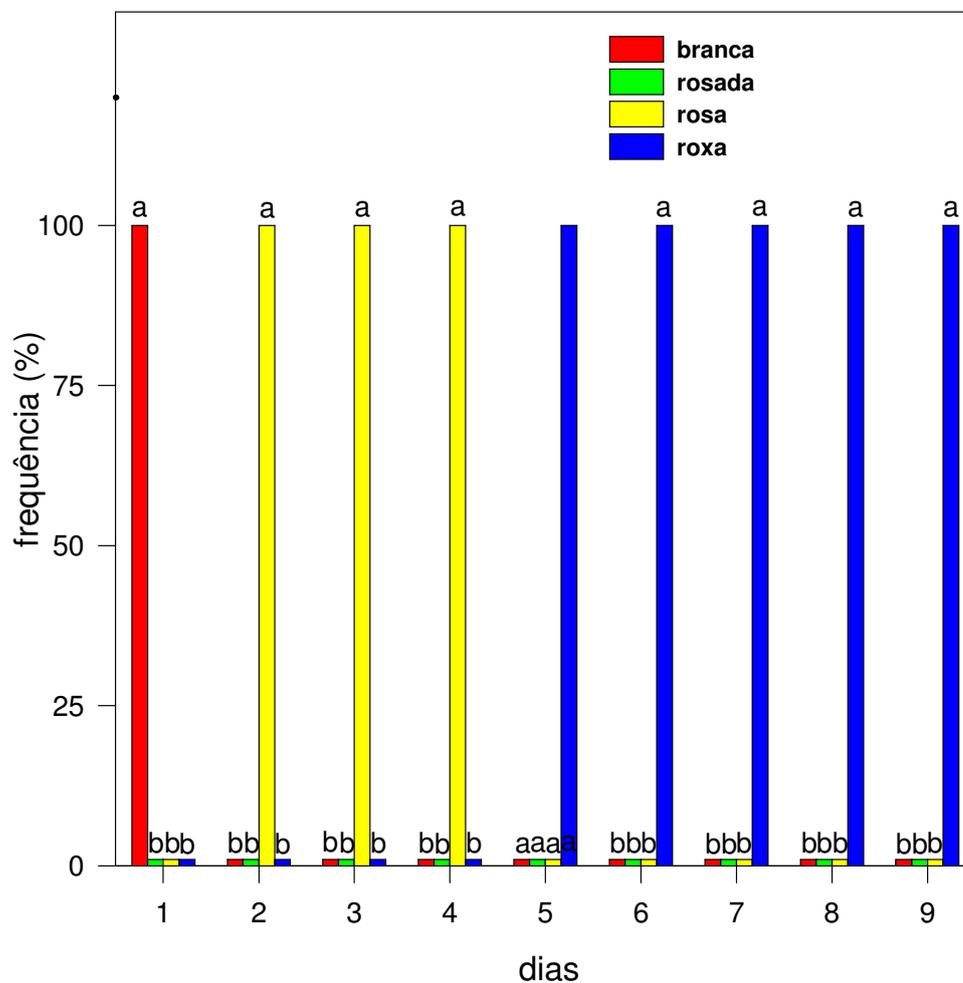


Fig. 8- Porcentagem de gradação de cores das pétalas das flores de *Tibouchina pulchra*, realizado no tratamento de autopolinização manual e polinização cruzada, desde a antese até a queda das peças florais, em Morretes/PR, de 5 de dezembro/04 a 20 de fevereiro/05.

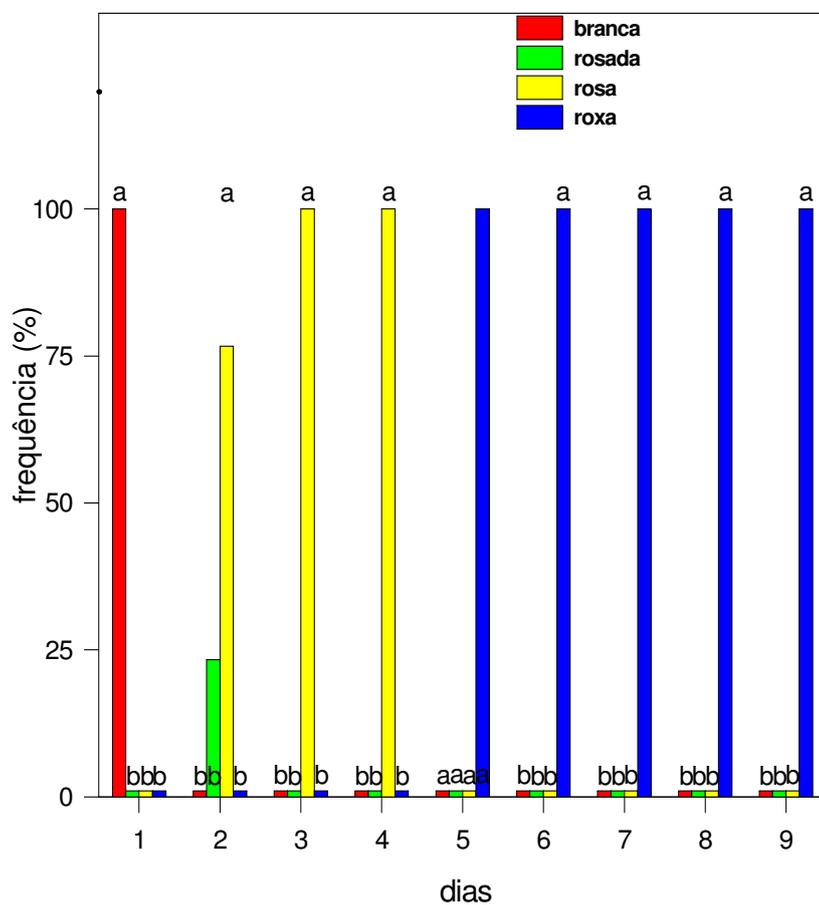


Fig. 9- Porcentagem de gradação de cores das pétalas das flores de *Tibouchina pulchra*, realizado no tratamento acompanhado do material testemunha, desde a antese até a queda das peças florais, em Morretes/PR, de 5 de dezembro/04 a 20 de fevereiro/05.

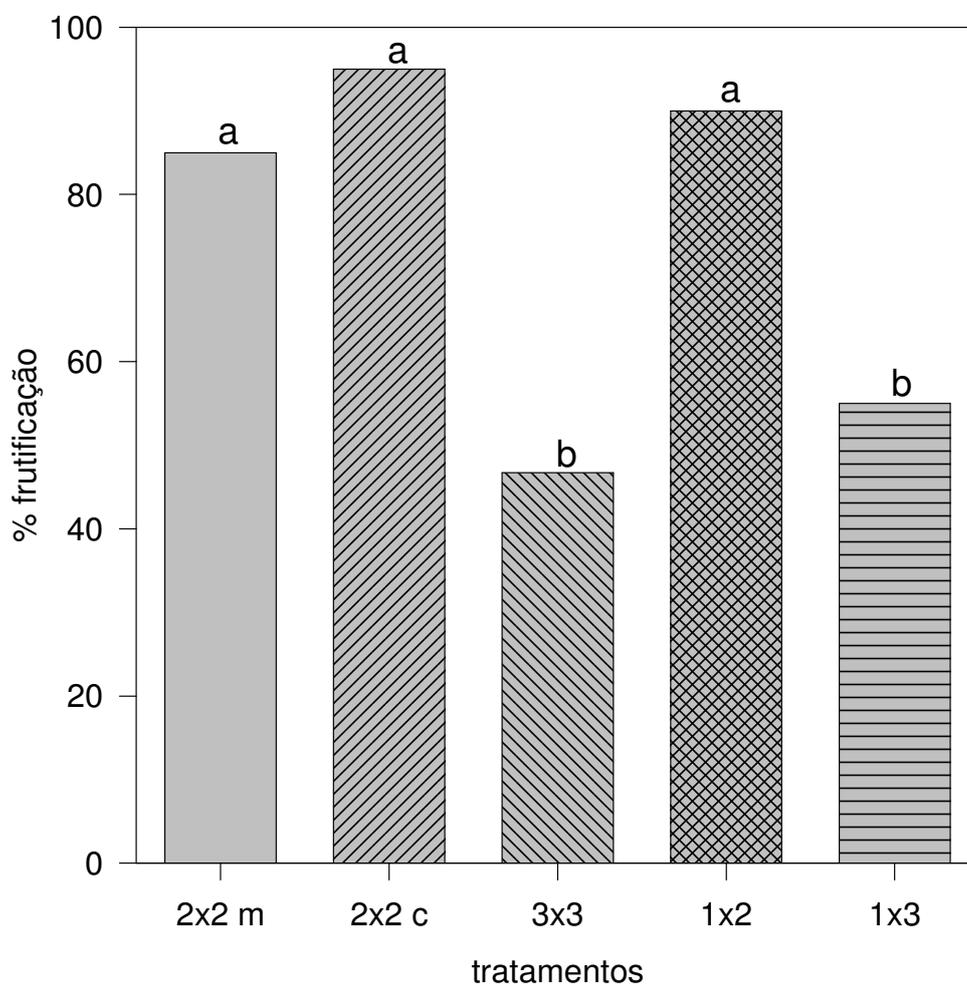


Fig. 10- Porcentagem de formação de frutos nos tratamentos controlados das polinizações tardias, em flores de *Tibouchina pulchra*. Sendo: 2x2m- flores de 2º dia polinizadas por meio de autopolinização manual, 2x2- flores de 2º dia polinizadas por meio de polinização cruzada, 3x3- flores de 3º dia polinizadas por meio de polinização cruzada. 1x2 e 1x3- flores de 1º dia polinizadas por meio de polinização cruzada com pólen oriundo de flores de 2º e 3º dia, respectivamente em Morretes/PR, de 5 de janeiro/04 a 20 de fevereiro/05.

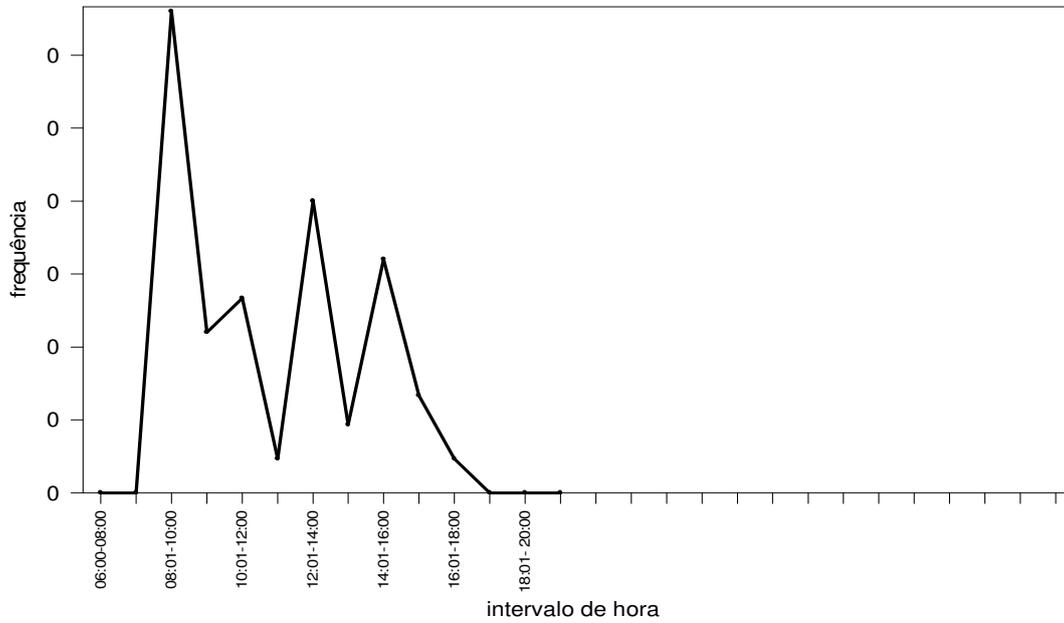


Fig. 11- Frequência das espécies de Halictidae em flores de *Tibouchina pulchra*. Morretes/PR, de 05 de dezembro/04 a 20 de fevereiro/05.

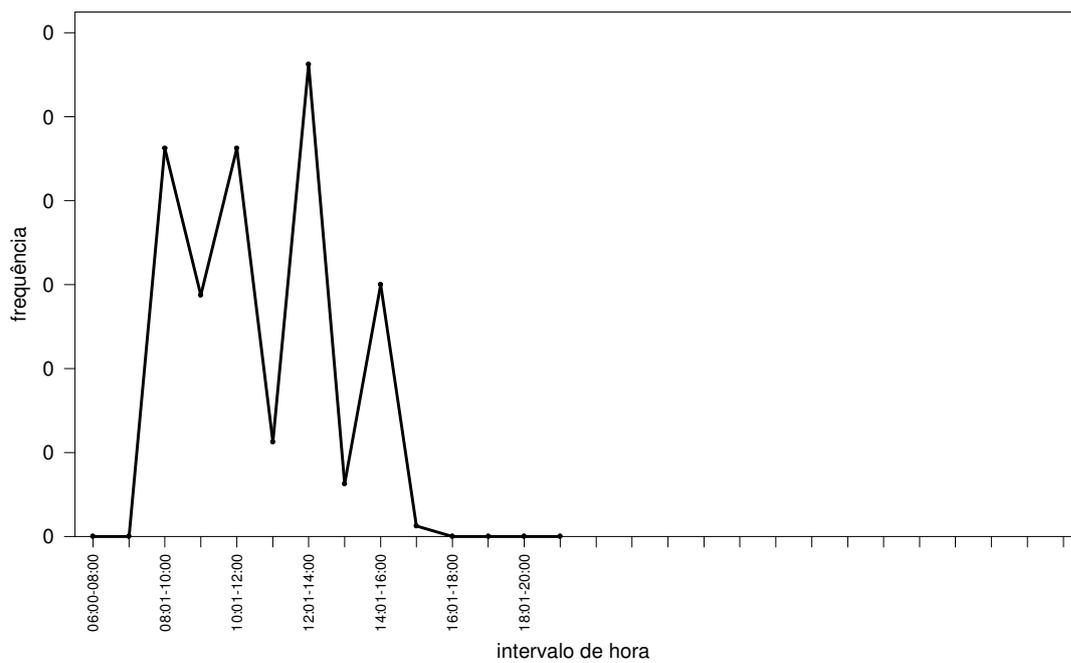


Fig. 12- Frequência das espécies de *Bombus* em flores de *Tibouchina pulchra*. Morretes/PR, de 05 de dezembro/04 a 20 de fevereiro/05.

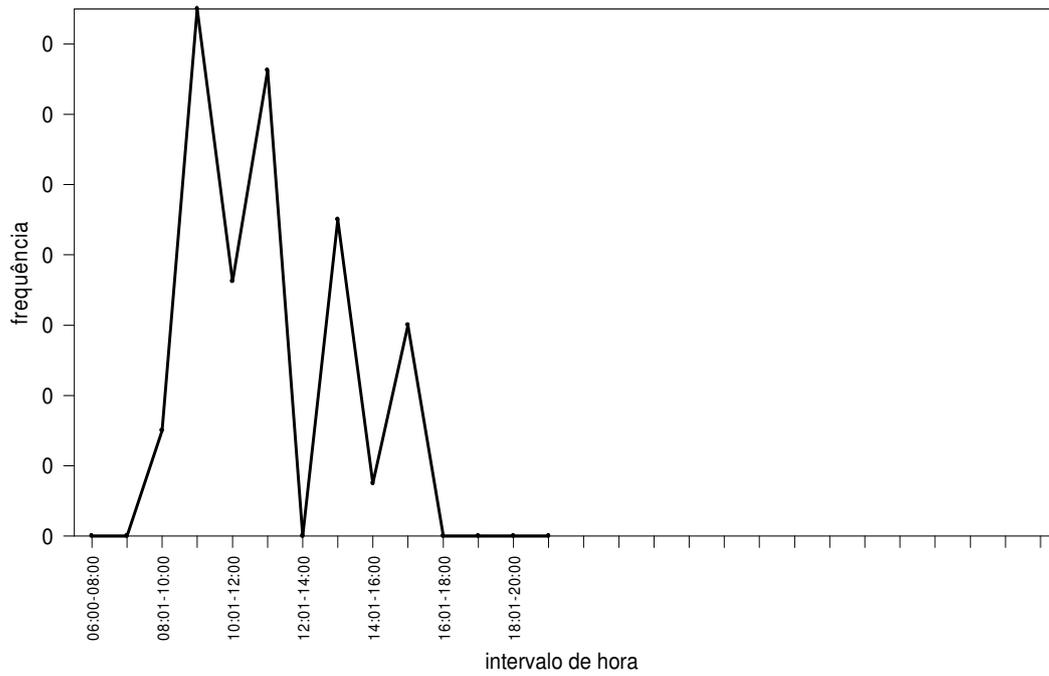
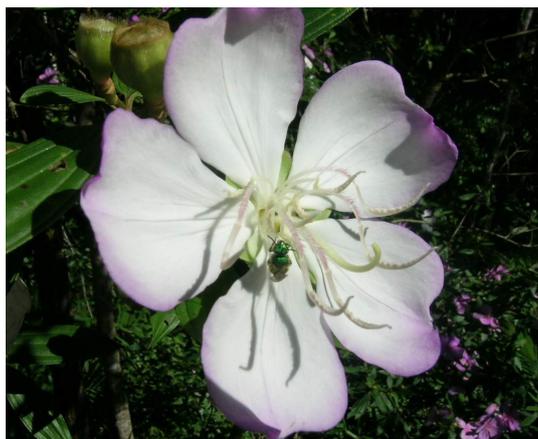


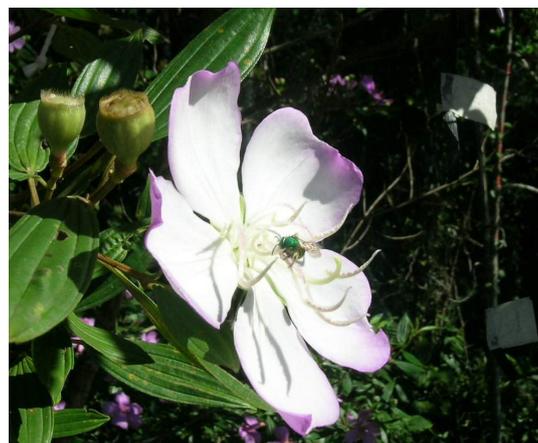
Fig. 13- Frequência das espécies de *Xylocopa* em flores de *Tibouchina pulchra*. Morretes/PR, de 05 de dezembro/04 a 20 de fevereiro/05.



a



b



c

Fig.14 (a, b e c) Halictíneos forrageando flores brancas. Note que não há distinção entre os estames dimórficos.



a



b



c

Fig. 15 (a, b e c) Comportamento de *Bombus morio* em flores de 1º dia.

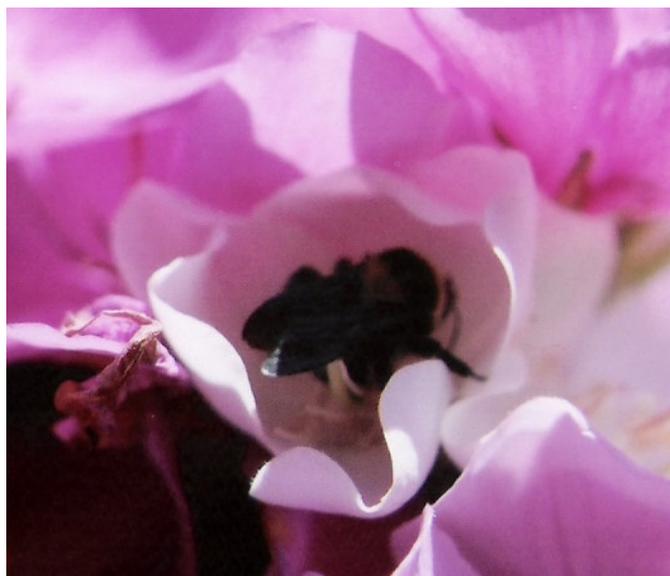


Fig. 16 (a) Comportamento de *Bombus atratus* em flores de 1º dia.



a



b



c

Fig. 17 (a, b e c) Comportamento de *Xylocopa frontalis* ao forragear as flores brancas.



a



b

Fig. 18 (a e b) Halictíneos forrageando em flores do 2º dia.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ALMEDA, F. 1978. Systematics of the genus *Monochaetum* (Melastomataceae) in Mexico Central America. *Univ. Calif. Publ. Bot.* 75: 1-113.
- ALMEDA, F. & MARTINS, A. B. 2001. New combinations and names in some brazilian Microliceae (Melastomataceae), with notes on the delimitation of Lavoisiera, Microlicia, and Trembleya. *Novon* 11: 1-7.
- ALVES-dos-SANTOS, I. 1999. Abelhas e plantas melíferas da mata atlântica, restinga e dunas do litoral norte do estado do Rio Grande do Sul. *Rev.Bras.Entomol.*43: 191-223.
- AVANZI, M. R. & CAMPOS, M. J. O. 1997. Estrutura de guildas de polinização de *Solanum aculeatissimum* Jacq. E *S.variabile* Mart. (Solanaceae). *Rev.Brasil.Biol.* 57(2): 247-256.
- BAUMGRATZ, J. F. & SILVA, N. M. F. 1986|1988. Ecologia da polinização de *Miconia stenostachya* DC. *Rodriguesia* 64|66 (38|40): 11-23.
- BARROSO, G. M., PEIXOTO, A. L., COSTA, C. G.; ICHASO, C.L.F.; GUIMARÃES, E. F. & LIMA, H. C. 1984. *Sistemática de angiospermas do Brasil*. Vol.2, Imprensa Universitária da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- BERTIN, R.I. BARNES, C. & GUTTMAN, S.I. 1989. Self-sterility and cryptic self-fertility in *Campsis radicans* (Bignoniaceae). *Bot. Gaz.* 150: 397-403.
- 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 Bot.* 17 (2): 247-257.
- BUCHMANN, S. L & HURLEY, J. P. 1978. A biophysical model for buzz pollination in Angiosperma. *J Theor. Biol.* 72: 639-657.
- BUCHMANN, S. L. 1983. Buzz pollination in angiosperms. In: C.E. Jones & R.J. Little

- (eds.) *Handbook of experimental pollination biology*. Van Nostrand Reinhold. New York, P 294-309.
- COLEMAN, J. R. & COLEMAN, M. A. 1982. Reproductive biology of andromonoecious *Solanum* (*Solanum palinacanthum* Dunal.) *Biotropica* 14: 55-87.
- CARVALHO, C. A. L.; MARQUES, O. M.; VIDAL, C. A. & NEVES, A. M. S. 2001. Comportamento de forrageio de abelhas (Hymenoptera, Apoidea) em flores de *Solanum palinacanthum* Dunal. (Solanaceae). *Rev. Bras. Zool.* (3): 35-44.
- DUKAS, R. & DAFNI, A. 1990. Buzz pollination in three nectariferous *Boraginaceae* and possible evolution of buzz-pollinated flowers. *Plant Systematic and Evolution* 169: 65-68.
- DUKAS, R. & REAL, L. A. 1991. Learning foraging tasks by bees: a comparison between social and solitary species. *Animal Behaviour* 42: 269-276.
- ENDRESS, P. K. 1994. Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge University Press, Cambridge. 551pp.
- FAEGRI, K. & VAN DER PIJL, L. 1979. *The principles of pollination ecology*. Pergamon Press, New York.
- FRACASSO, C. M. & SAZIMA, M. 2004. Polinização de *Cambessedesia hilariana* (Kunth) DC. (Melastomataceae): sucesso reprodutivo versus diversidade, comportamento e frequência de visitas de abelhas. *Rev. Bras. Bot.* 27 (3): 794-804.
- GENTRY, A. H. 1994. 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 flower made by a solitary bee. *Animal Behaviour* 61: 64-68.

- 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, São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 24(3): 283-288.
- GROSS, C.L. & KUKUK, P. F. 2001. Foraging strategies of *Amegilla anomola* at the flowers of *Melastoma affine*- no evidence separate feeding and pollination anthers. *Acta Hort.* 561:171178.
- GUIMARÃES, R. J. F. & RANGA, N. T. 1993. Sistema de reprodução de *Rhynchanthera dichotoma* (Lam.) DC. (Melastomataceae). *Acta Bot. Bras.* 11: 41-44.
- 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. *J. of Apicultural Research* 40: 9-16.
- JANZEN, D. H. 1980. *Ecologia Vegetal nos trópicos*. São Paulo: Ed. EPU/IEDUSP, 79pp.
- KUNIN, W.E. 1997. Population size and density effects in pollination: pollinator foraging and plant reproductive success in experimental arrays of *Brassica kaber*. *Journal of Ecology* 85:225-234.
- LAROCA, S. 1970. Contribuição para o conhecimento das relações entre abelhas e flores: coleta pólen das anteras tubulares de certas Melastomataceae. *Rev. Floresta* 2: 69-74.
- LARSON, B. M. H. & BARRETT, S. C. H. 1999b. The ecology of pollen limitation in buzz-pollination *Rhexia virginica* (Melastomataceae). *Jour. Ecol.* 87: 371-381.
- LEITÃO-FILHO, H.F., PAGANO, S.N., CESAR, O., TIMONI, J.L. & RUEDA, J.J. 1993. *Ecologia da Mata Atlântica em Cubatão*. Editora da Universidade Estadual Paulista/Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

- LEVIN, D. A. & KERSTER H.W. 1974. Gene flow in seed plants. *Evolutionary Biology* 7: 139-220.
- LORENZI, H. 1992. *Árvores Brasileiras*. São Paulo, Ed. Plantarum, 368p.
- MAACK, R. 1981. *Geografia física do estado do Paraná*. José Olimpo, Rio de Janeiro. 450p.
- MARTÍNEZ-RAMOS, M., 1985, Claros, ciclos vitales de las arboles tropicales y regeneración natural de las selvas altas perenifolias. In: A. Gomez-Pompa & S. Del Almo (eds.), *Investigaciones sobre la regeneración de selvas altas em Meracruz, Mexico*, Volumen II, INIREB Edito-rial Alhambra Mexicana Xalapa, Mexico, 421p.
- MELO, G. F. & MACHADO, I. C. 1996. Biologia reprodutiva de *Henrittea succosa* DC. (Melastomataceae). *Rrev. Bras. Biol.* 56 (2): 383-389.
- MELO, G.F. & MACHADO, I. C & M. LUCEÑO.1999. Reprodución de três espécies de *Clidemia* (Melastomataceae) em Brasil. *Rev. Biol. Trop.* 47:359-363.
- MELO, G.F. & MACHADO, I. C. 1998. Auto-incompatibilidade em *Miconia ciliata* (L. C.) DC. (Melastomataceae). *Acta Botânica Brasília* 12:113-120.
- POMPÉIA, S. L.; PRADELLA, D.Z.A.; MARTINS, S. E.; SANTOS, R. C. & DINIZ, K. M. 1989. A sementeira área na serra do Mar em Cubatão. *Ambiente*, 3(1): 13-19.
- PONT, A. C. 1994. Muscidae (Diptera) as flower-visitors and pollen feeders. *Dipterists digest* 1: 58-61.
- PROCTOR, M.; YEO, P. & LACK, A.1972. *The pollination of the flowers*. Taplinger Publ. Company, New York. 418p.
- PROCTOR, M.; YEO, P. & LACK, A. 1996. *The natural history of pollination*. Harper Collins Publishers, New York.

- RENNER, S. S. 1986/1987. Reproductive biology of *Bellucia* (Melastomataceae). *Acta Amazonica* 16/17 (número único): 197-208.
- RENNER, S. S. 1989. A survey of reproductive biology in neotropical Melastomataceae and Memecylaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 76: 496-518.
- RENNER, S. S. 1990. Reproduction and evolution in some genera of neotropical Melastomataceae. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 55: 143-152.
- RENNER, S. S. 1993. Phylogeny and classification of the Melastomataceae and Memecylaceae. *Nord. J. Bot.* 13: 519- 540.
- RICHARDS, A. J. 1997. Plant breeding system. London: George Allen & Univin, 529pp.
- ROMERO, R. & MARTINS, A. B. 2002. Melastomataceae do Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil. *Rev. Brasil. Bot.* 25 (1): 19-24.
- SAS Institute. 1990a. SAS/STAT user's guide, vol. 1. SAS Institute, Cary, NC.
- SAS Institute. 1990b. SAS/STAT user's guide, vol. 2. SAS Institute, Cary, NC.
- SCHIMITT, U. & BERTSCH, A. 1990. Do foraging bumbles scent-mark food source and does it matter. *Oecologia* 82: 137-144.
- SEAVEY, S. R. & BAWA, K. S. 1986. Late-acting self-incompatibility in Angiosperma. *Bot. Review* 52: 195-219.
- SILVA, C. F. 1989. Composição florística e estrutura fitossociológica da floresta tropical ombrófila da Encosta Atlântica no município de Morretes, PR. *Boletim de Pesquisa Florestal* 18/19: 31-39.
- SOUZA, M. L. D. R. 1986. Estúdio Taxonômico do gênero *Tibouchina* Aubl. (Melastomataceae) no Rio Grande do Sul, Brasil. *Insula* 16: 110.

- STEIN, B. A. & TOBE, H. 1989. Floral nectaries in Melastomataceae and their systematic and evolutionary implications. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 76: 519-531.
- VOGEL, S. T. 1978. Evolutionary shifts from reward to deception in pollen flower. *In*: A. J. (ed.) *The pollination of flower by insects*. Academic Press, London 89-95pp.
- WEISS, M. R. 1991. Floral color changes as cues for pollinator. *Nature* 354:227-229.
- WEISS, M. R. 1995. Floral color changes: a windspread functional convergence. *American Journal of Botany* 82: 167-185.
- WELLS, H. 1979. Self-fertilization: advantageous or deleterious! *Evolution* 33 (1):352-255.
- WURDACK, J. J. 1962. Melastomataceae of Santa Catarina. *Sellowia*. 14: 109-217.

UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM ENTOMOLOGIA

**BIOLOGIA DAS INTERAÇÕES ENTRE OS VISITANTES
FLORAIS (HYMENOPTERA, APIDAE) E *Tibouchina pulchra*
Cogn. (MELASTOMATACEAE)**

JULIANA BERTOLINO DA SILVA

Dissertação apresentada como requisito parcial à obtenção do grau de Mestre em Ciências, pelo Curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Entomologia), do Setor de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Paraná, sob a orientação do Prof. Dr. Gabriel Augusto Rodrigues de Melo e co-orientação do Prof. Dr. Renato Goldenberg.

Curitiba, 2006.

Curitiba, fevereiro de 2006.

BANCA EXAMINADORA

Prof. Dr. Gabriel A. R.Melo _____

Prof. Dr. Renato Goldenberg _____

Prof. Dr. Fernando A. Silveira _____

Prof. Dra. Isabela G. Varassin _____

Aos meus pais pelo amor incondicional e
ao mimo que acalenta os meus dias.

Dedico

Aos meus irmãos Ricardo e Camila
que tanto amo.

Ofereço

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos que participaram de alguma forma na elaboração deste trabalho.

Agradeço ao Gabriel e ao Renato pela oportunidade de trabalho.

Aos professores da Engenharia Florestal pelo material e espaço cedido.

Ao Prof. Dr. Carlos A H. Flechtmann pelas análises estatísticas, ensinamentos, apoio e dedicação, um muito obrigado especial.

Aos professores que participaram da Banca examinadora Dr. Fernando A. Silveira e a Dra. Isabela G. Varassin pelas sugestões e contribuições no meu trabalho.

A CAPES - Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de nível superior, pela bolsa de estudos concedida.

Ao seu Daniel, a D. Diva e a Jack por todo apoio, carinho e dedicação, sem vocês meus dias não teriam o mesmo colorido naqueles dias tão solitários de trabalho no campo.

A todas aquelas pessoas que de alguma maneira contribuíram para o desenvolvimento do meu projeto. Muito Obrigada!

À turma da sala 7, Eduardo, Ozana, Andreza, Marcel, Stela e aos agregados que já são parte integrante do nosso cantinho, Miriam, Rodolfo, Joelma, Lu, Nakajo, Joaquim, Ana, Gabriel... um muito obrigado por terem feito parte da minha vida curitibana, e por tornarem meus dias mais doce.

Aos amigos tão especiais que fiz e que marcaram a minha vida, sem vocês nada teria graça... Minha doce Rose (azedim às vezes, mas muito queridim), Aninha pelas conversas, companhia e risada (vou sentir saudade), Leozinho, coisa querida que tanto tenho a agradecer, Gil, meu fiel escudeiro quanta honra ser tua amiga...Ao Mauricio (que nessa altura deve estar dando graças aos céus pelas chatas estarem indo embora), um obrigado especial por tudo, até no último momento eu repito, o que teria sido de mim sem você!

Aos meus amigos de Pelotas que me fizeram tanta falta, mas, que naqueles momentos em que titubiei vocês estavam lá...

Aos meus pais por estarem incondicionalmente ao meu lado, sempre com muito amor!

Aos meus irmãos que tanto amo!

Ao “mimo”, por todo amor....

INDICE

RESUMO.....	vii
ABSTRACT.....	viii
INTRODUÇÃO.....	01
Família Melastomataceae.....	02
Gênero <i>Tibouchina</i>	04
METODOLOGIA.....	06
Área de estudo.....	06
Morfologia e Biologia Floral.....	06
Sistema Reprodutivo.....	07
Visitantes Florais.....	10
Análise Estatística.....	11
RESULTADOS.....	12
Características da Espécie.....	12
Morfologia e Biologia Floral	14
Sistema Reprodutivo.....	15
Visitantes Florais.....	16
DISCUSSÃO.....	23
Morfologia e Biologia Floral	23
Sistema Reprodutivo.....	25
Visitantes Florais.....	27
LISTA DE FIGURAS.....	30
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	48

RESUMO

Tibouchina pulchra é uma espécie pioneira, nativa de Mata Atlântica, pertencente à família Melastomataceae. Ela possui a peculiaridade de mudar a coloração das suas peças florais, no 1º dia são brancas, tornando-se rosadas, rosas e roxas nos dias subsequentes. As flores são melitófilas com as anteras dimórficas e poricidas. Estas características restringem a polinização a um grupo de abelhas capazes de vibrar as anteras para a retirada do pólen. Os objetivos deste trabalho foram obter dados a respeito do sistema reprodutivo e da biologia floral das espécies e relacionar a alteração da coloração das peças florais com o comportamento dos visitantes além de identificar os efetivos polinizadores. O experimento realizou-se no IAPAR, situado em Morretes/PR, de novembro de 2004 a fevereiro de 2005. A investigação do sistema reprodutivo envolveu polinizações controladas com flores brancas e flores rosa, formação do fruto, germinação de sementes e viabilidade de grãos de pólen das anteras dimórficas. A biologia e morfologia da flor foram acompanhadas desde a antese até a queda das peças florais. Registrou-se o comportamento de indivíduos das espécies que visitaram as flores. *T. pulchra* mostrou-se não apomítica e auto-compatível, produzindo frutos e sementes viáveis em proporção semelhante nos tratamentos de polinização cruzada, testemunho e autopolinização manual. A viabilidade do pólen, a receptividade do estigma e o número de frutos formados em flores rosa não diferiram estatisticamente daqueles registrados em flores brancas. Foram encontradas 15 espécies de visitantes florais, todas pertencentes à família Apidae sensu lato. À exceção de *Tetragonisca angustula*, todas as espécies eram capazes de vibrar as anteras para a retirada do pólen. Os polinizadores efetivos foram *Xylocopa frontalis*, *X. brasilianorum*, *Bombus morio* e *B. atratus*, por contatarem o estigma em seu comportamento de coleta de pólen. Enquanto as espécies de halictíneos (*Augochloropsis* sp., *Augochlora* sp. e *Pseudaugochlora* sp.) e as espécies de *Bombus* coletaram pólen em flores brancas e rosas, as demais espécies apenas coletaram pólen em flores brancas. Os resultados obtidos sugerem que alterações de cor das peças florais não podem ser atribuídas à polinização ou à fertilização dos óvulos; as flores rosa poderiam estar funcionando como um atrativo visual adicional, de longa distância, para os visitantes às flores.

ABSTRACT

Biology of the interactions between flower visitors (Hymenoptera, Apidae) and *Tibouchina pulchra* Cogn. (Melostomataceae)

Tibouchina pulchra is a pioneer tree species, native to the Atlantic Forest. It has as a peculiarity the progressive change of the color of its floral parts; petals are white in the first day, changing to pinkish, pink and finally violet. The plant is melitophilous with dimorphic, poricide anthers. These traits restrict pollination to a group of bees capable of vibrating the anthers for pollen removal. The objectives of this paper were to provide information regarding the reproductive system and floral biology of *T. Pulchra* and to correlate the change in floral parts to flower visitor behavior and to identify the effective pollinators. The studies were carried out at IAPAR, in municipality of Morretes, state of Paraná, Brazil, between November 2004 and February 2005. Experiments included controlled pollination of white and pink flowers. Fruit formation, percentage of seed germination and pollen viability of the dimorphic anthers were recorded. The biology and morphology of the flower were monitored from anthesis until abscission of floral parts. Behavior of visitor insect on flowers were recorded. *T. pulchra* proved to be non-apomictic and auto-compatible, producing fruits and viable seeds in similar ratios among the manual cross-pollination, control and manual auto-pollination treatments. Pollen viability, stigma receptivity and number of produced fruits in pink flowers did not differ statistically from those in white flowers. Fifteen species of flower visitors were recorded, all of them in the family Apidae. Except for *Tetragonisca angustula*, all of them were able to vibrate the anthers for pollen removal. Effective pollinators were *Xylocopa frontalis*, *X. brasilianorum*, *Bombus morio* and *B. atratus*, which touched the stigma while foraging. While the halictine bees (*Augochloropsis* sp., *Augochlora* sp. and *Pseudaugochlora* sp.) and *Bombus* foraged on white and pink flowers, the remaining species foraged only on white flowers. Results suggest that color change in floral parts cannot be attributed to pollination or fecundation of the ovary; pink flowers could be serving as an additional visual cue for long range attraction of visitors to a tree's flowers.

INTRODUÇÃO

A biologia da polinização estuda fatores envolvidos no processo de reprodução das plantas desde a antese até a formação de frutos e sementes (Faegri & van der Pijl 1979).

O sistema de polinização pode servir como instrumento para se estudar os processos de co-evolução, onde o grau de adequação morfológica, fisiológica e comportamental observada entre planta e polinizador pode ser avaliado (Proctor *et al.* 1996). Nesse contexto, aspectos concernentes à morfologia floral e comportamento de visitação, bem como aqueles relativos à fisiologia e morfologia da flor, servem como parâmetros para mensurar o grau de relação entre espécies de plantas e seus visitantes florais, analisando quais dentre eles contribuem efetivamente para a reprodução da planta (Faegri & van der Pijl 1979; Bertin 1989; Proctor *et al.* 1996; Avanzi & Campos 1997).

A polinização, para os visitantes florais, é um produto secundário da coleta de recursos alimentares, normalmente pólen e/ou néctar, que é fornecido pela flor. Nesta atividade de busca por recurso, a transferência do pólen pode ou não ocorrer. Se ocorrer efetivamente a polinização, os visitantes 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; Pont 1994).

A maioria das angiospermas apresenta flores hermafroditas, o que as torna potencialmente capazes de se reproduzir por autofecundação (Seavey & Bawa 1986; Proctor & Yeo 1996). Entretanto, há mecanismos que restringem ou previnem a autofecundação, como dicogamia e hercogamia. Sistemas genéticos também atuam na diminuição da endogamia, como a auto-incompatibilidade resultante da impossibilidade de grãos de pólen aderir 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 (Janzen 1980).

Muitas angiospermas desenvolveram uma série de características que, como resultado, permite a elas “mobilidade” direta na procura de um parceiro reprodutivo, esta série de características está personalizada na flor. Por atrair polinizadores com suas flores, e por direcionar o comportamento destes, de forma que a polinização cruzada possa ocorrer com freqüência, às angiospermas transcenderam as suas condições fixas ao solo, e de certa maneira, tornaram-se tão móveis quanto os visitantes (Janzen 1980).

MELASTOMATACEAE

Melastomataceae representa uma das mais importantes famílias da flora neotropical, compreendendo de 4500 a 5000 espécies distribuídas em 185 gêneros e 11 tribos. É bem representada em ecossistemas tropicais e subtropicais das Américas, onde são encontradas cerca de 3000 espécies (Renner 1993).

No Brasil, representa a sexta maior família de angiospermas, com 68 gêneros e mais de 1500 espécies, que se distribuem desde a Amazônia até o Rio Grande do Sul (Romero & Martins 2002). Existe grande quantidade de gêneros endêmicos, tais como *Lavoisiera*, *Lithobium*, *Eriocnema*, *Trembleya*, *Chaetostoma* (Almeda & Martins 2001), *Svitramia*, *Microlepis*, *Tibouchinopsis* (Renner 1993), entre outros.

Quanto à representatividade florística as melastomatáceas se encontram presentes em algumas formações regionais no Brasil, como Mata Atlântica (Melo *et al.* 1999), Floresta Amazônica (Renner 1986|1987), cerrados (Renner 1990), além de restingas e dunas (Alves-dos-Santos 1999).

Os representantes desta família apresentam uma grande diversidade de hábitos, que vai desde o herbáceo até o arbustivo, com muitas espécies arbóreas e poucas trepadeiras e epífitas (Renner 1989). A família é caracterizada por um conjunto de atributos, tais como filotaxia oposta, folhas inteiras, sem estípula com nervação acródoma, flores perfeitas, completas, cíclicas, com estames diplostêmones, livres, com deiscência geralmente poricida, frutos capsulares ou baciformes, com sementes diminutas, no entanto havendo algumas exceções (Barroso 1984).

Ainda quanto às características morfológicas, alguns gêneros apresentam certas peculiaridades que influenciam sua ecologia da polinização, como dimorfismo dos estames relacionados à cor e forma e mudança de coloração de peças florais (Baumgratz & Silva 1988). Há gêneros como *Heeria*, por exemplo, que apresentam anteras nutritivas de tamanho menor e cor amarela e anteras reprodutivas de tamanho maior e cor vermelha. *Centradenia floribunda*, *Rhexia glandulosa*, *Monochaetum ensiferum* e *Pleroma sellowianum* são espécies cujas flores apresentam coloração branca inicialmente que, com o passar do tempo tornam-se vermelho-purpúreas (Baumgratz & Silva 1988). Estes mesmos autores comentam que esta mudança de coloração encontrada nas espécies mencionadas estaria relacionada à polinização, guiando o visitante na direção correta.

A polinização na família é realizada, em geral por abelhas (Renner 1989). Como as melastomatáceas apresentam anteras poricidas, seus polinizadores precisam apresentar

mecanismos especiais para extração do pólen (Goldenberg & Varassin 2001). Por isso, somente as abelhas são aptas a realizarem essa tarefa, pois possuem a capacidade de vibrar seus músculos relacionados ao voo para a retirada do pólen das anteras (Renner 1986/1987, 1990). O movimento vibratório é transferido às anteras que assim expulsam o pólen seco e pulverulento em forma de nuvem, que se aderem ao corpo das abelhas. Dependendo do comportamento de vibração apresentado pelo visitante, o pólen pode ou não ser depositado no estigma da flor visitada (Buchmann & Hurley 1978). Essa vibração deve apresentar frequências adequadas para que ocorra a liberação do pólen, como o que ocorre nas flores de *Bellucia*, por exemplo, onde as vibrações devem ter frequências elevadas (por volta de 420 Hz) (Renner 1987, 1990).

Este mecanismo de polinização é chamado polinização por vibração ou “buzz pollination”, pois as abelhas durante a extração do pólen emitem um ruído audível. A maioria das espécies de angiospermas com anteras poricidas não possui néctar, e, portanto são visitadas exclusivamente por fêmeas coletoras de pólen (Buchmann 1983). Dukas & Dafni (1990) sugerem que flores polinizadas por movimentos vibratórios evoluíram de flores poliândricas nectaríferas com o número reduzido de estames (e conseqüentemente produção reduzida de pólen) que em seguida, teriam eliminado a produção de néctar.

Essa forma de apresentação do pólen restringe o número de espécies de abelhas visitantes (Laroca 1970; Melo & Machado 1996; Alves-dos-Santos 1999). As abelhas *Xylocopa*, *Melipona*, *Augochloropsis*, *Bombus*, *Thygater* e *Zikanapis* estão freqüentemente associadas com a polinização das flores de melastomatáceas neotropicais (Laroca 1970; Renner 1986/1987, 1989; Larson & Barrett 1999b).

O sistema reprodutivo tem sido estudado em cerca de 120 espécies da família (Renner 1989, 1990, 1993; Gross 1993; Melo & Machado 1996, 1997; Guimarães & Ranga 1997; Goldenberg & Varassin 2001; Fracasso & Sazima 2004), entre as quais predomina o sistema reprodutivo xenógamo, caracterizado pela união entre gametas de indivíduos geneticamente distintos. Mecanismos de auto-incompatibilidade e de apomixia são relativamente freqüentes, nas tribos Rhexieae e Miconieae, e menos característico nas tribos Melastomeae e Microlicieae (Goldenberg & Varassin 2001).

GÊNERO *Tibouchina*

Tibouchina pertence à tribo Melastomeae, apresentando 350 espécies distribuídas nas regiões tropicais e subtropicais das Américas (Wurdack 1962; Sousa 1986). As espécies arbóreas e arbustivas deste gênero são popularmente conhecidas como quaresmeiras ou manacás e geralmente apresentam como único recurso para seus visitantes, o pólen. Algumas espécies, no entanto, produzem néctar (Stein & Tobe 1989) e, portanto, são visitadas por diversos animais além de abelhas (Renner 1989; Goldenberg & Shepherd 1998).

Muitas espécies de melastomáceas são rústicas e heliófitas, sendo utilizadas com frequência na recuperação e reflorestamento de áreas degradadas (Lorenzi, 1992; Pompéia et al. 1989). *Tibouchina pulchra* é considerada uma espécie pioneira sendo capaz de ocupar áreas recém perturbadas, onde as condições de solo, luz e temperatura favorecem a germinação de suas sementes (Martinez-Ramos, 1985), bioindicadora, encontrada em Floresta Ombrófila Densa (Leitão-Filho et al. 1993) e, apresenta notável valor ornamental (devido às cores vistosas de suas pétalas).

Outra peculiaridade que *T. pulchra* possui é a alteração de coloração das peças florais, que são brancas na antese e tornam-se roxas progressivamente nos dias subsequentes. Essa peculiaridade foi registrada também em outras nove espécies de diferentes gêneros de Melastomataceae, todas encontradas nas Américas (Weiss 1995).

Alguns autores sugerem que esta mudança de coloração atua como um aviso às abelhas para que estas não visitem flores velhas (Endress 1994). No entanto, a persistência destas na planta confere-lhe um colorido intenso, atuando na sinalização aos polinizadores à longa distância (Weiss 1991).

Após sofrer o processo de mudança de cor, as flores geralmente não ofertam mais recurso e o estigma deixa de ser receptivo (Weiss 1995). Larson & Barrett (1999), em seu trabalho com *Rhexia virginica*, constataram que as flores após alterarem sua coloração tornam-se estéreis, sendo os visitantes direcionados às flores que ainda não sofreram alteração de coloração.

A mudança de coloração, quando associada à permanência de flores velhas, pode aumentar o número de visitas de polinizadores, devido ao papel chamariz que estas assumem, atraindo os vetores a longas distâncias. Dessa maneira, planta e polinizador são beneficiados, as flores são polinizadas com mais eficiência enquanto os polinizadores, direcionados às flores com recurso, acabam poupando tempo e energia (Weiss 1995).

Neste contexto, o presente trabalho tem como objetivos relacionar o comportamento dos visitantes florais com a alteração da coloração das peças florais e fornecer dados a respeito do sistema reprodutivo e da biologia floral da espécie *T. pulchra*, com referência à composição da fauna visitante e seu comportamento de coleta do pólen.

MATERIAL E METODOS

ÁREA DE ESTUDO

O presente estudo foi desenvolvido entre os meses de novembro de 2004 a fevereiro de 2005, na Estação Experimental do IAPAR, situado no Município de Morretes, 25° 30' S, 48° 48' W, a 68 km de Curitiba, PR. A região está situada na encosta da Serra do Mar e coberta por Floresta Ombrófila de encosta Atlântica (Silva, 1989). Apresenta clima AF segundo a classificação de Köppen, tropical super úmido, com temperatura média anual de 25 °C (Maack 1981).

Os indivíduos de *Tibouchina pulchra* estudados encontravam-se na borda de fragmentos de vegetação secundária.

MORFOLOGIA E BIOLOGIA FLORAL

Dois andaimes de 4,5m de altura foram montadas no local do experimento para serem realizadas as observações de campo. As flores foram observadas quanto à morfologia, tamanho, coloração, duração e horário de abertura. Esses aspectos foram considerados desde a pré-antese até a queda de todas as peças florais.

Para a avaliação da viabilidade dos grãos de pólen, foram coletados três botões em pré-antese e flores 24h após o início da antese- flores de 2º dia, previamente ensacadas, de cada um. O material foi fixado em FAA (50%) e posteriormente analisado sob microscopia ótica. Os estames foram retirados, colocados sobre lâmina e corados com azul de toluidina 0,05%/H₂O. As anteras foram pressionadas com lamínula expulsando os grãos de pólen. A contagem de grãos de pólen foi realizada em campos arbitrários do microscópio óptico, onde foram classificados em viáveis ou não viáveis de acordo com sua coloração. Para cada botão foram contados cerca de 100 grãos de pólen. A viabilidade polínica foi estimada para anteras grandes e anteras pequenas.

SISTEMA REPRODUTIVO

Nos testes para a determinação do sistema reprodutivo, foram realizadas polinizações em 3 indivíduos, divididos em 5 tratamentos controlados. Em cada tratamento foram manipuladas 30 flores.

1. Testemunha: as flores são apenas marcadas, sem serem isoladas, e monitoradas;
2. Apomixia: foram removidos os estames. O gineceu não foi danificado. Após esse procedimento, as flores foram isoladas;
3. Autopolinização espontânea: os botões foram isolados, sem receber manipulação;
4. Autopolinização manual: as flores foram polinizadas com pólen oriundo de flores do mesmo indivíduo, sendo isoladas a seguir.
5. Polinização cruzada: as flores foram polinizadas com pólen oriundo de outros indivíduos e, em seguida isoladas.

O isolamento das flores foi realizado com sacos confeccionados com voil.

O pólen foi retirado das anteras com o auxílio de 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 de flores do mesmo indivíduo ou em flores de outro indivíduo, de acordo com o tratamento. As flores foram ensacadas no dia anterior à antese e, os cruzamentos realizados no período da manhã. Logo em seguida essas flores foram re-ensacadas, permanecendo isoladas até a queda do estigma.

Foram realizadas anotações diárias para cada tratamento sobre a mudança de coloração e a queda das peças florais. Estipularam-se quatro estágios de gradação de cores para as pétalas: estágio 1- pétalas brancas; estágio 2- pétalas rosadas; estágio 3- pétalas rosas e estágio 4- pétalas roxas.

As flores de cada tratamento foram marcadas com fitas coloridas e numeradas, e as marcações mantidas no campo até a frutificação, sendo registrados o tempo de desenvolvimento dos frutos e eventuais abscisões. A partir do número de frutos que se desenvolveram até a deiscência foi calculada a proporção fruto/flor, sendo estabelecida à taxa de frutificação em cada tratamento. Foram coletados 10 frutos de cada tratamento antes da deiscência, para a análise da viabilidade das sementes. Os frutos foram armazenados individualmente em saco de papel e em seguida postos para germinar. As sementes de cada fruto foram colocada em placas de petri sobre papel filtro úmido e mantidas em BOD à temperatura de 25 °C e umidade de 75%, com fotoperíodo de 12h. As avaliações foram realizadas a cada dois dias no mês de fevereiro e semanalmente nos meses de março, abril,

maio e junho. Em cada avaliação foram removidas as plântulas provenientes das sementes germinadas. As sementes que não germinaram foram contabilizadas.

POLINIZAÇÕES TARDIAS

A fertilidade do pólen e a receptividade do estigma foram avaliadas em flores após 24h do início da antese. Tal procedimento visava verificar possíveis diferenças na quantidade de frutos formados em relação àqueles provindos de flores polinizadas no primeiro dia da antese. Para cada tratamento foram utilizadas 20 flores.

Utilizaram-se flores do 2º dia à tarde, manipuladas entre as 14:00h e 16:00h e, 3º dia no período da manhã, manipuladas entre 7:00h e 10:00h. Todas as flores manipuladas nas polinizações tardias foram ensacadas em pré-antese e mantidas ensacadas após as manipulações. Estes sacos permaneceram até a queda do estigma.

As flores de 1º dia foram polinizadas por meio de polinização cruzada no período da manhã com pólen proveniente de flores do 2º e 3º dia. Flores do 2º dia no período da tarde, sofreram polinização cruzada. Flores do 3º dia no período da manhã sofreram polinização cruzada.

A tabela abaixo demonstra resumidamente os tratamentos realizados durante o experimento.

Tabela 1- Tratamentos realizados no estudo de sistema reprodutivo e, o número de flores utilizadas em cada um. 1° M - flores de 1° dia tratadas pela manhã; 2° T = flores do 2° dia tratadas à tarde; 3° M = flores de 3° dia tratadas pela manhã; 1° M - pólen de 2° dia = flores de 1° dia tratadas pela manhã polinizadas com flores de 2° dia; 1° M – pólen de 3° dia = flores de 1° dia tratadas pela manhã com pólen de flores de 3° dia.

Tratamento	Número de flores
Testemunha (1° M)	30
Apomixia (1° M)	30
Autopolinização espontânea (1° M)	30
Autopolinização manual (1° M)	30
Polinização cruzada (1° M)	30
Polinização cruzada (2° T)	20
Polinização cruzada (3° T)	20
Polinização cruzada (1° M - pólen de 2° dia)	20
Polinização cruzada (1° M – pólen de 3° dia)	20

Os frutos foram acompanhados pelo período de dois meses, sendo considerados como efetivamente formados aqueles que permaneceram presos aos ramos.

VISITANTES FLORAIS

A atividade dos visitantes florais em *T. pulchra* foi observada durante os meses de novembro de 2004 a janeiro de 2005, entre 5:00h e 21:00h.

O comportamento dos visitantes foi registrado por meio de observações diretas e fotográficas. Foram anotados os modos de abordagem à flor, o comportamento de coleta e abandono das flores, o tempo de permanência na flor, a seqüência de flores visitadas e a frequência de visitas de cada espécie de abelha. Alguns exemplares de visitantes foram coletados com rede entomológica, mortos em câmara com acetato de etila, alfinetados para identificação e tomadas às medidas do tamanho corporal.

Para se testar a eficiência de cada polinizador na formação de frutos, as flores no 1º dia de antese, ensacadas em pré-antese, foram expostas às espécies de abelha. Imediatamente após receber um visitante, essas flores foram isoladas e os sacos mantidos até a queda do estigma. Assim, foram formados frutos a partir de uma visita de cada espécie de abelha polinizadora.

Flores de 2º e 3º dia, ensacadas em pré-antese, foram expostas aos visitantes, a fim de se testar o comportamento dos visitantes em flores que apresentavam coloração alterada, porém as anteras estavam repletas de pólen. Foi observado tempo de visitação, se houve hesitação na visita e o comportamento do visitante.

Foram realizadas remoções de peças florais, em flores do 1º dia, ensacadas na pré-antese e expostas aos visitantes, a fim de avaliar o comportamento destes frente às alterações visuais. As remoções foram: i) retirada de todos os estames, ii) retirada de estames maiores, iii) retirada de estames menores e iv) retirada das pétalas. O procedimento foi realizado durante quatro dias. Foram expostos conjuntos de oito flores para cada remoção, totalizando 32 flores para cada tratamento. Analisou-se o comportamento e permanência na flor de cada espécie de polinizador.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Mudança de coloração foi analisada nos tratamentos com polinizações controladas (apomixia, autopo_esp, autopo_man, poliniz_cruz, testemunha), avaliando-se os 4 estágios estipulados de gradação de cores (estágio 1 –pétalas brancas; estágio 2- pétalas rosadas; estágio 3- pétalas rosas e estágio 4- pétalas roxas). O número de flores brancas, rosadas, rosas e roxas foram comparadas, dentro de cada tratamento (apomixia, autopolinização espontânea, autopolinização manual, polinização cruzada e testemunha) pelo teste *Sign Rank*.

A formação de frutos foi avaliada em polinizações controladas, incluindo as polinizações tardias. Tratamentos foram separados pelo teste de Kruskal-Wallis.

A taxa de germinação foi avaliada através das sementes viáveis em cada tratamento envolvendo polinização controlada. Os números de sementes germinadas foram transformados em porcentagem de germinação e submetidos à análise de variância, com médias separadas pelo teste de Tukey a 5% de significância.

A frequência de visitação foi avaliada através das espécies de abelha mais freqüente durante todo o experimento. Os números de abelhas, de cada espécie, foram comparados em 8 intervalos de horário agrupados de 2 em 2h das 6:00h as 21h, pelo teste do Qui-quadrado de Friedman.

Todas as análises foram realizadas com a utilização do pacote estatístico SAS (SAS 1990b).

RESULTADOS

CARACTERÍSTICAS DA ESPÉCIE

As flores de *T. pulchra* apresentam os botões protegidos por quatro bractéolas verdes, caducas (Fig.1a). As flores são pentâmeras, presas a ramos curtos. A corola é actinomorfa, mas, em conjunto com o androceu, formam uma estrutura zigomorfa.

Os estames são filiformes e dimórficos, apresentando cinco filetes com tamanhos menores e cinco filetes com tamanhos maiores (Fig.2a). A articulação entre o filete e o conectivo dos estames menores, aliada ao peso das abelhas durante a visitação na flor, impulsionam o visitante em direção ao ápice do estigma, dando à antera um efeito de balanço ou balancim. As anteras são bitecas, com pequenos poros apicais, o pólen é seco amarelado. O estilete é sigmoidal, com curvatura oposta à dos estames e apresenta tricomas esbranquiçados. O estigma é punctiforme.

Os frutos são cápsulas autocóricas, verdes no início de seu desenvolvimento (Fig. 4a, b), que se dá a partir do 8^o dia após o início da antese, tornando-se marrons quando maduros (Fig. 4c). As sementes são pequenas, numerosas e apresentam coloração marrom, sendo liberadas entre 45 e 50 dias após a antese floral.

Os filetes, no primeiro dia, são brancos com tricomas vermelhos, nos dias subsequentes, os filetes tornam-se progressivamente roxos e os tricomas arroxeados. Os lóculos das anteras permanecem amarelados. Os estiletos são brancos na antese e tornam-se roxos nos dias posteriores. Dentre essas estruturas, as pétalas são as primeiras a iniciarem a mudança de cor.

MORFOLOGIA E BIOLOGIA FLORAL

A floração é do tipo cornucópia (Gentry 1974), apresentando um período de floração curto (três meses de duração) com produção de muitas flores. O recurso é disponível durante toda a florada para as abelhas visitantes.

A produção de flores se dá no final da primavera, com pico de floração no verão, o qual possui o período chuvoso intenso.

Tibouchina pulchra produziu botões em meados de setembro (Fig.1 a, b e c). Em novembro iniciou-se a floração, estendendo-se até fevereiro. No final de novembro, abriram-se as primeiras flores, tendo o pico de floração ocorrido entre dezembro e início de janeiro. Em final de fevereiro, a floração já terminara e a maioria dos frutos amadureceu, com suas sementes sendo dispersadas pelo vento. Algumas cápsulas secas perduraram até a florada posterior (Fig. 4c).

As folhas permanecem na planta durante todo o período, não ocorrendo queda em nenhuma época do ano.

No período de pré-antese, os botões florais perdem suas bractéolas, dispostas duas a duas cruzadas (Fig. 1c). As pétalas encontram-se embricadas e os estames dobrados em direção ao centro da flor.

O início da antese floral pode ser dividida em três fases, a primeira ocorre o afastamento das pétalas, visualizando-se os estames, que se encontram dobrados, com as anteras voltadas para o centro da flor. Na segunda fase, ocorre a distensão dos estames. Na última fase, as pétalas estão completamente abertas e os estames se posicionam em conjunto na porção inferior da flor. O processo de abertura da flor é contínuo, iniciando-se por volta das 6:00h, sendo concluída por volta das 9:00h. Em dias chuvosos ou nublados, esse processo é retardado em cerca de 1h.

Nas primeiras horas da manhã, após a abertura da flor, os grãos de pólen estão úmidos dentro das anteras, mantendo-se aglutinados. À medida que a temperatura ambiente eleva-se, o pólen perde a umidade, tornando-se seco e pulverulento. Em dias chuvosos esse processo é prolongado devido à maior umidade relativa do ar.

No primeiro dia as flores são brancas (Fig. 2a). Ao entardecer, as flores expostas tornam-se rosadas. No segundo dia, essas flores apresentam a coloração das pétalas alterada, tornando-se rosa (Fig. 2b), assim como o estame que apresenta o filete rosa e a antera escurecida pelo desgaste e redução da quantidade de pólen. O estigma torna-se rosado com ápice bem claro. A partir do terceiro dia (Fig. 2c), até a queda das peças florais, que se inicia no 4º dia (Fig. 3a), a flor apresenta uma grande mudança na coloração de suas peças florais. A corola torna-se roxa, assim como os filetes, as anteras marrons escuro, o estigma bem rosa com ápice amarelo. As flores fecundadas iniciam a queda das pétalas a partir do 6º dia, os estames no 4º dia (Fig. 3b) e o estigma cai entre o 5º e 6º dia (Fig. 3c).

As flores que não são fecundadas retardam o processo em um dia e, após a queda de todas as pétalas ocorre a queda do gineceu.

VIABILIDADE DO PÓLEN

A análise dos grãos de pólen ao microscópio (Tab. 2) mostrou que eles são viáveis tanto nos botões, quanto nas flores de segundo dia. A taxa de viabilidade ficou em média 68% para os períodos analisados.

A viabilidade do pólen dos dois tipos de estames foi muito semelhante, não apresentando diferença significativa na viabilidade entre as diferentes fases da antese.

Tabela 2 - Viabilidade do pólen dos estames de diferentes tamanhos, utilizando-se o corante azul de toluidina. Apresenta-se a porcentagem de grãos viáveis e entre parênteses o valor total amostrado (n =3).

Fases da antese	Tamanho dos estames	
	Grande	Pequeno
Antese	72% (300)	65% (300)
24h depois	74% (300)	74% (300)

SISTEMA REPRODUTIVO

Os testes demonstraram que as flores não formam fruto por autopolinização espontânea e por apomixia. Nos testes de autopolinização manual, polinização cruzada e testemunho, os números de frutos formados foram similares entre os tratamentos (Fig. 5) ($\chi^2 = 0,0001$).

A porcentagem de sementes formadas e a variação da taxa de germinação das sementes dos frutos obtidos nos testes de germinação foram semelhantes às encontradas em condições naturais.

O tempo de germinação entre as sementes providas das condições naturais e das providas da autopolinização manual foi muito semelhante, enquanto que as sementes providas da polinização cruzada demoraram um mês a mais para germinar. Contudo, os números de sementes viáveis e não viáveis entre os três tratamentos foi semelhante (Fig. 6).

Quanto à análise da gradação das cores nos diferentes tratamentos, observou-se que as flores que não foram polinizadas (apomixia e autopolinização espontânea), apresentaram os quatro estágios estipulados, flores brancas no 1º dia, flores rosadas no 2º dia, flores rosa nos 3º e 4º dia e flores roxas nos 5º, 6º, 7º, 8º e 9º dia (Fig. 7) Nos tratamentos de autopolinização manual e polinização cruzada, a gradação de cores não apresentou o estágio 2, ou seja, flores brancas no 1º dia, flores rosas no 2º e 3º dia e, flores roxas nos 4º, 5º, 6º, 7º e 8º dia (Fig. 8). Quanto à testemunha, as flores que não receberam visitas apresentaram os quatro estágios estipulados, enquanto as flores que receberam visitas, não apresentaram a coloração rosada (Fig. 9).

POLINIZAÇÃO TARDIA

Os resultados das polinizações tardias demonstraram que flores de primeiro dia, polinizadas com pólen oriundo de flores de 2º dia, e flores de 2º dia polinizadas com pólen de flores de 2º dia, por meio de polinização cruzada, apresentaram a proporção de frutos formados semelhantes entre si e, semelhantes às produzidas a partir de polinização controlada realizada em flores de 1º dia.

Nos tratamentos realizados por meio de polinização cruzada, em flores do 1º e 3º dia com pólen oriundo de flores de 3º dia, nota-se uma queda na formação do fruto (Fig. 10), apresentando significância (qui-quadrado): $\text{prob} > \chi^2 = 0,0005$.

VISITANTES FLORAIS

Nas flores de *T. pulchra*, foram encontradas 15 espécies de abelhas visitantes (Tab. 3). Espécimes testemunhos dessas espécies estão depositados na coleção Padre Jesus Santiago Moure, no Departamento de Zoologia da Universidade Federal do Paraná. *Melipona marginata*, *Tetragonisca angustula*, *Bombus atratus*, *B. morio*, *Exomalopsis analis*, *Xylocopa brasilianorum*, *X. frontalis*, *Augochloropsis* sp., *Augochlora* sp., e *Pseudaugochlora* sp., foram as espécies observadas.

De acordo com o comprimento do corpo, as abelhas foram divididas em três classes de tamanho corporal: (i) pequeno porte (abaixo de 10 mm), (ii) médio porte (entre 10 e 15 mm) e (iii) grande porte (acima de 15 mm).

Tabela 3- Espécies de abelhas visitantes de *Tibouchina pulchra*. Classes de tamanho corporal: P- pequeno (abaixo de 10 mm), M- médio (entre 10 e 15 mm) e G-grande (acima de 15 mm).

Espécies	Porte
<i>Bombus (Fervidobombus) atratus</i> Franklin, 1913	M-G
<i>Bombus (Fervidobombus) morio</i> (Swederus, 1787)	M-G
<i>Tetragonisca angustula</i> (Latreille, 1811)	P
<i>Exomalopsis (Exomalopsis) analis</i> Spinola, 1853	P
<i>Augochloropsis</i> sp.1	P
<i>Augochloropsis</i> sp.2	P
<i>Augochloropsis</i> sp.3	P
<i>Augochloropsis</i> sp.4	P
<i>Augochloropsis</i> sp.5	P
<i>Augochloropsis</i> sp.6	P
<i>Pseudaugochlora</i> sp.	P-M
<i>Augochlora</i> sp.	P
<i>Xylocopa (Neoxylocopa) brasilianorum</i> (Linnaeus, 1767)	G
<i>Xylocopa (Neoxylocopa) frontalis</i> (Olivier, 1789)	G
<i>Melípona marginata</i> Lepeletier, 1836	P

Xylocopa, *Bombus* e Halictinae (o conjunto das espécies de *Augochloropsis* sp., *Augochlora* sp., *Pseudaugochlora* sp.) apresentaram maior frequência de visitas, enquanto as demais apresentaram frequência baixa, quando comparada a essas espécies.

As espécies de abelhas visitantes citadas mantiveram-se em todo o período de floração, não havendo variação na frequência durante os estudos de campo.

Ao longo do dia, os halictíneos foram frequentes, porém apresentaram um pico de visita no período da manhã nos horários em que as temperaturas eram mais amenas (9:30h às 10:30h). Sendo que no período mais quente compreendido entre 11:00h e 12:30h essas espécies cessaram sua atividade de forrageio. Houve diferença no período de atividade dos halictíneos ($\chi^2 = 60,397$; $p = 0,001$) (Fig. 11).

Bombus morio foi muito frequente, poucas vezes foi observado *Bombus atratus* no decorrer do experimento. As espécies de *Bombus* apresentaram um pico de visita no período da manhã (11:00h às 11:30h) e um pico menor no período da tarde (14:00h às 14:30h). Houve diferença no período de atividade das espécies de *Bombus* ($\chi^2 = 52,567$; $p = 0,002$) (Fig.12).

Xylocopa frontalis foi a espécie de abelha mais frequente no decorrer do experimento. As espécies de *Xylocopa* apresentaram dois picos de visita no período da manhã (9:00h às 10:00h e 11:00h às 11:30h) e dois picos menores no período da tarde (14:00h às 14:30h e 17:00h às 17:30h). Houve diferença no período de atividade das espécies de *Xylocopa* ($\chi^2 = 41,773$; $p = 0,035$) (Fig. 13).

O estudo do comportamento destas abelhas na população de *Tibouchina pulchra* (Tab. 5) demonstrou que a maioria das espécies visitou mais de uma flor por planta, com exceção de *Tetragonisca angustula* que nas poucas visitas em que foi observada a atividade de coleta de pólen se deu em uma única flor. *T. angustula* é uma abelha de porte pequeno, que não é capaz de vibrar, apenas recolhe o pólen deixado nas pétalas pelas visitas anteriores de outras abelhas, sendo considerada 'lixreira'.

O comportamento, ao visitarem a flor, das diferentes espécies de halictíneos, no geral, é semelhante. Durante a visita, estas abelhas escolhiam as anteras aleatoriamente, não havendo preferência por estames maiores ou menores. As abelhas aproximam-se da flor e abordam diretamente cada antera, curvando seu abdome sobre o poro apical da antera (Fig. 14 a, b e c). A vibração era realizada antera por antera, mas, nem todas as anteras de uma mesma flor foram visitadas. Geralmente após uma visita, esse grupo de visitantes frequenta uma outra flor do mesmo indivíduo. Após a visita, essas abelhas transferem o pólen para as escovas. A duração da visita em cada flor é bem maior que a de abelhas de porte maior, em média 35s

por flor. Os representantes dessa família não são polinizadores, pois, não contatam o estigma durante o comportamento de atividade de coleta de pólen.

De modo geral, as abelhas de espécies de maior porte apresentaram o comportamento inicial de coleta de pólen semelhante. Elas se aproximavam da flor, inspecionavam-na, pairando em sua frente por um breve momento, e pousavam com a superfície ventral do corpo voltada para o centro da flor onde agarram o androceu e o estilete com os dois primeiros pares de pernas.

Bombus morio (Fig. 15) e *B. atratus* (Fig. 16) aproximavam-se da flor frontalmente, abraçavam os estames do centro da flor, e vibravam, liberando uma nuvem de pólen que se aderiam ao corpo do visitante. Foi observado em algumas visitas um segundo abraçamento dos estames para a retirada do pólen. Em geral, o tempo de permanência na flor durante a atividade de coleta de pólen foi de 6s. Foi observado que várias flores do mesmo indivíduo foram visitadas e que algumas vezes houve o retorno à mesma flor. A transferência do pólen para as corbículas se dá em vôo.

Xylocopa brasilianorum apresentou o mesmo comportamento observado nas espécies de *Bombus*.

X. frontalis aproximava-se da flor frontalmente e na maioria das visitas todos os estames são abraçados e vibrados (Fig. 17), liberando uma nuvem de pólen que se aderiam ao corpo do visitante, cada visita durando em média 3s. Foram registradas até 106 visitas de um mesmo indivíduo em flores da mesma planta, em busca de recurso.

Quanto à coloração das estruturas florais, as espécies de halictíneos preferencialmente coletavam pólen de flores brancas no início da floração, mas, ao longo da floração essas espécies visitaram flores rosadas e rosas (Tab. 4) (Fig. 18).

As espécies de *Bombus* visitaram flores rosa apenas no final da floração quando as flores brancas estavam ficando escassas, porém as visitas às flores com a coloração alterada eram sempre inferiores a visitas às flores brancas (Tab. 4).

As espécies de *Xylocopa* coletaram pólen apenas de flores brancas, não foi observado visita a flores com coloração das peças florais alteradas (Tab. 4).

Nos testes realizados com flores de 2^o e 3^o dia previamente ensacadas que, apesar da mudança de coloração possuíam recurso, não foram visitas por nenhuma espécie de abelha, ocorrendo a abscisão de todas as flores a partir do 9^o dia.

Tabela 4-. Visitantes de *Tibouchina pulchra* em flores branca e rosas no período de 5 de dezembro/2004 a 20 fevereiro/2005, Morretes/PR (n=50).

Visitantes	Flores	
	Brancas	Rosas
Halictidae	79%	21%
<i>Bombus</i>	90%	10%
<i>Xylocopa</i>	100%	-

Tabela 5 – Comportamento das abelhas nas flores de *T. pulchra*. Pv: polinização vibrátil; Pi: pilhagem; (+) contatam o estigma; (-) sem contato com o estigma.

Espécies	Captura do pólen	Manuseio da antera	Contato com estigma	Permanência na flor (s)
<i>Xylocopa frontalis</i>	Pv	Vibração em conj.	+	3
<i>Xylocopa brasilianorum</i>	Pv	Vibração em conj.	+	5
<i>Bombus atratus</i>	Pv	Vibração em conj.	+	6
<i>Bombus morio</i>	Pv	Vibração em conj.	+	6
<i>Augochloropsis</i> sp.	Pv	Vibração uma a uma	–	30
<i>Augochlora</i> sp.	Pv	Vibração uma a uma	–	35
<i>Pseudoaugochlorella</i> sp.	Pv	Vibração uma a uma	–	35
<i>Exomalopsis analis</i>	Pv	Vibração uma a uma	–	25
<i>Melípona marginata</i>	Pv	Vibração uma a uma	–	20
<i>Tetragonisca angustula</i>	Pi	Coleta em pétalas	–	25

EFICIÊNCIA DO POLINIZADOR

Os polinizadores efetivos foram *Xylocopa frontalis*, *Xylocopa brasiliatorum*, *Bombus atratus* e *Bombus morio*, por contatarem o estigma em seu comportamento de coleta de pólen.

As flores expostas à visita controlada às abelhas polinizadoras mais frequentes, *B. morio* e *X. frontalis*, demonstraram que apenas uma visita é suficiente para a polinização, visto que todas formaram fruto.

REMOÇÃO DAS PEÇAS FLORAIS

Nas 32 flores utilizadas para cada tratamento de manipulação das peças florais, não foi observado nenhum visitante em duas situações: (1) quando da retirada de todas as pétalas e (2) quando da retirada de todos os estames.

As flores das quais foram retirados os estames maiores foram visitadas por *Xylocopa frontalis* e *Bombus morio*. Nenhuma das duas espécies de abelha hesitou em coletar o pólen nessas flores íntegras.

As flores que tiveram seus estames menores removidos foram visitadas por *Xylocopa frontalis* e *Bombus morio*. No comportamento de coleta de pólen, *B. morio* não hesitou em visitar essas flores íntegras. *X. frontalis*, entretanto, apesar de coletar pólen nessas flores, demorava mais tempo (5s) juntando os estames maiores para vibrar.

DISCUSSÃO

MORFOLOGIA E BIOLOGIA FLORAL

A estrutura floral observada em *T. pulchra* é característica da família Melastomataceae, estando relacionada à polinização vibrátil, descrita por Buchmann & Hurley (1978), cujo recurso disponível é o pólen produzido em quantidades abundantes e liberado em forma de nuvem. *T. pulchra* apresenta antese diurna, corola com padrão visível de coloração, estames vistosos, anteras poricidas, grãos de pólen pequenos e leves, liberados por vibração mecânica direta, enquadrando-se na síndrome da melitofilia descrita por Faegri & van der Pijl (1979). Esta combinação de características e a deiscência das anteras definiram a polinização por vibração (buzz pollination). Além dos atrativos visuais, os osmóforos localizados nos filetes das anteras maiores e no estilete podem ser um fator adicional na atração das abelhas.

As flores de *T. pulchra* apresentam hercogamia, ou seja, o estigma está localizado distante das anteras, diminuindo as chances de pólen endógeno atingir o estigma, favorecendo a polinização cruzada. A hercogamia, aliada ao fato do pólen estar inserido em anteras poricidas, são os principais meios que promovem a polinização cruzada nesta família, tornando quase nulas as chances de ocorrer autopolinização espontânea (Renner 1998). No entanto, a dicogamia no gênero *Monochaetum* (Almeda, 1978), e dioícia no gênero *Miconia* (Renner, 1998), são outros mecanismos que favorecem a xenogamia.

Na pré-ntese a umidade no interior das anteras de *T. pulchra* mantém os grãos de pólen aglutinados, entretanto, com o aumento da temperatura ambiente o pólen perde umidade gradativamente, tornando-se seco e pulverulento, processo imprescindível para sua retirada. Dessa forma, o sincronismo entre perda de água do pólen e 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 em *T. pulchra* não está relacionado com a fertilidade do pólen, restringindo-se à diferença de tamanho, o que, teoricamente, está relacionado à deposição diferenciada de pólen no corpo dos visitantes e ao “efeito balancim” produzido pelos estames menores no contato com o estigma. 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 *T. pulchra* é muito semelhante e não foram verificadas diferenças funcionais no pólen, como frequentemente 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) relata a estratégia de engano dos polinizadores, na qual os apêndices do conectivo assemelham-se aos estames em alguns gêneros de Melastomataceae, enquanto a abelha vibra este falso estame (apêndice do conectivo), o pólen fértil é expulso das anteras aderindo em seu abdômen.

A maneira como o pólen é expulso das anteras pode sugerir contaminação do estigma com o pólen da mesma flor. Mas, no momento em que pousam, as abelhas de grande porte contactam o estigma, obstruindo-o com seu corpo enquanto realizam a vibração, evitando autopolinização. O pólen é liberado gradativamente durante as visitas, maximizando a dispersão do pólen. Dessa maneira, o estigma 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, que eventualmente receberem outra visita, são realizadas em grandes intervalos, o que significa tempo suficiente para a germinação dos grãos, assegurando sua aderência às papilas estigmáticas e diminuindo a probabilidade de serem desperdiçados pela vibração das abelhas subseqüentes.

Tibouchina pulchra, além de possuir anteras poricidas, que representam um dos mecanismos mais sofisticados para proteger o pólen da ação da chuva e dos pilhadores (Harter *et al* 2002), apresentam outra peculiaridade, a alteração de coloração de suas peças florais. Deve-se ressaltar que essa mudança de cor das peças florais é um fenômeno comum em Melastomataceae (Renner 1989), sendo observada em flores de outras espécies, como por exemplo, *Miconia mirabilis*, *M. dodecandra*, *M. serrulata*, *M. stenostachya* (Baumgratz & Silva 1986/1988) e *Tibouchina sellowiana* (Goldenberg & Varassin 2001).

Segundo Muller (*apud* Baumgratz & Silva 1986/1988), a alteração de coloração das peças florais pode trazer ou não vantagem à planta. Para *T. pulchra* pode ocorrer os dois fenômenos, a vantagem: a coloração rosa de todas as peças florais poderiam indicar ao inseto ausência de recurso fazendo com que o inseto se dirigisse a flores brancas, desse modo não há perda de energia na busca pelo recurso, uma vez que o inseto se dirige a flores com as anteras com pólen; desvantagem: provavelmente, a mudança de cor não está relacionada com a fertilidade da planta, visto que flores de 2º dia apresentam pólen viável e estigma receptivo. Se esta mudança de coloração ocorrer antes da visita do inseto, haverá perda do material nutritivo (pólen), uma vez que não ocorrerá mais visita dos mesmos e, geralmente, tais flores fenecem.

SISTEMA REPRODUTIVO

A frutificação de *Tibouchina pulchra* em condições naturais é bastante elevada e semelhante à frutificação nos experimentos de polinização cruzada e autopolinização manual, indicando a ausência de mecanismos de auto-incompatibilidade e de manutenção preferencial de frutos provenientes de polinização cruzada. Uma vez que não há autopolinização espontânea, nem produção de frutos apomíticos, esta espécie depende de abelhas para se reproduzir. A receptividade do estigma e a viabilidade do pólen ocorrem sincronicamente, abrindo possibilidade para a autopolinização.

Renner (1989) infere que em Melastomataceae a polinização vibrátil é tão eficiente que, uma vez estabelecida, dificilmente qualquer outro mecanismo de polinização pode evoluir, mesmo em grupos muito rico em espécies. O tipo básico de flores em Melastomataceae seria provavelmente o resultado de co-evolução entre antigos ancestrais de Melastomataceae e abelhas (Renner 1990).

Tibouchina pulchra, apesar de auto-compatível, requer um vetor de pólen para seu sucesso reprodutivo. O sistema de polinização cruzada de uma espécie pode ser influenciado pela atividade do polinizador e pela densidade de flores. Em populações com baixa densidade floral ocorre aumento na dispersão do pólen e menor incidência de autopolinização (Levin & Kirsten 1974). Nas interações entre planta e seus polinizadores, o espaço entre plantas e seus polinizadores, o espaço entre plantas vizinhas parece ser fator importante no sucesso da polinização (Kunin 1997). Como *T. pulchra* é auto-compatível, a eficiência da polinização cruzada também pode ser determinada pelo comportamento da planta, pela distribuição espacial dos indivíduos e pelo número de flores disponíveis simultaneamente na planta.

A reprodução cruzada provê duas vantagens, (1) a cada nova planta contém uma nova combinação de genes podendo adaptar-se a variações ambientais; (2) a recombinação gênica pode prevenir a expressão de mutações deletérias (Proctor *et al.* 1996). Assim, o alto índice de reprodução sexuada contribui para a sobrevivência dos descendentes e conseqüentemente da espécie.

A autocompatibilidade, por sua vez, demonstra sua vantagem quando novas populações são fundadas por apenas um indivíduo (Wells 1979). Neste caso, a reprodução cruzada é impossível, devido à ausência de outros indivíduos da espécie nas proximidades. Provavelmente através da autocompatibilidade, *T. pulchra* consiga maior sucesso no estabelecimento em clareiras recém abertas, conferindo sua capacidade de pioneirismo.

O alto número de sementes germinadas em *T. pulchra* sugere que a viabilidade é satisfatória para todos os tratamentos. Geralmente espécies pioneiras apresentam fotoblastismo positivo e alta produção de sementes pequena e com alta longevidade (Souza & Souza 2001). Provavelmente, a germinação das sementes em *T. pulchra*, provenientes da polinização cruzada, que retardaram seu processo de germinação comparativamente com os outros tratamentos, funcionaria como uma estratégia da planta, que reconheceria a nova combinação gênica e manteria por mais tempo sementes viáveis no solo, constituindo um banco de sementes.

POLINIZAÇÕES TARDIAS

A taxa de frutificação em flores de primeiro dia com pólen oriundo de segundo dia demonstra que, nesse período, a polinização ainda é satisfatória, porém o pólen oriundo de terceiro dia demonstra um decréscimo na produção de frutos.

Investigando o sistema reprodutivo de *T. sellowiana*, uma espécie que apresenta mecanismo de alteração de coloração similar a *T. pulchra*, Goldenberg & Varassin (2001), inferem que, em flores de 2º dia, o sucesso reprodutivo é menor do que o de flores de 1º dia. Esses resultados não se aplicam a *T. pulchra* visto que o número de frutos formados em tratamentos de 2º dia foi similar àqueles obtidos em flores de 1º dia.

Ainda nesse trabalho, os autores inferem que o menor sucesso nas polinizações de segundo dia se dá porque os tubos polínicos levam entre 24h e 48h para atingir os óvulos e, é nesse período que os estiletos começam a cair. Em *T. pulchra*, a queda dos estiletos inicia-se após 120h da antese, dependendo do tratamento realizado, possibilitando a chegada do tubo polínico à micrópila, mesmo em flores polinizadas tardiamente.

As polinizações cruzadas e autopolinizações manuais realizadas com flores de segundo dia demonstram que tanto o estigma está receptivo, quanto os estames estão viáveis pela alta taxa de frutificação.

VISITANTES FLORAIS

A frequência dos visitantes de *Tibouchina pulchra* na população estudada intensifica-se por volta das 10:30h, quando as temperaturas começam a se elevar, tornando escassa por volta das 12:00 h quando as temperaturas são mais elevadas. O comportamento de vibração das abelhas para a coleta do pólen está relacionado com a termorregulação corpórea (Buchmann 1983). Dessa maneira, esse método de coleta parece estar mais apropriado aos horários com temperaturas mais amenas do dia (Renner 1989).

O comportamento dos insetos polinizadores observados em *T. pulchra* são semelhantes ao da maioria das espécies de Melastomataceae neotropicais, que frequentemente são visitadas por abelhas do gênero *Xylocopa*, *Melipona* e *Augochloropsis* (Renner 1989). Esse comportamento está relacionado com a presença de anteras tubulares e porcidas.

As espécies de abelhas encontradas em *T. pulchra* (*Bombus*, *Xylocopa*, *Melipona*, *Halictidae* e *Exomalopsis*), apresentam comportamento típico de visitação, vibrando as anteras na extração do pólen, esse tipo de coleta também foi observado em Solanaceae, no gênero *Solanum* (Carvalho *et al.* 2001; Bezerra & Machado 2003). Com exceção de *Tetragonisca angustula* que coletava o pólen deixado nas pétalas pelos visitantes maiores.

Os halictíneos são considerados pilhadores, já que vibram as anteras, mas seu tamanho diminuto não é suficiente para contatar o estigma da flor durante a coleta. Provavelmente, grande parte das espécies de Halictidae é pilhadora de espécies de Melastomataceae que possuem flores com diâmetro maior que dois centímetros, como *Henriettea succosa* DC. (Fracasso & Sazima 2004). Entretanto, esse comportamento de coleta poderia torná-los polinizadores efetivos de espécies de Melastomataceae em flores menores como *Miconia ciliata* (Melo & Machado 1998). 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.

O comportamento de coleta de pólen das espécies do gênero *Bombus* e *Xylocopa* encontradas em *T. pulchra* foram eficazes na polinização, pois, estas abelhas em apenas uma visita foram eficientes na formação do fruto.

A mesma espécie de abelha raramente visita a mesma flor num mesmo dia e, re-visitas ocorrem quando as flores brancas são escassas. Schmitt & Bertsch (1990) inferem que as abelhas utilizam marcas de odor como repelente e/ou atração usadas na exploração dos recursos. As abelhas solitárias utilizam marcas de dois tipos ou de um tipo com dois componentes: marcas de atração se a flor estiver no seu território, ou convenientes em sua

rota ou ainda se apresentar recurso em grande quantidade. Esse tipo de marca teria uma taxa de declínio lenta e seria provavelmente reconhecida individualmente. No caso de marcas de odor repulsivo, utilizado em flores recentemente visitadas, sua taxa de declínio seria relativamente mais rápida (Dukas & Real 1990). Gilbert *et al.* (2001) inferem que essas marcas não são individuais ou espécie-específicas, mas marcas generalizadas às quais outras espécies também respondem e que podem ter duração que varia de minutos a dias. Em *T. pulchra*, as marcas de odor podem sinalizar a ocorrência de visita prévia a determinada flor e, em virtude da grande quantidade de flores disponíveis, isso asseguraria ao visitante coleta de pólen a flores intocadas. Isto representaria uma economia de energia, 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).

Algumas espécies de Melastomataceae, como *Miconia pepericarpa* (Goldenberg e Shepherd 1998) e *Cambessedesia hilariana* (Fracasso & Sazima 2004), apresentam osmóforos, que se encontram no interior da corola, filetes, anteras, estilete e papilas estigmáticas provenientes dos tricomas glandulares. *T. pulchra* apresenta tricomas glandulares localizados nos filetes maiores e no estilete. Quando as pétalas e os estames forma retirados, não ocorreu visitação. É possível que os tricomas glandulares sejam osmóforos e importantes na atração dos insetos, aliados à coloração da flor. No primeiro dia os osmóforos atrairiam os insetos e, no segundo dia o odor já não estando tão perceptivo ao visitante e a coloração das peças florais alteradas induziria o visitante a flores de 1º dia.

Com a remoção de todas as pétalas ou com a remoção de todos os estames, provavelmente a abelha não é atraída pela ausência das peças florais e pelo pouco odor exalado, sugerindo a importância desse conjunto de estruturas para a eficiência da polinização.

A deiscência poricida, de certo modo, restringe a variedade de visitantes florais a apenas um grupo reduzido de abelhas, que conseguem vibrar seus músculos indiretos de vôo. Esse sistema reduz a perda de pólen, visto que há um direcionamento do pólen expelido, através da vibração, para partes bem definidas do corpo (Buchmann 1983). Porém, nas primeiras visitas, é visível a perda de quantidade considerável de grãos ao ser expelida a nuvem de pólen da antera. A deiscência poricida das anteras faz com que *Tibouchina pulchra* selecione uma guilda de polinizadores hábeis na coleta do recurso, ao passo que a abundância de flores aliadas à alteração das peças florais e a grande quantidade de pólen promovem a constância das abelhas, garantindo assim a sua reprodução.

O fenômeno de mudança de coloração de peças florais ocorre em 214 gêneros, 74 famílias e 33 ordens (Weiss 1995). O fenômeno é mais comumente encontrado entre os grupos considerados derivados e raramente basais.

Em *Rhexia virginica* as flores de 2º dia ao alterarem sua coloração, tornam-se estéreis e não recebem mais visitas. Essa mudança de cor funcionaria como um *display*, direcionando os visitantes às flores férteis (Gross & Kukuk 2001). Em *T. pulchra*, as flores velhas têm efeito de permanência, pois, a longa distância, funcionaria com atrativo aos polinizadores e, a curta distância, a mudança de coloração das flores associada à diminuição de odor, direcionariam o visitante a flores brancas. Weiss (1995) menciona em seu trabalho, a retirada de flores velhas da planta, e comparativamente com um indivíduo sem manipulação, constatou a diminuição de visitantes, indicando um efeito de permanência.

As flores que foram ensacadas na antese e, expostas no 2º dia, apesar de terem suas anteras repletas de pólen, não receberam visita de seus polinizadores efetivos, com exceção dos halictíneos. Isso pode ter ocorrido por alguns fatores, devido à grande quantidade de flores brancas; à escassez dos visitantes devido às temperaturas elevadas; à umidade alta nos dias em que se realizaram os testes ou ainda ao fato da coloração rosa indicar ao inseto escassez de recurso.

Weiss (1991) sugere que a peça floral que muda de cor está relacionada ao tipo de polinizador. Flores polinizadas por abelhas, normalmente apresentam mudança de coloração numa região específica, como por exemplo, o centro da flor, o hipanto, nectários, guias de néctar, etc.; flores polinizadas por morcegos ou mariposas sofrem alteração de cor em todas as peças florais. Em *T. pulchra*, uma espécie polinizada por abelha, a mudança de coloração ocorre em toda a flor, e não em uma região específica da flor, não corroborando com hipótese de Weiss.

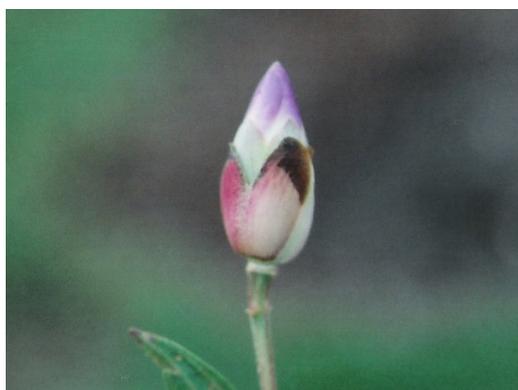
A receptividade do estigma, permanecendo viável nas flores de 2º e 3º dia, demonstra que a alteração da coloração das peças floral não está relacionada com a fertilização dos óvulos. As flores de 2º dia nesta espécie, podem ser fertilizadas com sucesso, porém não são atrativas aos polinizadores efetivos, com exceção de *Bombus* que freqüentou flores rosa quando o número de flores brancas decresceu. O número de flores rosa visitadas por um mesmo indivíduo não ultrapassava o número de flores brancas na visitação.

Os resultados obtidos com *T. pulchra* sugerem que alterações de cor das peças florais não podem ser atribuídas à polinização ou à fecundação do estigma. As flores rosa poderiam estar funcionando como um atrativo visual adicional, de longa distância, na atração dos visitantes às flores.

LISTA DE FIGURAS



a



b



c

Fig. 1- (a) Botões florais, com presença das bractéolas. (b) Botões florais, sem duas bractéolas. (c) Botões na pré-antese.



a



b



c

Fig 2- (a) Flor de 1^o dia. (b) Flor de 2^o dia. (c) Flor de 3^o dia.



a



b



c

Fig. 3 (a) Flor de 4^o dia. (b) Queda dos estames. (c) Presença do estigma e pétalas.



a



b



c

Fig.4- (a) Início do desenvolvimento do fruto. (b) Fruto com coloração esverdeada. (c) Fruto da floração anterior.

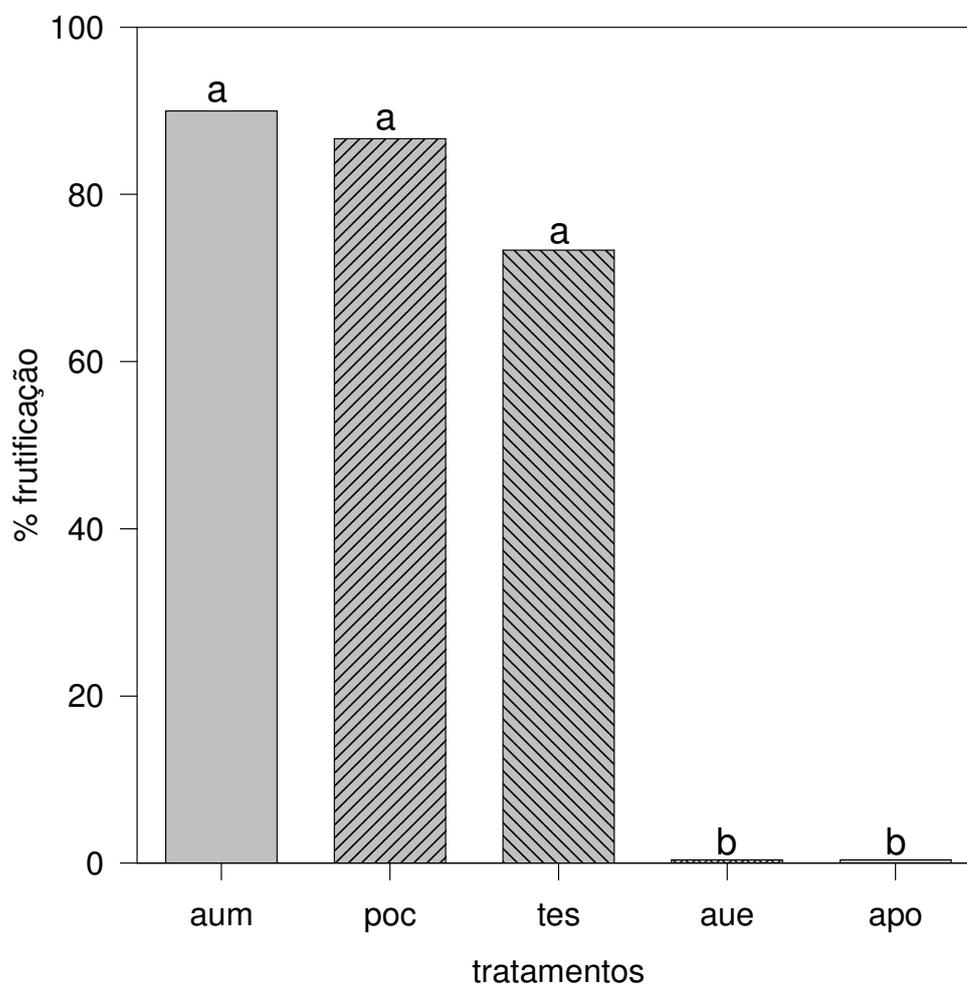


Fig. 5 – Porcentagem de formação de fruto nos tratamentos controlados nas flores de *Tibouchina pulchra*. Sendo: Aum-Autopolinização manual, poc – polinização cruzada, test- testemunha, que- autopolinização espontânea, apo- apomixia. Realizadas em Morretes/PR, de 5 de janeiro /04 a 20 fevereiro/05.

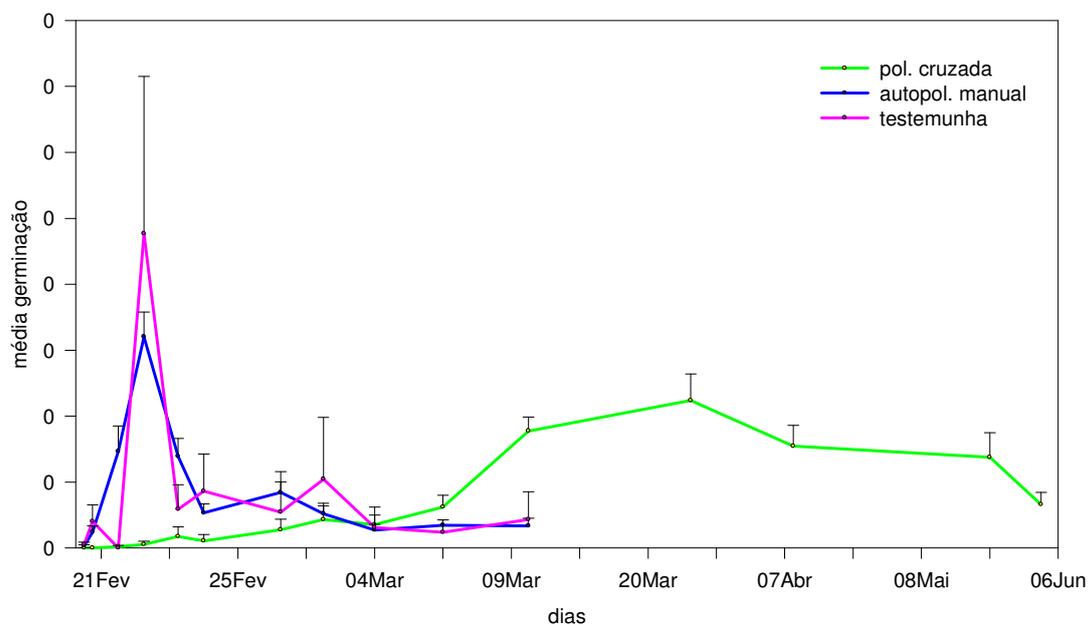


Fig.6- Média de germinação das sementes de *Tibouchina pulchra*, nos tratamentos controlados de polinização cruzada, autopolinização manual e testemunha, Morretes/PR, entre 15 de fevereiro a 06 de junho de 2005.

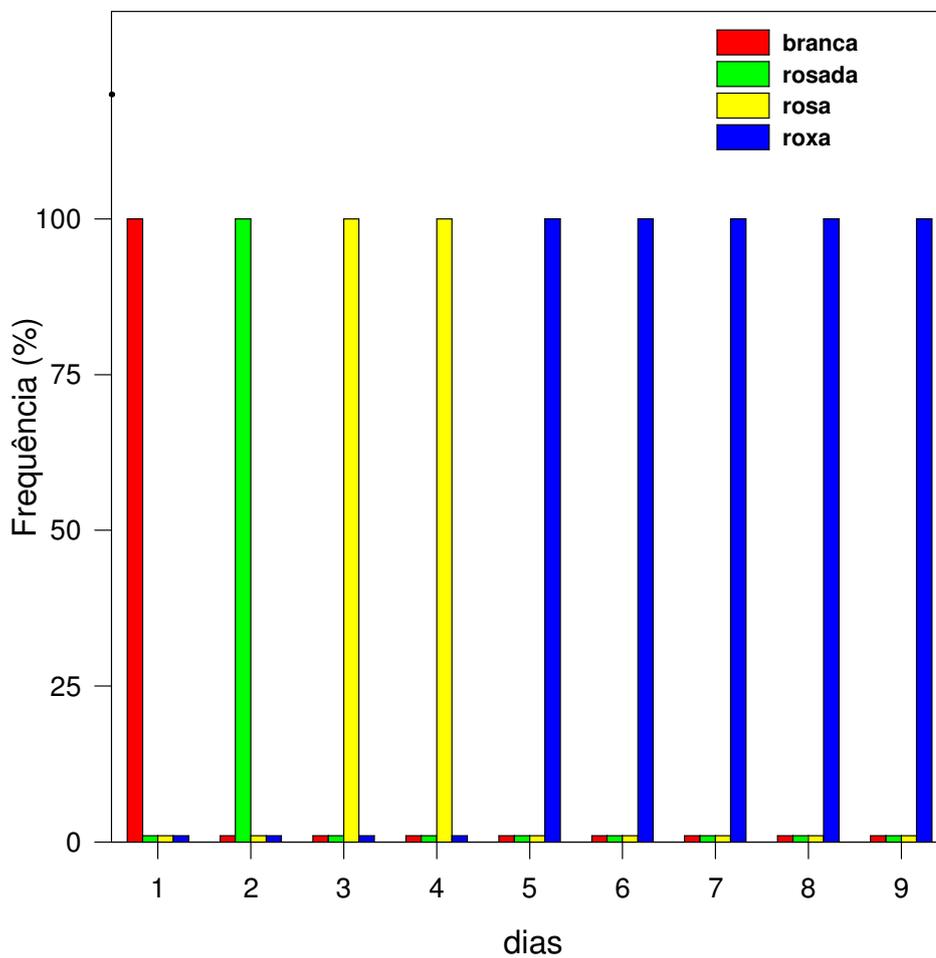


Fig. 7 Porcentagem de gradação de cores das pétalas das flores de *Tibouchina pulchra*, realizado no tratamento de autopolinização espontânea e apomixia, desde a antese até a queda das peças florais, em Morretes/PR, de 5 de dezembro/04 a 20 de fevereiro/05.

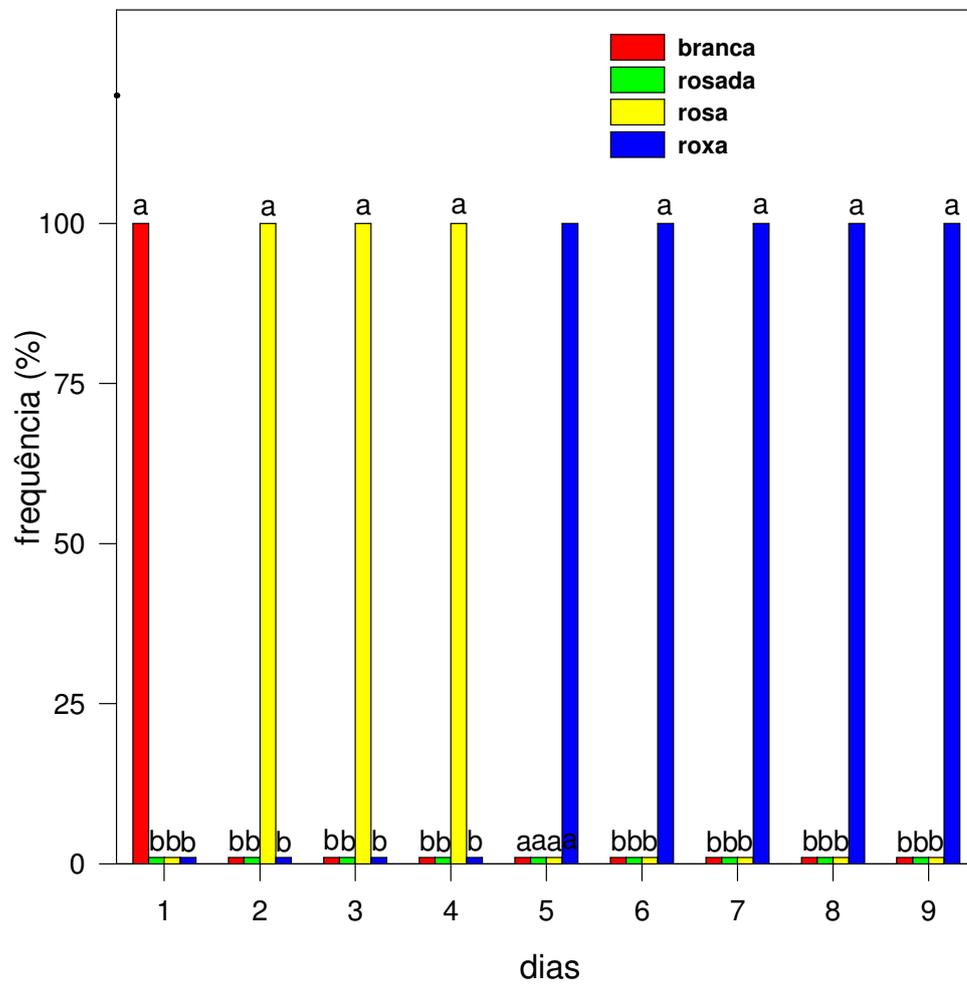


Fig. 8- Porcentagem de gradação de cores das pétalas das flores de *Tibouchina pulchra*, realizado no tratamento de autopolinização manual e polinização cruzada, desde a antese até a queda das peças florais, em Morretes/PR, de 5 de dezembro/04 a 20 de fevereiro/05.

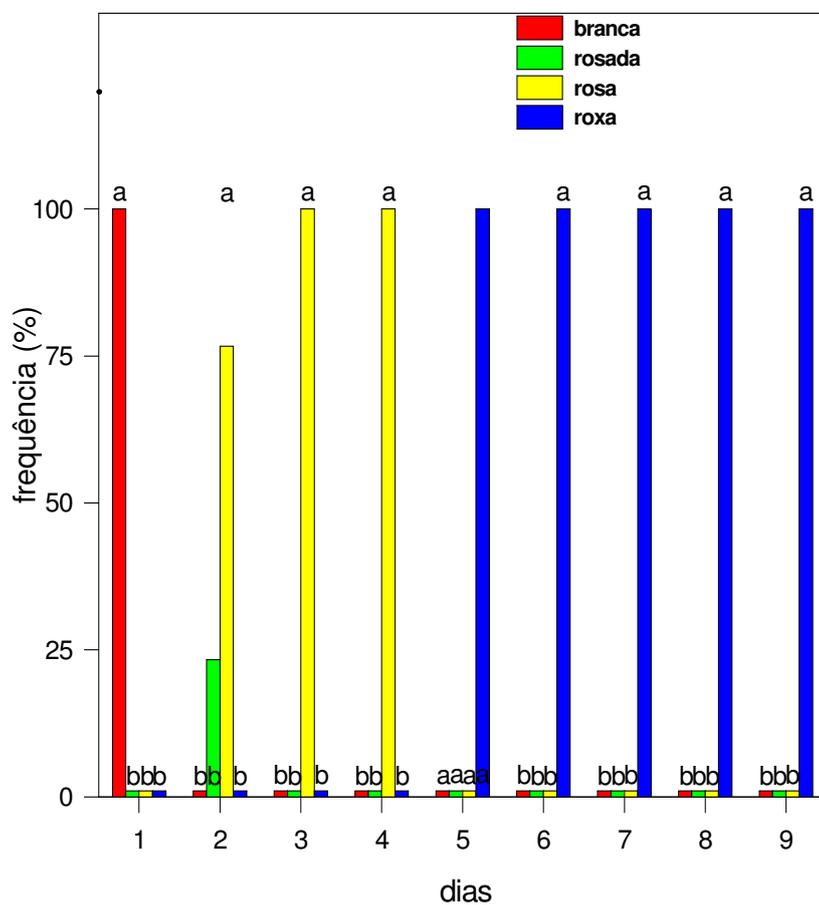


Fig. 9- Porcentagem de gradação de cores das pétalas das flores de *Tibouchina pulchra*, realizado no tratamento acompanhado do material testemunha, desde a antese até a queda das peças florais, em Morretes/PR, de 5 de dezembro/04 a 20 de fevereiro/05.

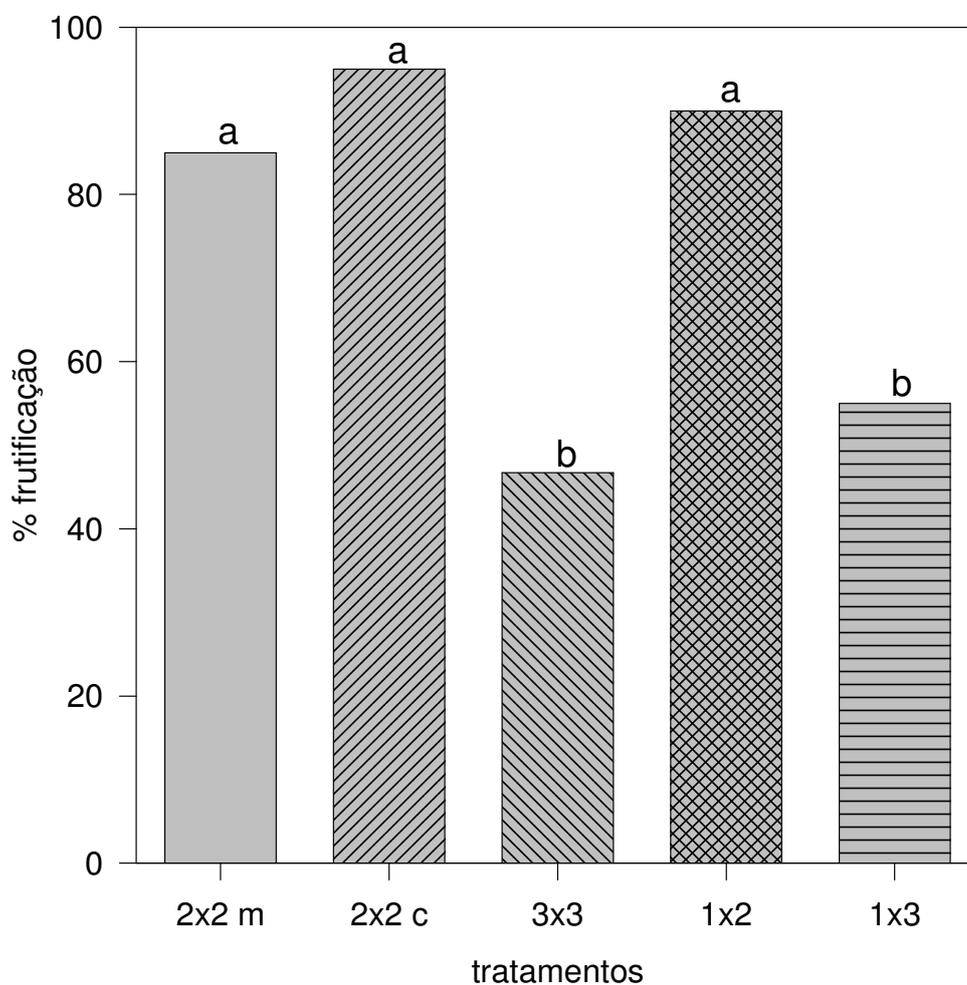


Fig. 10- Porcentagem de formação de frutos nos tratamentos controlados das polinizações tardias, em flores de *Tibouchina pulchra*. Sendo: 2x2m- flores de 2º dia polinizadas por meio de autopolinização manual, 2x2- flores de 2º dia polinizadas por meio de polinização cruzada, 3x3- flores de 3º dia polinizadas por meio de polinização cruzada. 1x2 e 1x3- flores de 1º dia polinizadas por meio de polinização cruzada com pólen oriundo de flores de 2º e 3º dia, respectivamente em Morretes/PR, de 5 de janeiro/04 a 20 de fevereiro/05.

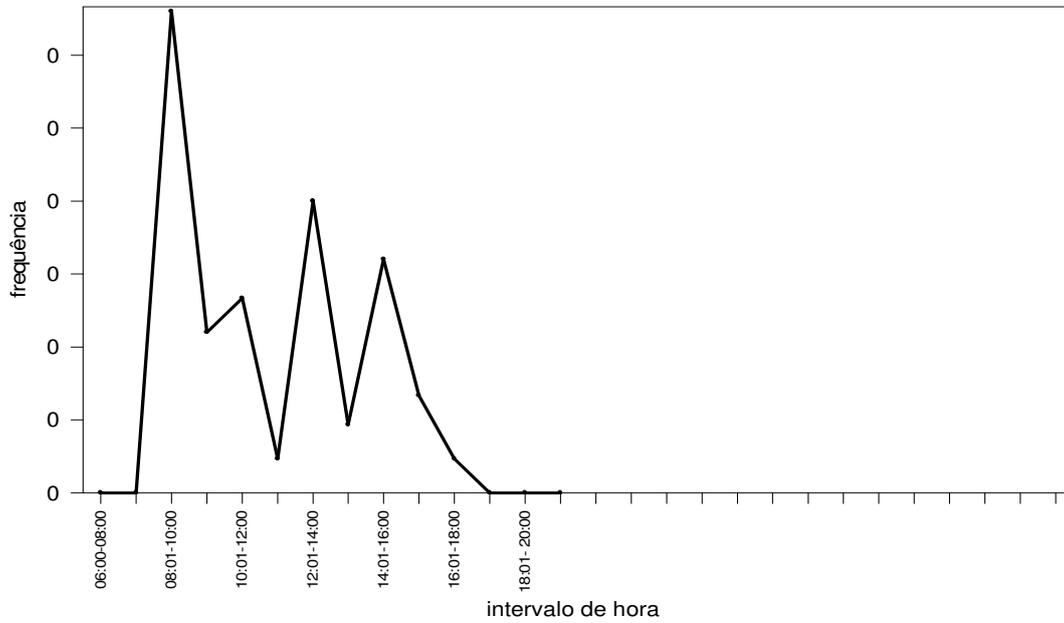


Fig. 11- Frequência das espécies de Halictidae em flores de *Tibouchina pulchra*. Morretes/PR, de 05 de dezembro/04 a 20 de fevereiro/05.

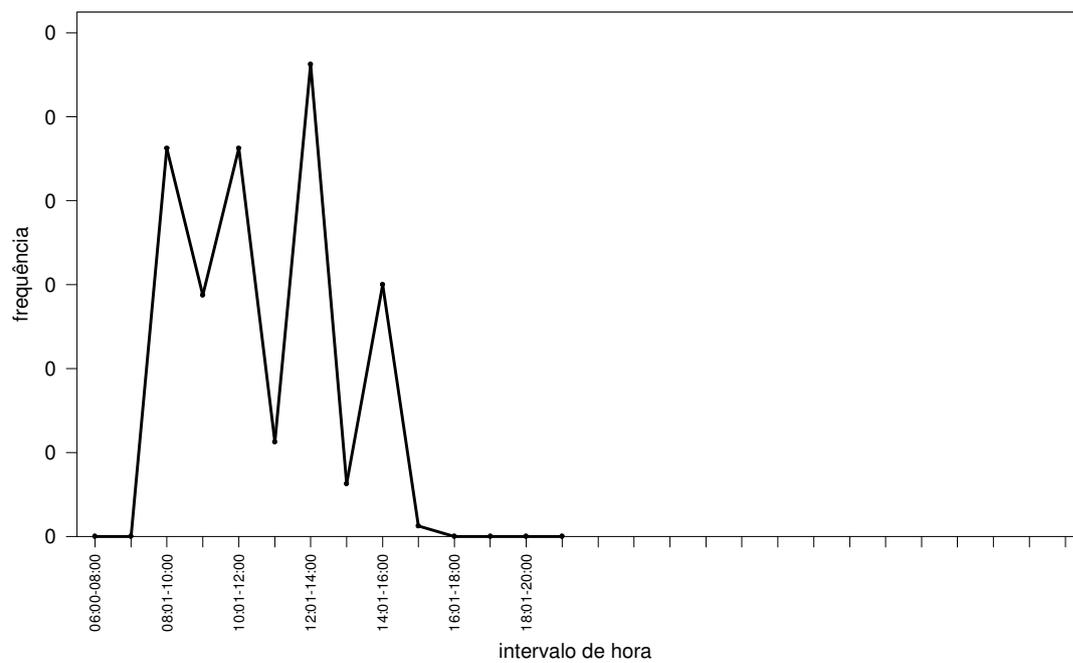


Fig. 12- Frequência das espécies de *Bombus* em flores de *Tibouchina pulchra*. Morretes/PR, de 05 de dezembro/04 a 20 de fevereiro/05.

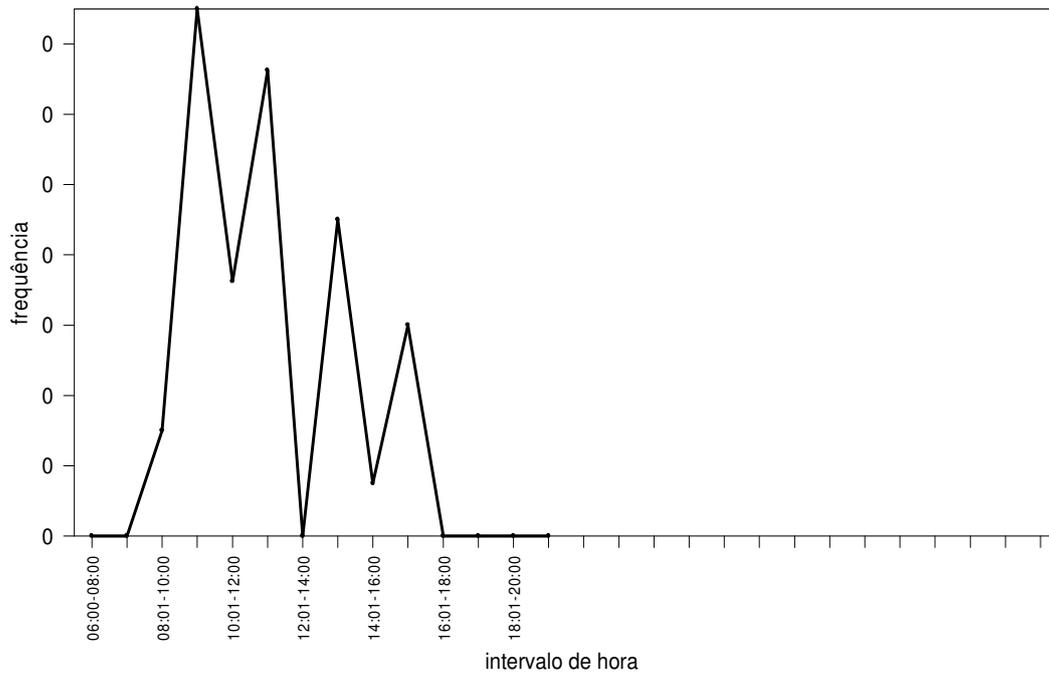
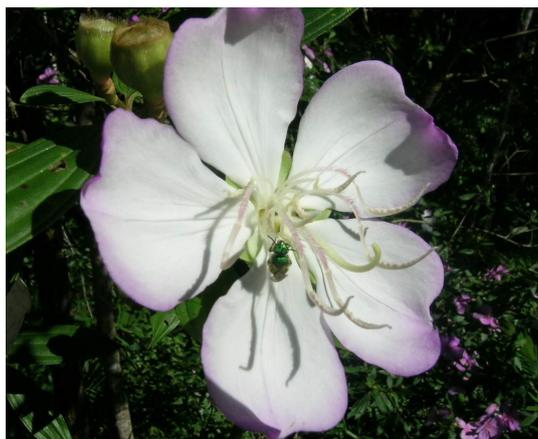


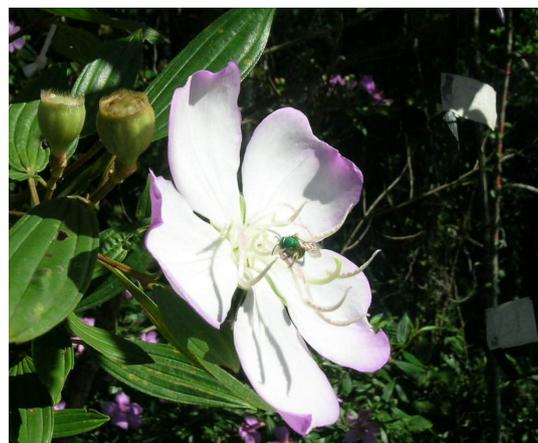
Fig. 13- Frequência das espécies de *Xylocopa* em flores de *Tibouchina pulchra*. Morretes/PR, de 05 de dezembro/04 a 20 de fevereiro/05.



a



b

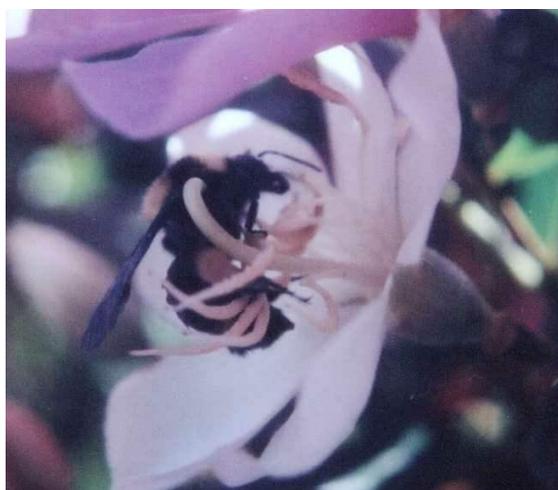


c

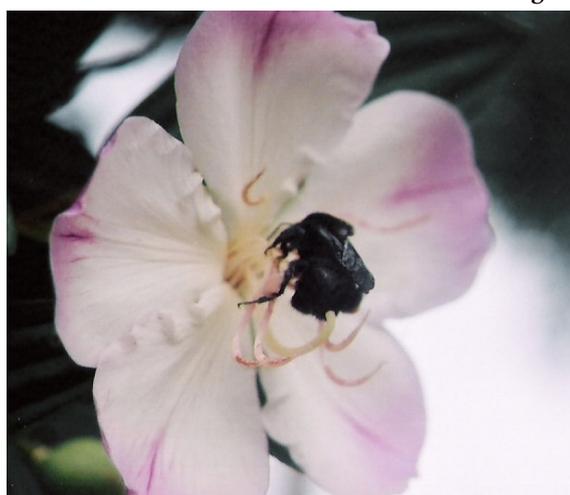
Fig.14 (a, b e c) Halictíneos forrageando flores brancas. Note que não há distinção entre os estames dimórficos.



a



b



c

Fig. 15 (a, b e c) Comportamento de *Bombus morio* em flores de 1º dia.



Fig. 16 (a) Comportamento de *Bombus atratus* em flores de 1º dia.



a



b



c

Fig. 17 (a, b e c) Comportamento de *Xylocopa frontalis* ao forragear as flores brancas.



a



b

Fig. 18 (a e b) Halictíneos forrageando em flores do 2º dia.

REFERENCIAS BIBLIOGRAFICAS

- ALMEDA, F. 1978. Systematics of the genus *Monochaetum* (Melastomataceae) in Mexico Central America. *Univ. Calif. Publ. Bot.* 75: 1-113.
- ALMEDA, F. & MARTINS, A. B. 2001. New combinations and names in some brazilian Microliceae (Melastomataceae), with notes on the delimitation of Lavoisiera, Microlicia, and Trembleya. *Novon* 11: 1-7.
- ALVES-dos-SANTOS, I. 1999. Abelhas e plantas melíferas da mata atlântica, restinga e dunas do litoral norte do estado do Rio Grande do Sul. *Rev.Bras.Entomol.*43: 191-223.
- AVANZI, M. R. & CAMPOS, M. J. O. 1997. Estrutura de guildas de polinização de *Solanum aculeatissimum* Jacq. E *S.variabile* Mart. (Solanaceae). *Rev.Brasil.Biol.* 57(2): 247-256.
- BAUMGRATZ, J. F. & SILVA, N. M. F. 1986|1988. Ecologia da polinização de *Miconia stenostachya* DC. *Rodriguesia* 64|66 (38|40): 11-23.
- BARROSO, G. M., PEIXOTO, A. L., COSTA, C. G.; ICHASO, C.L.F.; GUIMARÃES, E. F. & LIMA, H. C. 1984. *Sistemática de angiospermas do Brasil*. Vol.2, Imprensa Universitária da Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.
- BERTIN, R.I. BARNES, C. & GUTTMAN, S.I. 1989. Self-sterility and cryptic self-fertility in *Campsis radicans* (Bignoniaceae). *Bot. Gaz.* 150: 397-403.
- 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 Bot.* 17 (2): 247-257.
- BUCHMANN, S. L & HURLEY, J. P. 1978. A biophysical model for buzz pollination in Angiosperma. *J Theor. Biol.* 72: 639-657.
- BUCHMANN, S. L. 1983. Buzz pollination in angiosperms. In: C.E. Jones & R.J. Little

- (eds.) *Handbook of experimental pollination biology*. Van Nostrand Reinhold. New York, P 294-309.
- COLEMAN, J. R. & COLEMAN, M. A. 1982. Reproductive biology of andromonoecious *Solanum* (*Solanum palinacanthum* Dunal.) *Biotropica* 14: 55-87.
- CARVALHO, C. A. L.; MARQUES, O. M.; VIDAL, C. A. & NEVES, A. M. S. 2001. Comportamento de forrageio de abelhas (Hymenoptera, Apoidea) em flores de *Solanum palinacanthum* Dunal. (Solanaceae). *Rev. Bras. Zool.* (3): 35-44.
- DUKAS, R. & DAFNI, A. 1990. Buzz pollination in three nectariferous *Boraginaceae* and possible evolution of buzz-pollinated flowers. *Plant Systematic and Evolution* 169: 65-68.
- DUKAS, R. & REAL, L. A. 1991. Learning foraging tasks by bees: a comparison between social and solitary species. *Animal Behaviour* 42: 269-276.
- ENDRESS, P. K. 1994. Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge University Press, Cambridge. 551pp.
- FAEGRI, K. & VAN DER PIJL, L. 1979. *The principles of pollination ecology*. Pergamon Press, New York.
- FRACASSO, C. M. & SAZIMA, M. 2004. Polinização de *Cambessedesia hilariana* (Kunth) DC. (Melastomataceae): sucesso reprodutivo versus diversidade, comportamento e frequência de visitas de abelhas. *Rev. Bras. Bot.* 27 (3): 794-804.
- GENTRY, A. H. 1994. 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 flower made by a solitary bee. *Animal Behaviour* 61: 64-68.

- 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, São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 24(3): 283-288.
- GROSS, C.L. & KUKUK, P. F. 2001. Foraging strategies of *Amegilla anomola* at the flowers of *Melastoma affine*- no evidence separate feeding and pollination anthers. *Acta Hort.* 561:171178.
- GUIMARÃES, R. J. F. & RANGA, N. T. 1993. Sistema de reprodução de *Rhynchanthera dichotoma* (Lam.) DC. (Melastomataceae). *Acta Bot. Bras.* 11: 41-44.
- 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. *J. of Apicultural Research* 40: 9-16.
- JANZEN, D. H. 1980. *Ecologia Vegetal nos trópicos*. São Paulo: Ed. EPU/IEDUSP, 79pp.
- KUNIN, W.E. 1997. Population size and density effects in pollination: pollinator foraging and plant reproductive success in experimental arrays of *Brassica kaber*. *Journal of Ecology* 85:225-234.
- LAROCA, S. 1970. Contribuição para o conhecimento das relações entre abelhas e flores: coleta pólen das anteras tubulares de certas Melastomataceae. *Rev. Floresta* 2: 69-74.
- LARSON, B. M. H. & BARRETT, S. C. H. 1999b. The ecology of pollen limitation in buzz-pollination *Rhexia virginica* (Melastomataceae). *Jour. Ecol.* 87: 371-381.
- LEITÃO-FILHO, H.F., PAGANO, S.N., CESAR, O., TIMONI, J.L. & RUEDA, J.J. 1993. *Ecologia da Mata Atlântica em Cubatão*. Editora da Universidade Estadual Paulista/Universidade Estadual de Campinas, Campinas.

- LEVIN, D. A. & KERSTER H.W. 1974. Gene flow in seed plants. *Evolutionary Biology* 7: 139-220.
- LORENZI, H. 1992. *Árvores Brasileiras*. São Paulo, Ed. Plantarum, 368p.
- MAACK, R. 1981. *Geografia física do estado do Paraná*. José Olimpo, Rio de Janeiro. 450p.
- MARTÍNEZ-RAMOS, M., 1985, Claros, ciclos vitales de las arboles tropicales y regeneración natural de las selvas altas perenifolias. In: A. Gomez-Pompa & S. Del Almo (eds.), *Investigaciones sobre la regeneración de selvas altas em Meracruz, Mexico*, Volumen II, INIREB Edito-rial Alhambra Mexicana Xalapa, Mexico, 421p.
- MELO, G. F. & MACHADO, I. C. 1996. Biologia reprodutiva de *Henrittea succosa* DC. (Melastomataceae). *Rrev. Bras. Biol.* 56 (2): 383-389.
- MELO, G.F. & MACHADO, I. C & M. LUCEÑO.1999. Reprodución de três espécies de *Clidemia* (Melastomataceae) em Brasil. *Rev. Biol. Trop.* 47:359-363.
- MELO, G.F. & MACHADO, I. C. 1998. Auto-incompatibilidade em *Miconia ciliata* (L. C.) DC. (Melastomataceae). *Acta Botânica Brasília* 12:113-120.
- POMPÉIA, S. L.; PRADELLA, D.Z.A.; MARTINS, S. E.; SANTOS, R. C. & DINIZ, K. M. 1989. A sementeira área na serra do Mar em Cubatão. *Ambiente*, 3(1): 13-19.
- PONT, A. C. 1994. Muscidae (Diptera) as flower-visitors and pollen feeders. *Dipterists digest* 1: 58-61.
- PROCTOR, M.; YEO, P. & LACK, A.1972. *The pollination of the flowers*. Taplinger Publ. Company, New York. 418p.
- PROCTOR, M.; YEO, P. & LACK, A. 1996. *The natural history of pollination*. Harper Collins Publishers, New York.

- RENNER, S. S. 1986/1987. Reproductive biology of *Bellucia* (Melastomataceae). *Acta Amazonica* 16/17 (número único): 197-208.
- RENNER, S. S. 1989. A survey of reproductive biology in neotropical Melastomataceae and Memecylaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 76: 496-518.
- RENNER, S. S. 1990. Reproduction and evolution in some genera of neotropical Melastomataceae. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 55: 143-152.
- RENNER, S. S. 1993. Phylogeny and classification of the Melastomataceae and Memecylaceae. *Nord. J. Bot.* 13: 519- 540.
- RICHARDS, A. J. 1997. Plant breeding system. London: George Allen & Univin, 529pp.
- ROMERO, R. & MARTINS, A. B. 2002. Melastomataceae do Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil. *Rev. Brasil. Bot.* 25 (1): 19-24.
- SAS Institute. 1990a. SAS/STAT user's guide, vol. 1. SAS Institute, Cary, NC.
- SAS Institute. 1990b. SAS/STAT user's guide, vol. 2. SAS Institute, Cary, NC.
- SCHIMITT, U. & BERTSCH, A. 1990. Do foraging bumbles scent-mark food source and does it matter. *Oecologia* 82: 137-144.
- SEAVEY, S. R. & BAWA, K. S. 1986. Late-acting self-incompatibility in Angiosperma. *Bot. Review* 52: 195-219.
- SILVA, C. F. 1989. Composição florística e estrutura fitossociológica da floresta tropical ombrófila da Encosta Atlântica no município de Morretes, PR. *Boletim de Pesquisa Florestal* 18/19: 31-39.
- SOUZA, M. L. D. R. 1986. Estúdio Taxonômico do gênero *Tibouchina* Aubl. (Melastomataceae) no Rio Grande do Sul, Brasil. *Insula* 16: 110.

- STEIN, B. A. & TOBE, H. 1989. Floral nectaries in Melastomataceae and their systematic and evolutionary implications. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 76: 519-531.
- VOGEL, S. T. 1978. Evolutionary shifts from reward to deception in pollen flower. *In*: A. J. (ed.) *The pollination of flower by insects*. Academic Press, London 89-95pp.
- WEISS, M. R. 1991. Floral color changes as cues for pollinator. *Nature* 354:227-229.
- WEISS, M. R. 1995. Floral color changes: a windspread functional convergence. *American Journal of Botany* 82: 167-185.
- WELLS, H. 1979. Self-fertilization: advantageous or deleterious! *Evolution* 33 (1):352-255.
- WURDACK, J. J. 1962. Melastomataceae of Santa Catarina. *Sellowia*. 14: 109-217.