



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL



**Divisão de trabalho em anteras de *Microlicia cordata* (Spreng.) Cham.
(Melastomataceae)**

Mariana de Souza Carvalho Velloso

Orientadora: Profa. Dra. Rosana Romero
Co-orientador: Prof. Dr. Vinicius Lourenço Garcia de Brito

UBERLÂNDIA - MG

2017



**Divisão de trabalho em anteras de *Microlicia cordata* (Spreng.) Cham.
(Melastomataceae)**

Mariana de Souza Carvalho Velloso

Orientadora: Profa. Dra. Rosana Romero

Co-orientador: Prof. Dr. Vinicius Lourenço Garcia de Brito

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal.

UBERLÂNDIA - MG

2017

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

V441d Velloso, Mariana de Souza Carvalho, 1988-
2017 Divisão de trabalho em anteras de *Microlicia cordata* (Spreng.)
Cham. (Melastomataceae) / Mariana de Souza Carvalho Velloso. 2017.
49 f. : il.

Orientadora: Rosana Romero.
Coorientador: Vinícius Lourenço Garcia de Brito.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal.
Inclui bibliografia.

1. Biologia Vegetal - Teses. 2. Polinização - Teses. 3. Antera -
Teses. I. Romero, Rosana. II. Brito, Vinícius Lourenço Garcia de. III.
Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em
Biologia Vegetal. IV. Título.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
INSTITUTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA
VEGETAL



Divisão de trabalho em anteras de *Microlicia cordata* (Spreng.) Cham.
(Melastomataceae)

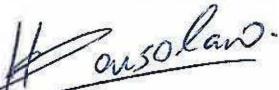
Mariana de Souza Carvalho Velloso

COMISSÃO EXAMINADORA

Presidente:


Profa. Dra. Rosana Romero - Orientadora
Universidade Federal de Uberlândia – UFU

Examinadores:


Prof. Dr. Hélder Nagai Consolaro
Universidade Federal de Goiás - UFG


Prof. Dr. Paulo Eugênio Alves Macedo de Oliveira
Universidade Federal de Uberlândia - UFU

Dissertação aprovada em: 30 / 03 / 2017

UBERLÂNDIA - MG
2017

AGRADECIMENTOS

Em primeiro lugar a Jeová Deus, por ter a oportunidade de aprender sobre suas maravilhosas qualidades ao estudar seu belo projeto na natureza.

À minha família e aos amigos que me apoiaram ao longo desse tempo, especialmente à minha mãe Merceny de Souza, seu marido José Márcio Dias e minha amiga Marita Rita, que embora não sejam biólogos me acompanharam nas pesquisas de campo; também ao meu pai Vilmar Carvalho, que tanto incentivo me deu para fazer o mestrado. E ainda ao meu querido marido, Leonardo Velloso, por me apoiar na finalização desta pesquisa.

Também aos meus prezados orientadores, Rosana Romero e Vinícius Brito, e a prezada colaboradora Ana Paula Caetano, pelo auxílio nas pesquisas de campo, pelo fornecimento de materiais de apoio à pesquisa, também pela grande ajuda na análise e montagem de dados bem como pelas ricas sugestões para melhor construção do texto. O apoio deles fez toda diferença no decorrer do trabalho e em sua finalização.

Aos colegas Jean Corrêa Fontelas e Luana Português Vital pela ajuda nas atividades de campo e Gudryan Jackson Barônio e Bárbara Matos da Cunha Guimarães pelo auxílio na análise de dados de coloração das peças florais.

À Universidade Federal de Uberlândia (UFU) e ao programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal (PPGBV) por viabilizar a pesquisa.

À Coordenação do programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal (PPGBV) da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), em especial, a secretária do Programa, Nívia Mara Silva Rodrigues, pelo auxílio em minhas dúvidas e pela ajuda em questões burocráticas.

À equipe do Clube Caça e Pesca Itororó Uberlândia (CCPIU) por permitir o trabalho de campo em sua área.

Ao Laboratório de Morfologia Vegetal e Imagens (Lamovi) pelo material de apoio.

Ao Instituto de Biologia (Inbio) que apoia as atividades de pesquisa.

À CAPES pela Bolsa de Pesquisa concedida no ano de 2015.

APRESENTAÇÃO

A presente dissertação é apresentada na forma de manuscrito a ser submetido para publicação em periódico internacional e, por isso, os itens Introdução, Materiais e Métodos, Resultados e Discussão foram redigidos em formato de publicação. A fim de situar o leitor do tema abordado, também foi incluída uma introdução geral e considerações finais.

SUMÁRIO

I. INTRODUÇÃO GERAL.....	1
II. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	6
INÍCIO DO ARTIGO	10
RESUMO.....	11
ABSTRACT.....	12
INTRODUÇÃO.....	13
MATERIAIS E MÉTODOS.....	15
RESULTADOS.....	20
DISCUSSÃO.....	28
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	35
III. CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	43

I. INTRODUÇÃO GERAL

Interações entre plantas e polinizadores

Grande parte dos seres vivos no planeta interagem uns com os outros constantemente e de formas variadas visando, principalmente, aumentar suas chances de sobrevivência (Bronstein 1994; Bronstein *et al.* 2006; Dátilo *et al.* 2009). De fato, o sucesso da vida no planeta está intimamente associado com o sucesso das interações bióticas, as quais podem ocorrer em todos os ambientes, ou ainda dentro e fora dos organismos. Porém, dentre todas as interações, as que envolvem plantas e animais são as principais responsáveis pelos processos e padrões que mantém a biodiversidade na Terra (Del-Claro *et al.* 2013). Dentro desse contexto, uma das principais relações de interação entre plantas e animais é o mutualismo, na qual uma espécie fornece um tipo de serviço que outra espécie não poderia obter sozinha (por exemplo dispersão eficaz de pólen ou semente) e recebe em troca algum recurso como recompensa (por exemplo alimento), trazendo assim benefícios líquidos para ambas espécies envolvidas (Bronstein 1994; Rech & Brito 2012).

O conhecimento acerca do mutualismo entre plantas e animais na literatura é extensivo e direcionado na identificação dos animais visitantes das plantas e nos serviços prestados por estes, que, geralmente, envolvem polinização, dispersão de sementes e proteção contra herbivoria. Também estes estudos dão a possibilidade de agrupar diversas interações baseando-se nos recursos que os mutualistas fornecem, nas recompensas que os visitantes recebem pelos serviços prestados e nos atrativos que as espécies interagentes utilizam para localizar um ao outro (Bronstein 1994). A maioria dos estudos sobre interações mutualísticas realizados aborda a interação planta-animal em seus diversos aspectos, sendo que metade destas pesquisas aborda a interação mutualística planta-polinizador, a qual se destaca como uma das mais importantes do ponto de vista ecológico e evolutivo (Bronstein 1994; Ollerton *et al.* 2011; Rech & Brito 2012). Isto se dá por se tratar de uma interação muito frequente. Por exemplo, em regiões temperadas quase 80% das plantas são polinizadas por animais, já nas regiões tropicais esse número aumenta para cerca de 90% das espécies vegetais (Ollerton *et al.* 2011; Rech *et al.* 2016).

Os insetos, especialmente as abelhas, costumam ser os principais agentes polinizadores em muitos ecossistemas (Waser *et al.* 1996). Tal interação lança luz sobre a evolução e as funções de diversos caracteres que têm implicado nos padrões de diversificação

de inúmeros grupos vegetais, especialmente das Angiospermas. Também a questão assume importância no domínio da conservação, visto que o desaparecimento dos polinizadores pode implicar em perigo para as espécies de plantas que dependem deles (Bronstein *et al.* 2006). Além disso, muitos estudos envolvem sistemas de polinização, provavelmente, porque os polinizadores frequentemente são fáceis de se observar e de serem usados em experimentos, e também devido à possibilidade de avaliar os estímulos fornecidos pelas plantas (Bronstein 1994; Waser *et al.* 1996). Sendo assim, atributos como odor, cor, forma e simetria floral possuem funções importantes na interação planta-polinizador, especialmente, no que se refere à atração dos polinizadores, os quais reagem aos estímulos do ambiente de acordo com sua capacidade de captar, processar e acumular as informações por meio de seus órgãos sensoriais (Brito *et al.* 2014; Varassin & Amaral-Neto 2014; Barônio *et al.* 2016).

Ecologia cognitiva da polinização e visão em cores

De modo geral, a “cognição” envolve a retenção, o processamento e, por fim, a utilização das informações adquiridas através dos órgãos do sentido (Brito *et al.* 2014). Sendo assim, um polinizador precisa de habilidades para detectar sinais e associá-los com recompensas, além da habilidade de extrair e usar tais recompensas. Pode-se dizer que essas habilidades comportamentais, morfológicas e fisiológicas podem ser determinadas por questões ambientais ou genéticas (Waser *et al.* 1996; Brito *et al.* 2014).

A cor, em especial, é uma característica que está fortemente relacionada com a capacidade de processamento visual e sensorial de um determinado indivíduo, sendo que cada grupo de organismos é capaz de enxergar em determinado comprimento de onda, o que caracteriza seu espectro visível (Willmer 2011; Brito *et al.* 2014). A mesma superfície pode ser vista em cores diferentes por meio de sistemas sensoriais diferentes e ainda por animais diferentes (Willmer 2011). Além disso, a capacidade para enxergar em vários comprimentos de onda é fundamental para a discriminação dos objetos (Land & Nilsson 2002).

O sinal mais importante nos sistemas de polinização é a visão, e assim como as flores são vivamente coloridas, muitos polinizadores são conhecidos por possuir visão em cores, como é o caso das abelhas, que podem ser treinadas com uma grande variedade de estímulos coloridos (Waser *et al.* 1996; Land & Nilsson 2002). Realmente, os invertebrados são, por excelência, o grupo no qual se encontra a maior variedade na estrutura e no arranjo dos fotorreceptores, associados com a captação de luz e processamento de informações, contando

com os mais sofisticados aparatos visuais, como é o caso dos olhos compostos dos insetos (Snyder 1979).

As abelhas, geralmente, têm visão tricromática, com fotorreceptores para os comprimentos de onda ultravioleta (UV), azul e verde, o que é ideal para a identificação da cor das flores, visto que muitas delas refletem luz na faixa do UV que, embora seja imperceptível aos olhos humanos, são muito atrativas para os polinizadores (Chittka & Menzel 1992; Waser *et al.* 1996; Land & Nilsson 2002). As flores usam também combinações de determinados pigmentos, como flavonoides, carotenoides e betalaínas, nesse processo de atração. Porém seu brilho e coloração não são afetados apenas pela pigmentação, mas também por efeitos de reflexão da luz (Willmer 2011). É interessante que muitos polinizadores apresentam preferências por determinadas cores, sendo assim, as plantas usam as cores para tornar suas flores mais conspícuas e atrativas no ambiente em que se encontram. Por isso, é muito fácil notar a grande variedade de displays florais coloridos que interagem com as habilidades visuais de seus visitantes (Willmer 2011).

Análises anatômicas

Desde o início do estudo da Botânica, há séculos atrás, os cientistas estiveram interessados em descobrir detalhes sobre a estrutura e o desenvolvimento de células, tecidos e órgãos vegetais, o que só é possível através das análises anatômicas (Beck 2010), visto que esse arranjo estrutural, como um todo, reflete grande organização e especialização (Evert 2006). Atualmente, os estudos a respeito da estrutura anatômica das plantas têm sido grandemente beneficiados e facilitados pelas novas abordagens e técnicas de pesquisas disponíveis, associados à interdisciplinaridade nas pesquisas, que envolvem, por exemplo, análise de dados moleculares associados à anatomia vegetal (Evert 2006).

Os estudos de anatomia vegetal são muito importantes, sejam aqueles que se referem à anatomia da parte vegetativa ou da parte reprodutiva da planta, pois podem permitir a identificação de indivíduos em nível de espécie e auxiliar na delimitação de relações de parentesco entre diferentes táxons (Carvalho *et al.* 2009; Somavilla & Ribeiro 2011). Além disso, características anatômicas e morfológicas são afetadas por fatores ecológicos (Gönüz & Özörgücü 1999). Sendo assim, as análises anatômicas se tornam importantes para estudos nas áreas de taxonomia, sistemática, filogenética, ecologia e evolução (Dickison 2000).

Família Melastomataceae e polinização vibrátil

Melastomataceae A. Juss. é uma família cosmopolita com cerca de 170 gêneros e mais de 5.400 espécies (Goldenberg *et al.* 2015), sendo a maior parte de seus representantes encontrados nas regiões tropicais e subtropicais do planeta (Goldenberg *et al.* 2012). É a sexta maior família de angiospermas no Brasil (Romero & Martins 2002), com 69 gêneros e 1.393 espécies aceitas, dos quais 17 gêneros e 912 espécies são endêmicos (Baumgratz *et al.* 2015). As espécies ocorrem em todas as regiões do país, desde a Amazônia até o Rio Grande do Sul e nos domínios fitogeográficos Amazônia, Caatinga, Cerrado, Mata Atlântica, Pampa e Pantanal (Romero & Martins 2002; Baumgratz *et al.* 2015). Essa grande diversidade e a ampla distribuição de espécies tem facilitado o estudo da família, porém muitas pesquisas ainda podem ser desenvolvidas em vista da enorme diversidade florística de Melastomataceae (Goldenberg *et al.* 2012).

Os representantes de Melastomataceae apresentam grande diversidade de hábitos, desde herbáceos e epífiticos até arbustivos e arbóreos (Romero & Martins 2002; Baumgratz *et al.* 2015). As folhas são opostas, pecioladas e pilosas, sendo a característica mais distintiva a presença de nervuras acródromas ligadas entre si por nervuras secundárias transversais (Reis *et al.* 2004). As flores, em geral, são actinomorfas, dialipétalas, com hipanto desenvolvido, possuindo frequentemente estames falciformes, geralmente dispostos em dois ciclos de cores e formas diferentes, com anteras de deiscência poricida (Baumgratz & Silva 1988; Renner 1989; Romero & Martins 2002; Santos *et al.* 2009). Os frutos são do tipo cápsula ou baga, muitas vezes com numerosas sementes (Clausing *et al.* 2000; Santos *et al.* 2009).

O sistema reprodutivo predominante na família é a xenogamia, ou polinização cruzada, a qual é favorecida pela hercogamia, ou seja, pela separação espacial entre o estigma e as anteras, bem como pela necessidade de manipulação das anteras por parte de agentes polinizadores com a finalidade de liberar o pólen (Renner 1989; Goldenberg & Varassin 2001). Porém, também são reportadas espécies autocompatíveis e apomíticas em Melastomataceae (Baumgratz & Silva 1988; Goldenberg & Varassin 2001; Caetano & Cortez 2014).

Algumas espécies apresentam a produção de néctar, o que permite uma variedade maior de polinizadores, porém esse recurso geralmente é raro em Melastomataceae. Na família, a principal recompensa oferecida é o pólen, por isso, os principais agentes

polinizadores são abelhas com a capacidade de vibrar as anteras e extrair o pólen através de seus poros, processo conhecido como “buzz-pollination”, ou polinização vibrátil (Vogel 1978; Buchmann 1983; Renner 1989; Goldenberg & Varassin 2001; Santos *et al.* 2010). Esse sistema é chamado “buzz-pollination” devido ao componente audível de extrair o pólen das anteras por meio de vibrações e essa habilidade é encontrada principalmente em sete famílias de abelhas e em mais de 50 gêneros (Buchmann 1983; De Luca & Valejo-Marín 2013).

O processo de polinização vibrátil ocorre em cerca de 65 famílias de Angiospermas, mas está intimamente associado com a reprodução em Melastomataceae devido ao arranjo do androceu com grande diferenciação morfológica em dois conjuntos de estames, anteras com deiscência poricida e conectivo prolongado (Buchmann & Hurley 1978; Renner 1989; Santos *et al.* 2009; De Luca & Valejo-Marín 2013). Nesta família, a polinização por abelhas foi reportada em centenas de espécies, e o pólen oferecido é um importante recurso para as abelhas neotropicais (Renner 1989). A perda de pólen pode ser significativa em famílias como Melastomataceae, que geralmente oferecem um único recurso aos polinizadores. Por isso, em algumas destas plantas surgiu e foi selecionado um mecanismo para evitar a perda excessiva de pólen, de forma que a reprodução seja minimamente prejudicada. Este mecanismo é a heteranteria, definida como a presença de mais de um tipo de estame na mesma flor, o que permite uma especialização nas funções de alimentação e polinização, surgindo o modelo de divisão de trabalho entre as anteras (Luo *et al.* 2008; Valejo-Marín *et al.* 2009). Em função de sua importância no contexto da biologia da polinização, esse modelo merece ser mais amplamente investigado, e será o objetivo geral dessa dissertação.

II. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Barônio, G.J.; Maciel, A.A; Oliveira, A.C.; Kobal, R.O.A.C; Meireles, D.A.L.; Brito, V.L.G.; Rech, A.R. 2016. Plantas, polinizadores e algumas articulações da biologia da polinização com a teoria ecológica. *Rodriguésia* 67(2): 1–19.
- Baumgratz, J.F.A.; Silva, N.M.F. 1986/88. Ecologia da polinização e biologia da reprodução de *Miconia stenostachya* DC. (Melastomataceae). *Rodriguésia* 38/40(64/66): 11–23.
- Baumgratz, J.F.A.; Caddah, M.K.; Chiavegatto, B.; Goldenberg, R.; Guimarães, P.J.F.; Koschnitzke, C.; Kriebel, R.; Lima, L.F.G.; Martins, A.B.; Michelangeli, F.A.; Reginato, M.; Rocha, M.J.R.; Rodrigues, K.F.; Romero, R.; Rosa, P.; Silva-Gonçalves, K.C.; Souza, M.L.D.R.; Woodgyer, E. 2015. Melastomataceae. In: *Lista de Espécies da Flora do Brasil*. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB161>>. Acesso em: 09/02/2017.
- Beck, C.B. 2010. An Overview of Plant Structure and Development. In: Beck, C.B. (ed.) *An Introduction to Plant Structure and Development: Plant Anatomy for the Twenty-First Century*, 2^a ed. Cambridge University Press. Pp. 8–36.
- Brito, V.; Telles, F.; Lunau, K. 2014. Ecologia Cognitiva Da Polinização. In: Rech, A. R.; Agostini, K.; Oliveira, P. E.; Machado, I. C. (eds.) *Biologia da Polinização*. Rio de Janeiro: Projeto Cultural. Pp. 417–438.
- Bronstein, J.L. 1994. Our current understanding of mutualism. *The Quarterly Review of Biology* 69: 31–51.
- Bronstein, J.L.; Alarcón, R.; Gebe, M. 2006. The evolution of plant–insect mutualisms. *New Phytologist* 172: 412–428.
- Buchmann, S.L.; Hurley, J.P. 1978. A Biophysical Model for Buzz Pollination in Angiosperms. *Journal of Theoretical Biology* 72: 639–657.
- Buchmann, S.L. 1983. Buzz pollination in Angiosperms. In: Jones, C.E.; Little, R.J. (eds.) *Handbook of Experimental Pollination Biology*. Van Nostrand Reinhold, New York. Pp. 73–113.

Caetano, A.P.S.; Cortez, P.A. 2014. Reprodução assexuada. In: Rech, A. R.; Agostini, K.; Oliveira, P. E.; Machado, I. C. (eds.) Biologia da Polinização. Rio de Janeiro: Projeto Cultural. Pp. 93–112.

Carvalho, M.L.S.; Nakamura, A.T.; Sajo, M.G. 2009. Floral anatomy of Neotropical species of Mayacaceae. Flora 204(3): 220–227.

Chittka, L.; Menzel, R. 1992. The evolutionary adaptation of flower colours and the insect pollinators colour vision. Publisher Springer-Verlag 171(2): 171–181.

Clausing, G.; Meyer, K.; Renner, S.S. 2000. Correlations among hit traits and evolution of different hits within Melastomataceae. Botanical Journal of the Linnean Society 133: 303–326.

Dátillo, W.; Marques, E.C.; Falcão, J.C.F.; Moreira, D.D.O. 2009. Interações mutualísticas entre formigas e plantas. Entomo Brasilis 2: 32–36.

De Luca, P.A.; Vallejo-Marín, M. 2013. What's the ‘buzz’ about? The ecology and evolutionary significance of buzz-pollination Current Opinion. Plant Biology 16(4): 429–435.

Del-Claro, K.; Stefani, V.; Lange, D.; Vilela, A.A.; Nahas, L.; Velasques, M.; Torezan-Silingardi, H.M. 2013. The Importance of Natural History Studies for A Better Comprehension of Animal-Plant Interaction Networks. Bioscience Journal 29(2): 439–448.

Dickison, W.C. 2000. Evolution and Systematics In: Dickison, W.C. (ed.) Integrative Plant Anatomy. Academic Press, USA. Pp. 205–236.

Evert, R.F. 2006. Esau’s Plant Anatomy: Meristems, Cells and Tissues of the Plant Body: Their Structure, Function and Development. 3^a ed. John Wiley & Sons Inc., Hoboken, New Jersey. 521 p.

Goldenberg R.; Varassin, I.G. 2001. Sistemas reprodutivos de espécies de Melastomataceae da Serra do Japi, Jundiaí, São Paulo, Brasil. Revista Brasileira de Botânica 24(3): 283–288.

Goldenberg, R.; Baumgratz, J.F.A.; Souza, M.L.D.R. 2012. Taxonomia de Melastomataceae no Brasil: retrospectiva, perspectivas e chave de identificação para os gêneros. Rodriguésia 63(1): 145–161.

Goldenberg, R.; Almeda, F.; Sosa, K.; Ribeiro, R.C.; Michelangeli, F.A. 2015. *Rupestrea*: A New Brazilian Genus of Melastomataceae, with Anomalous Seeds and Dry Indehiscent Fruits. *Systematic Botany* 40(2): 561–571.

Gönüz, A.; Özörgüçü, B. 1999. An Investigation on the Morphology, Anatomy and Ecology of *Origanum onites* L. *Turkish Journal of Botany* p. 19–32.

Land, M.F.; Nilsson, D.E. 2002. Light and vision. In: Land, M.F.; Nilsson, D.E. (eds.) *Animal Eyes*. Oxford, Oxford University Press. Pp. 16–32.

Luo, Z.; Zhang, D.; Renner, S.S. 2008. Why two kinds of stamens in buzz-pollinated flowers? Experimental support for Darwin's division-of-labour hypothesis. *Functional Ecology* 22: 794–800.

Ollerton J, Winfree R, Tarrant S. 2011. How many flowering plants are pollinated by animals? *Oikos* 120:321–326.

Rech, A.R.; Brito, V.L.G. 2012. Mutualismos extremos de polinização: História natural e tendências evolutivas. *Oecologia Australis* 16(2): 297–310.

Rech, A.R.; Dalsgaard, B.; Sandel, B.; Sonne, J.; Svenning, J-C., Holmes; N.; Ollerton, J. 2016. The macroecology of animal versus wind pollination: ecological factors are more important than historical climate stability. *Plant Ecology & Diversity* 9(3): 253–262.

Reis, C.; Proença, S.L.; Sajo, M.G. 2004. Vascularização foliar e anatomia do pecíolo de Melastomataceae do cerrado do Estado de São Paulo, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 18(4): 987–999.

Renner, S.S. 1989. A survey of reproductive biology in Neotropical Melastomataceae and Memecylaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 76:496–518.

Romero, R.; Martins, A.B. 2002. Melastomataceae do Parque Nacional da Serra da Canastra, Minas Gerais, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 25(1):19–24.

Santos, A.K.A.; Martins, A. B.; Romero, R.; Santos, A. P. M.; Almeda, F Bernardo, K. F. R.; Koschnitzke, C.; Goldenberg, R.; Reginato, M.; Lee, R. C. S.; William Antonio Rodrigues, W. A. 2009. Melastomataceae. In: Giulietti, A.M. Giulietti, A.M.; Rapini, A.; Andrade, M. J.

G.; Queiroz, L. P.; Silva, J. M. C. (eds.) Plantas raras do Brasil. Belo Horizonte, MG. Conservação Internacional, Universidade Estadual de Feira de Santana. Pp. 263–279.

Santos, A.P.M.; Romero, R.; Oliveira, P.E.A.M. 2010. Biologia reprodutiva de *Miconia angelana* (Melastomataceae), endêmica da Serra da Canastra, Minas Gerais. Revista Brasileira de Botânica 33(2): 333–341.

Snyder, A.W. 1979. Physics of Vision in Compound Eyes. In: Handbook of Sensory Physiology. H. Autrum R. lung W.R. Loewenstein D. M. MacKay H.L. Teuber (eds.) Vol. 6A. Springer-Verlag Berlin Heidelberg New York. Pp. 227–309.

Somavilla, N.S. & Ribeiro, D.C. 2011. Análise comparativa da anatomia foliar de Melastomataceae em ambiente de vereda e cerrado sensu stricto. Acta Botanica Brasilica 25(4): 764–775.

Vallejo-Marín, M.; Manson, J.S.; Thomson, J.D.; Barrett, S.C.H. 2009. Division of labour within flowers: heteranthery, a floral strategy to reconcile contrasting pollen fates. Journal of Evolutionary Biology 22: 828–839.

Varassin, I.G.; Amaral-Neto, L.P. 2014. Atrativos. In: Rech, A. R.; Agostini, K.; Oliveira, P. E.; Machado, I. C. (eds.) Biologia da Polinização. Rio de Janeiro: Projeto Cultural. Pp. 151–168.

Vogel, S. 1978. Evolutionary shifts from reward to deception in pollen flowers. In: Richards, A.J. et al. (eds.) The Pollination of Flowers by Insects. Academic Press, London. Pp. 89–96.

Waser, N.M.; Chittka, L.; Price, M.V.; Willians, N.M.; Ollerton, J. 1996. Generalization in pollination systems, and why it matters. Ecology 77(4): 1043–1060.

Willmer, P. 2011. Advertisements I: Visual signals and floral color. In: Willmer, P. (ed.) Pollination and Flower Ecology. New Jersey, Princeton University Press. Pp. 105–133.

**Divisão de trabalho em anteras de *Microlicia cordata* (Spreng.) Cham.
(Melastomataceae)**

Mariana de Souza Carvalho Velloso¹, Ana Paula Souza Caetano², Vinícius Lourenço
Garcia de Brito³ & Rosana Romero³

¹ Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia, Rua Ceará s.n., 38400–902, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

² Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia, Rua Ceará s.n., 38400–902, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

³ Instituto de Biologia, Universidade Federal de Uberlândia, Rua Ceará s.n., 38400–902, Uberlândia, Minas Gerais, Brasil.

RESUMO

Microlicia destaca-se dentre as Melastomataceae por apresentar heteranteria bem pronunciada, característica que costuma ser associada como solução ao “dilema de pólen”. Visto que o pólen é o único recurso oferecido nessas espécies, sua utilização na alimentação dos polinizadores diminui o número de gametas viáveis para a reprodução. Sendo assim, haveria uma divisão de trabalho em plantas com heteranteria, na qual as anteras teriam funções diferentes, um conjunto serviria para alimentação das abelhas e outro conjunto atuaria na polinização. *Microlicia cordata*, espécie abundante na área de estudo, possui dois ciclos de estames, o ciclo antessépalo (polinização) com anteras magenta e o ciclo antepétalo (alimentação) com anteras amarelas. Neste estudo, o modelo de divisão de trabalho entre as anteras foi analisado utilizando-se diferentes parâmetros envolvendo anatomia e morfologia das anteras e dos grãos de pólen, quantidade e viabilidade dos grãos de pólen bem como coloração das estruturas florais. Verificou-se que as anteras dos estames de polinização são maiores que as anteras dos estames de alimentação, embora sejam similares anatomicamente. Existe diferença na quantidade de grãos de pólen produzidos nas anteras dos diferentes ciclos, porém não há diferença na viabilidade. Grãos de pólen com pouco ou nenhum conteúdo citoplasmático foram observados nas anteras de ambos os ciclos. A análise de cores mostrou que anteras dos estames de polinização têm coloração menos contrastante com a corola, sendo provavelmente menos atrativas aos visitantes. Porém, as anteras dos estames de alimentação e o apêndice ventral do conectivo dos estames de polinização têm maior contraste em relação à corola, o que permite concluir que refletem a mesma cor aos polinizadores. Esses resultados apoiam o modelo de divisão de trabalho entre anteras, particularmente no que se refere à quantidade de grãos de pólen disponíveis e à coloração das peças florais.

PALAVRAS-CHAVE: Dilema do pólen, heteranteria, polinização vibrátil.

ABSTRACT

Microlicia stands out among the Melastomataceae because it presents well pronounced heterantery, characteristic that is usually associated as a solution to the "pollen dilemma". Since pollen is the only resource offered in these species, its use in feeding pollinators decreases the number of viable gametes for reproduction. Thus, there would be a division of labor in plants with heterantery, in which the anthers would have different functions, one would be used to feed the bees and another would act in the pollination. *Microlicia cordata*, an abundant species in the study area, has two cycles of stamens, the antesepalous cycle (pollination) with magenta anthers and the antepetalous cycle (feeding) with yellow anthers. In this study, the division of labor between the anthers was analyzed using different parameters involving the anatomy and morphology of anthers and pollen grains, quantity and viability of pollen grains as well as coloring of floral structures. It has been found that the anthers of the pollination stamens are larger than the anthers of the feeding stamens, although they are similar anatomically. There is a difference in the amount of pollen grains produced in the anthers of the different cycles, but there is no difference in viability. Pollen grains with little or no cytoplasmic content were observed in the anthers of both cycles. Color analysis showed that anthers of pollination stamens have less contrasting color to the corolla, and are probably less attractive to visitors. However, the anthers of the feeding stamens and the ventral appendage of the connective of the pollinating stamens have greater contrast with the corolla, which allows to conclude that they reflect the same color to the pollinators. These results support the model of division of labor between anthers, particularly related to the quantity of pollen grains available and the coloring of floral pieces.

KEYWORDS: Pollen dilemma, heterantery, vibrating pollination.

INTRODUÇÃO

Plantas e polinizadores tem um longo histórico de interação, numa relação reconhecida como mutualismo (Bronstein 1994; Rech & Brito 2012). De modo geral, o mutualismo envolve relações de exploração recíproca que provem vantagens a ambas espécies interagentes (Herre *et al.* 1999). Em especial, a relação planta-polinizador pode ocorrer em função da preferência dos polinizadores por determinado recurso floral, que pode ser nutritivo, como é o caso do pólen, néctar, óleos e tecidos florais (em geral as pétalas), ou um recurso floral não nutritivo, como as resinas, ceras, odores florais e abrigos (Agostini *et al.* 2014; Barônio *et al.* 2016).

Entre as Angiospermas, mais de 20.000 espécies apresentam apenas o pólen como recompensa para seus polinizadores, nas chamadas flores de pólen (Vogel 1978; Luo *et al.* 2009). A maioria dessas plantas é polinizada por abelhas, que dependem exclusivamente deste recurso para alimentar suas larvas (Buchmann 1983). Dessa forma, nestas espécies, os grãos de pólen atuam não só no transporte dos gametas masculinos, mas também são consumidos pelos polinizadores em troca de seus serviços de polinização (Vallejo-Marín *et al.* 2009). Entretanto, se o pólen utilizado para alimentação reduzir o número de gametas viáveis para a reprodução, isto poderia gerar um conflito evolutivo, conhecido como “dilema de pólen” (Luo *et al.* 2009; Lunau *et al.* 2014; Barônio *et al.* 2016).

Nesse sentido, a heteranteria (produção de dois ou mais tipos de estames na mesma flor) poderia ajudar a reduzir este conflito por permitir uma especialização de cada tipo de estame com funções diferentes e específicas no processo de polinização (Luo *et al.* 2008; Vallejo-Marín *et al.* 2009). Usualmente, estes estames diferem quanto à forma, posição, tamanho e/ou cor, sendo mais comum a presença de dois tipos de estames diferentes na mesma flor (Buchmann 1983; Luo *et al.* 2009; Vallejo-Marín *et al.* 2009). O fenômeno da heteranteria foi descrito há mais de 100 anos, quando Darwin (1862) sugeriu que haveria uma divisão de trabalho, na qual um conjunto de estames serviria para alimentação, e o outro conjunto atuaria no processo de polinização (Darwin 1899; Muller 1881, 1883a; Luo *et al.* 2008; Vallejo-Marín *et al.* 2009).

Em Melastomataceae a heteranteria é uma característica comum, a qual tem sido frequentemente interpretada como uma solução para o “dilema de pólen” (Jesson & Barret 2003; Luo *et al.* 2008). A família, embora notoriamente diversa, com mais de 5.400 espécies

(Goldenberg *et al.* 2015), apresenta tipicamente anteras falciformes com deiscência poricida (Renner 1989; Santos *et al.* 2009). Tais características tornam o grão de pólen disponível apenas para determinadas abelhas, sendo este, geralmente, a única recompensa oferecida (Renner 1989). Desta forma, a história evolutiva da família está estritamente associada a um sistema de polinização conhecido como “buzz pollination” ou polinização vibrátil (Buchmann 1983; Renner 1989), no qual as abelhas pousam diretamente sobre os estames, agarrando-os firmemente com suas pernas, e depois produzem vibrações de alta frequência que expulsam os grãos de pólen pelos poros das anteras (Luo *et al.* 2008; De Luca *et al.* 2013).

Em geral, nas espécies de Melastomataceae já investigadas, o androceu é composto de dois conjuntos de estames, sendo um conjunto de estames menores e mais conspícuos (antepétalos), com localização acessível na flor, e muito atraente para os visitantes (Vallejo-Marín *et al.* 2009). Tais estames menores são comumente chamados de “estames de alimentação” (Luo *et al.* 2009). Por outro lado, os demais estames são maiores (antessépalos), têm uma coloração mais discreta ou similar à da corola e uma localização correspondente à posição do estigma, possibilitando que o pólen se deposte em lugares estratégicos no corpo da abelha, que não são facilmente alcançados durante o comportamento de limpeza (Jesson & Barret 2003; Vallejo-Marín *et al.* 2009). Esses estames maiores são usualmente chamados de “estames de polinização” (Luo *et al.* 2009).

Dentre as Melastomataceae, *Microlicieae* destaca-se como uma das tribos mais diversas para o Brasil, sendo *Microlicia* D. Don o gênero com maior número de espécies dentro da tribo (Romero 2003). O gênero é nativo, com cerca de 128 espécies registradas para o Brasil, ocorrendo em praticamente todas as regiões do país (Romero & Woodgyer 2015). Um número expressivo de espécies ocorre nas diferentes fitofisionomias do Cerrado, principalmente nos campos rupestres (Romero 2003; Romero & Woodgyer 2015) e campos úmidos associados a veredas (Araújo *et al.* 2002). As espécies de *Microlicia* caracterizam-se, principalmente, por apresentar dois ciclos de estames de tamanhos e formas diferentes (Romero 2003), evidenciando assim a ampla ocorrência de heteranteria no grupo.

Neste contexto, as análises anatômicas são fundamentais para analisar a estrutura dos diferentes tipos de estame bem como dos grãos de pólen provenientes de cada antera, visto que a divisão de trabalho pode interferir em processos reprodutivos importantes, tais como a dinâmica de liberação dos grãos de pólen, sua viabilidade e seu conteúdo (Luo *et al.* 2008; Leite 2016). Além disso, a divisão de trabalho também está relacionada aos padrões de

coloração das peças florais (especialmente corola e estames) que interagem com a visão em cores dos polinizadores (Brito *et al.* 2015; Ferreira & Araújo 2016). As flores, em geral, são vivamente coloridas e atrativas aos polinizadores, muitos dos quais são conhecidos por possuir visão em cores, como é o caso das abelhas. Estes insetos têm visão tricromática, o que é ideal para a identificação da cor das peças florais, também esses animais podem ser treinados com uma grande variedade de estímulos coloridos (Chittka & Menzel 1992; Waser *et al.* 1996; Land & Nilsson 2002). Ademais, é comum em Angiospermas, a existência de partes florais com características semelhantes ao grão de pólen, chamadas de estruturas mímicas (de imitação), como é o caso da coloração amarela UV-absorvente de algumas partes florais, que atraem os agentes polinizadores. Assim, o mimetismo floral é um processo dinâmico que envolve a capacidade de sinalização das plantas e a percepção dos polinizadores (Roy & Widmer 1999; Lunau 2006; Barônio *et al.* 2016).

Portanto, as espécies de *Microlicia* são um bom modelo para testar o modelo de divisão de trabalho entre as anteras, especialmente devido às características de seu androceu. Assim, o presente estudo teve por objetivo analisar o modelo de divisão de trabalho em Melastomataceae, comparando dados morfológicos e anatômicos entre anteras dos estames de polinização e anteras dos estames de alimentação em uma espécie da família abundante na área de estudo. Deste modo, foram consideradas questões tais como: 1) Existem diferenças morfológicas e anatômicas entre as anteras dos dois ciclos? 2) Anteras dos estames de polinização possuem mais grãos de pólen que as anteras dos estames de alimentação? 3) Há diferença na anatomia, no conteúdo e na viabilidade dos grãos de pólen entre as anteras dos dois ciclos? 4) As anteras dos estames de polinização apresentam coloração similar à da corola? 5) Anteras dos estames de alimentação e apêndice ventral do conectivo dos estames de polinização apresentam a mesma coloração? 6) O apêndice ventral do conectivo dos estames de polinização atua como mímico sinalizando recurso sem oferecê-lo?

MATERIAIS E MÉTODOS

Área de estudo

O presente estudo foi desenvolvido na Reserva particular do Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia (CCPIU), Minas Gerais, ($18^{\circ}59'S$, $48^{\circ}18'W$), que devido ao seu bom

estado de conservação e grande biodiversidade, foi considerada pelo IBAMA como Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) (Bacci *et al.* 2016). A Reserva apresenta uma área de 640 hectares de dimensão margeando o rio Uberabinha (Bacci *et al.* 2016). O clima da região é do tipo Aw, com estações seca e chuvosa bem definidas (Goodland 1979). A topografia da região estudada é suave, o solo é ácido (latossolo), distrófico, profundo, drenado, permeável e arenoso, sendo em sua maior parte formado por arenito e argila (Schiavini & Araújo 1989).

A área da Reserva abrange vegetação de cerrado (*stricto sensu*), campo sujo e vereda (Appolinario & Schiavini 2002) e representa um dos últimos fragmentos expressivos de vegetação do Cerrado, próximo à área urbana do município (Malaco *et al.* 2013). São observados vários indivíduos de *Microlicia cordata* (Spreng.) Cham., ocorrendo próximo à vegetação de vereda (Figura 1), que é alagada e onde se encontram grandes buritis e diversas espécies herbáceas (Bacci *et al.* 2016). A coleta de dados ocorreu entre abril de 2015 e dezembro de 2016.

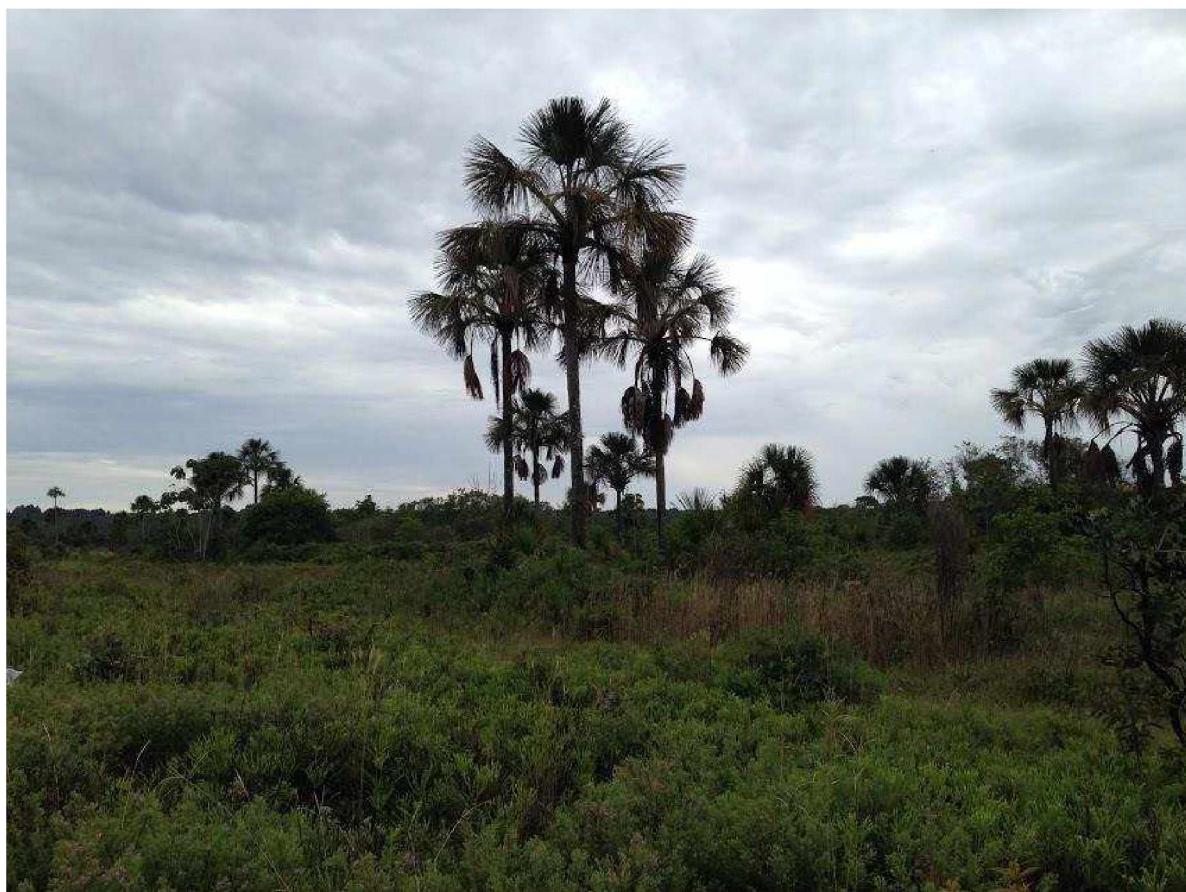


Figura 1. Vereda da Reserva do Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia (CCPIU), com população de *Microlicia cordata* (à frente).

Espécie de estudo

Microlicia cordata (Spreng.) Cham. é um subarbusto de 40–90 cm de altura, bastante ramificado, recoberto por indumento constituído de tricomas hirsutos e glandulares sésseis, com folhas sésseis medindo 8–13 × 5–9 mm. As flores são hermafroditas, solitárias, pentâmeras, pediceladas, com pedicelos de 1–3 mm comprimento; a corola é rósea ou arroxeadas; pétalas com 4,5–6 × 2–2,5 mm; de margem inteira e glabra; com 10 estames dimórficos dispostos nos ciclos antessépalo e antepétalo. O conectivo apresenta-se prolongado abaixo das tecas; as anteras são ovoide-oblongas com um ápice levemente rostrado (Cogniaux 1883; Romero 2003; Bacci *et al.* 2016). O voucher da espécie analisada encontra-se depositado no *Herbarium Uberlandense* sob o número de registro HUFU 6356. Esta espécie geralmente é visitada por abelhas do gênero *Centris* (Brito & Velloso, observação pessoal).

Morfologia e anatomia dos estames e dos grãos de pólen

Foram coletadas e fotografadas 15 flores recém-abertas, provenientes de 15 indivíduos. Os dois ciclos de estames foram removidos de cada indivíduo, os quais foram numerados e fotografados a fim de tirar as medidas do tamanho das anteras, filetes, prolongamentos do conectivo (pedoconectivos) e apêndice ventral do conectivo de ambos os ciclos, com auxílio do software Image J. Este software foi utilizado, ao invés de se utilizar o paquímetro, visando obter maior exatidão das medidas, tendo em vista que as estruturas analisadas são milimétricas. Então, a partir das fotos digitais, foram obtidas as medidas das estruturas, e foi realizada uma análise de variância (ANOVA) considerando o tamanho como resposta e antera do estame de alimentação, antera do estame de polinização e apêndice ventral do conectivo do estame de polinização como variável independente. Para comparação de tamanho entre as estruturas foi feito um teste *t a posteriori* com correção de Bonferroni.

Para análise da anatomia e do conteúdo dos grãos de pólen, botões florais, pouco antes da abertura da flor, e flores recém-abertas de cinco indivíduos de *M. cordata* foram coletados e fixados por 24 h em solução de glutaraldeído 2% e formaldeído 4% em tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 6,8 (modificado de McDowell & Trump 1976). As amostras foram lavadas em tampão fosfato de sódio 0,1M, pH 6,8, desidratadas em série etanólica e estocadas em etanol 70% (v/v). Posteriormente, as anteras dos dois ciclos de estames foram removidas, desidratadas em série etanólica e incluídas em resina plástica (Gerrits & Smid 1983). O

material foi seccionado longitudinal e transversalmente a 2 µm de espessura em micrótomo rotativo manual equipado com navalha descartável de tungstênio; os cortes obtidos foram aderidos a lâminas de vidro e corados em azul de toluidina 0,05% (O'brien *et al.* 1964; Feder & O'Brien 1968) ou submetidos à testes histoquímicos para determinar a natureza das substâncias armazenadas nos grãos de pólen. Para detecção de amido foi utilizado o reagente de Lugol (Johansen 1940), para polissacarídeos neutros o reagente PAS (Feder & O'Brien 1968), e por fim, os reagentes sudan IV e sudan black (Pearse 1980) foram utilizados para detecção de lipídios totais. Observações e imagens foram realizadas em microscópio Olympus BX51 acoplado à câmera digital DP70. Todas as análises foram realizadas no Laboratório de Morfologia Vegetal e Imagens (Lamovi), da Universidade Federal de Uberlândia (UFU).

Quantidade e estimativa de viabilidade dos grãos de pólen

A quantidade de grãos e a estimativa de viabilidade polínica foram estimadas para 90 botões florais em pré-antese coletados de 30 indivíduos selecionados para este estudo. Os botões florais foram fixados e armazenados em FAA 50% (formaldeído, ácido acético glacial, etanol 50%; 5:5:90, v/v) (Johansen 1940). As anteras dos dois ciclos de estames foram dissecadas separadamente em 100 µl de carmim acético para a extração dos grãos de pólen. A seguir, 10 µl de cada amostra foram transferidos para a câmara de Neubauer (Dafni *et al.* 2005), que é dividida em quatro quadrantes. Com auxílio do microscópio óptico Olympus BX51, o número de grãos de pólen presentes em cada quadrante foi quantificado. A viabilidade polínica foi então estimada por meio da coloração do citoplasma com carmim acético 1,2%, e os grãos quantificados em cada quadrante foram considerados viáveis ou não com base na presença ou ausência de coloração do citoplasma, respectivamente (Radford *et al.* 1974).

Para a comparação da quantidade total de grãos de pólen em cada ciclo de anteras foi usado um modelo linear misto generalizado considerando uma distribuição de Poisson, o tipo de antera (antera do estame de alimentação ou antera do estame de polinização) foi considerado como fator fixo, e o indivíduo e o quadrante da câmara de Neubauer foram considerados fatores aleatórios. Em relação à estimativa de viabilidade dos grãos de pólen em cada conjunto de anteras foi utilizado um modelo linear misto considerando como fator fixo o

tipo de antera (antera do estame de alimentação ou antera do estame de polinização) e como fatores aleatórios o indivíduo e o quadrante da câmera de Neubauer.

Coloração das peças florais

Foram coletadas as curvas de reflectância das peças florais (corola, anteras dos estames de polinização, anteras dos estames de alimentação e apêndice ventral do conectivo dos estames de polinização) de 90 flores em antese de 30 indivíduos da população de *M. cordata* (sendo três flores por indivíduo) utilizando-se espectrofotômetro USB JAZ (Ocean Optics, Inc.). Para a calibração do equipamento, utilizou-se um branco padrão (Ocean Optics, Inc.) e a ausência de luz como preto. Posteriormente, foi usado um modelo de espaço de cor que leva em consideração a capacidade visual em cores de abelhas para estimar a capacidade de discriminação das cores dos estames e da corola pelos polinizadores (Chittka & Menzel 1992; Lunau *et al.* 2011).

O modelo de espaço de cor utilizado foi o hexágono de cores (Chittka 1992). Para a construção do modelo utilizou-se, além das curvas de reflectância, um padrão de folhas verdes como background e um padrão de iluminação de luz do dia (D65, Wyszecki & Stiles 1982). Também foram utilizadas as curvas de sensibilidade espectral dos três fotorreceptores (UV, azul e verde) de *Apis mellifera*, pois esta espécie está posicionada filogeneticamente mais próxima ao gênero *Centris* (Hedtke *et al.* 2013), abelhas que visitam as flores *M. cordata* (Brito & Velloso, observação pessoal).

No hexágono de cores, as cores das estruturas florais são representadas como pontos e ocupam um "locus" e a distância entre eles revela as diferenças entre as cores (Chittka & Kevan 2005). Para saber se os pontos das peças florais ocupam a mesma região do hexágono de cores foi contado o número de pontos representando cada peça floral analisada em cada área do hexágono (azul, azul-UV, UV, UV-verde, verde, azul-verde), e os dados obtidos foram comparados através de um teste Qui-quadrado.

Para testar a sobreposição entre pontos que representam as anteras dos estames de alimentação e o apêndice ventral do conectivo dos estames de polinização no hexágono foi usado um modelo nulo. Neste modelo a identidade dos pontos foi aleatorizada 1000 vezes e a cada aleatorização foi calculada a sobreposição entre os dois conjuntos de pontos. Para testar se a sobreposição real é maior que a esperada pelo acaso foi comparada a sobreposição real

com a distribuição nula das sobreposições aleatórias em um teste unicaudal considerando um intervalo de 95% de confiança. Se existir uma sobreposição significativa entre os pontos das anteras dos estames de alimentação e do apêndice ventral do conectivo dos estames de polinização, poder-se-á afirmar que esta última estrutura atuaria como mímico, apenas aumentando o sinal de atração aos polinizadores, contudo não oferecendo nenhum recurso como recompensa.

Também foram comparados os contrastes cromáticos das anteras do estame de polinização, das anteras do estame de alimentação e dos apêndices ventrais do conectivo dos estames de polinização em relação a pétala. A distância entre cada *loci* foi utilizada como medida de contraste de cor e comparada através de análise de variância (ANOVA), e posteriormente foi aplicado aos dados o teste de Tukey.

Análises estatísticas

Para mais informações a respeito dos testes estatísticos utilizados nesse estudo pode-se consultar a plataforma do programa R (R 2016). Todas as análises descritas foram realizadas no software estatístico R 3.0 disponível para a plataforma Windows.

RESULTADOS

Morfologia e anatomia dos estames e dos grãos de pólen

Microlicia cordata apresenta diferenças na morfologia entre os dois ciclos de estames, especialmente no que se refere ao tamanho e à coloração das peças florais, porém não há diferenças anatômicas entre os estames de ambos os ciclos. Além disso, não há diferenças quanto à morfologia, anatomia e ao conteúdo dos grãos de pólen provenientes das anteras de polinização e de alimentação, porém foram encontradas anormalidades nos grãos de ambos os ciclos.

Esta espécie apresenta androceu com 10 estames dimorfos, organizados em dois ciclos. O ciclo antessépalo (de polinização) é formado pelos cinco estames maiores, com anteras rostradas, púrpuras, com $1,48 \pm 0,04$ mm de comprimento, pedoconectivos com $2,76 \pm 0,18$ mm, lilases, fortemente arqueados, filetes $2,5 \pm 0,12$ mm de comprimento, lilases, e apêndices ventrais do conectivo $1,02 \pm 0,06$ mm, amarelos, levemente bilobados (Figuras 2 e 3). O ciclo antepétalo (de alimentação) contém os cinco estames menores, que apresentam

anteras rostradas, amarelas, com $1,23 \pm 0,03$ mm de comprimento, pedoconectivos $0,79 \pm 0,05$ mm, lilases, filetes $2,59 \pm 0,13$ mm de comprimento, lilases, e apêndices ventrais do conectivo com $0,16 \pm 0,01$ mm comprimento, amarelos (Figuras 2 e 3). Existe diferença significativa de tamanho entre as estruturas (ANOVA: $F=98,4$; $p<0,001$). As anteras de polinização são maiores que as anteras de alimentação ($p<0,001$), e maiores que o apêndice ventral do conectivo dos estames de polinização ($p<0,001$), e as anteras de alimentação são maiores que o apêndice ventral do conectivo dos estames de polinização ($p<0,001$).

As anteras dos dois ciclos de estames são anatomicamente muito semelhantes, sendo bitecas e tetraesporangiadas (Figuras 4A–C e 5A–C). Na antese, as células dos septos interesporangiais se colapsam formando um único saco polínico ou lóculo em cada teca (Figuras 4C e 5C). Nos estágios observados, a parede da antera é formada pela epiderme e pelo endotécio (Figuras 4B–C e 5B–C). Cada antera é irrigada por um único feixe vascular (Figuras 4A–C e 5A–C).

Os grãos são liberados em mônades, no estágio bicelular, formado pelas células vegetativa e generativa (Figuras 4D–E e 5D–E). A célula vegetativa é maior, ocupa grande parte do grão de pólen e apresenta um núcleo mais ou menos centralizado. A célula generativa é consideravelmente menor, marcadamente alongada e localiza-se inteiramente dentro do citoplasma da célula vegetativa. Polissacarídeos e lipídios não foram detectados nos grãos de pólen em nenhum dos estágios analisados de ambos os ciclos.

Contudo, em anteras dos dois ciclos de estames foram detectadas diversas anormalidades nos grãos de pólen. Observaram-se grãos de pólen sem ou com pouco conteúdo citoplasmático (Figuras 4G–H e 5F–G) e grãos contendo duas células sem diferenciação morfológica (Figura 4I). Ainda se observou a presença de estágios juvenis, como micrósporos vacuolados, nas anteras já maduras (Figuras 5H).

Quantidade e estimativa de viabilidade dos grãos de pólen

As anteras dos estames de polinização produzem mais grãos de pólen do que as anteras dos estames de alimentação (Figura 6A; $Z=-23$; $p<0,001$). A média de grãos de pólen por flor da antera do estame de polinização é de 32.830 ± 1.660 enquanto da antera do estame de alimentação é de 17.430 ± 920 . Por outro lado, não existe diferença na estimativa de viabilidade polínica entre as anteras ($Z=1,13$; $p>0,05$), sendo que as anteras dos estames de

polinização possuem $50,89\% \pm 2,80\%$ de grãos viáveis por flor, enquanto que as anteras dos estames de alimentação possuem $53,06\% \pm 2,90\%$ de grãos viáveis (Figura 6B). Ademais, os dados anatômicos obtidos fornecem evidência adicional de que não há diferença na estimativa de viabilidade entre os dois ciclos.

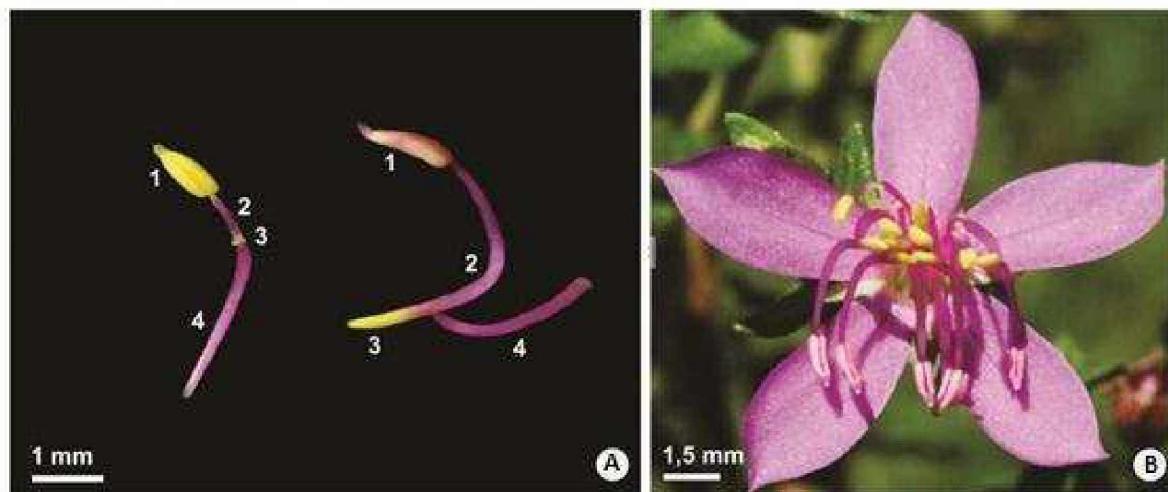


Figura 2. *Microlicia cordata*. A. Detalhe da morfologia dos dois tipos de estames (à esquerda: estame de alimentação; à direita: estame de polinização); B. Flor em vista frontal. (Legenda: 1: antera, 2: pedoconectivo, 3: apêndice ventral do conectivo; 4: filete).

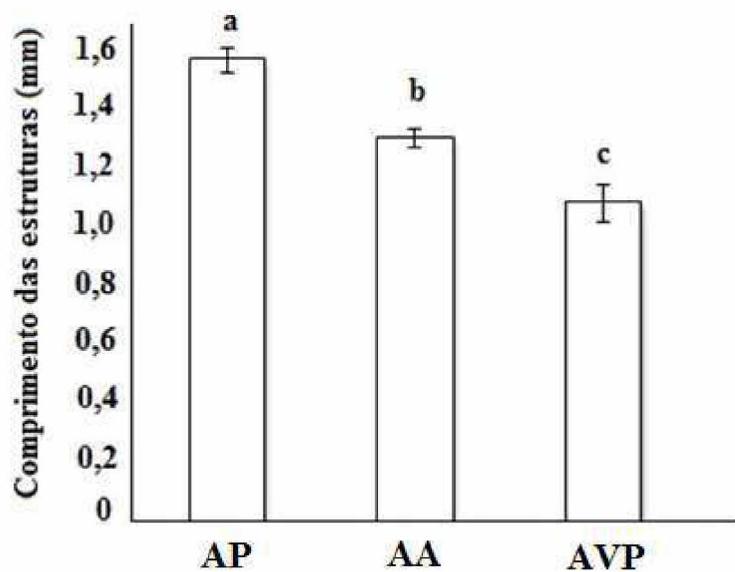


Figura 3. Comprimento das estruturas florais de *Microlicia cordata*. (AP: antera de polinização; AA: antera de alimentação; AVP: apêndice ventral do conectivo do estame de polinização). As letras diferentes indicam que o tamanho das estruturas é diferente pelo teste de Bonferroni a um intervalo de confiança de 95%.

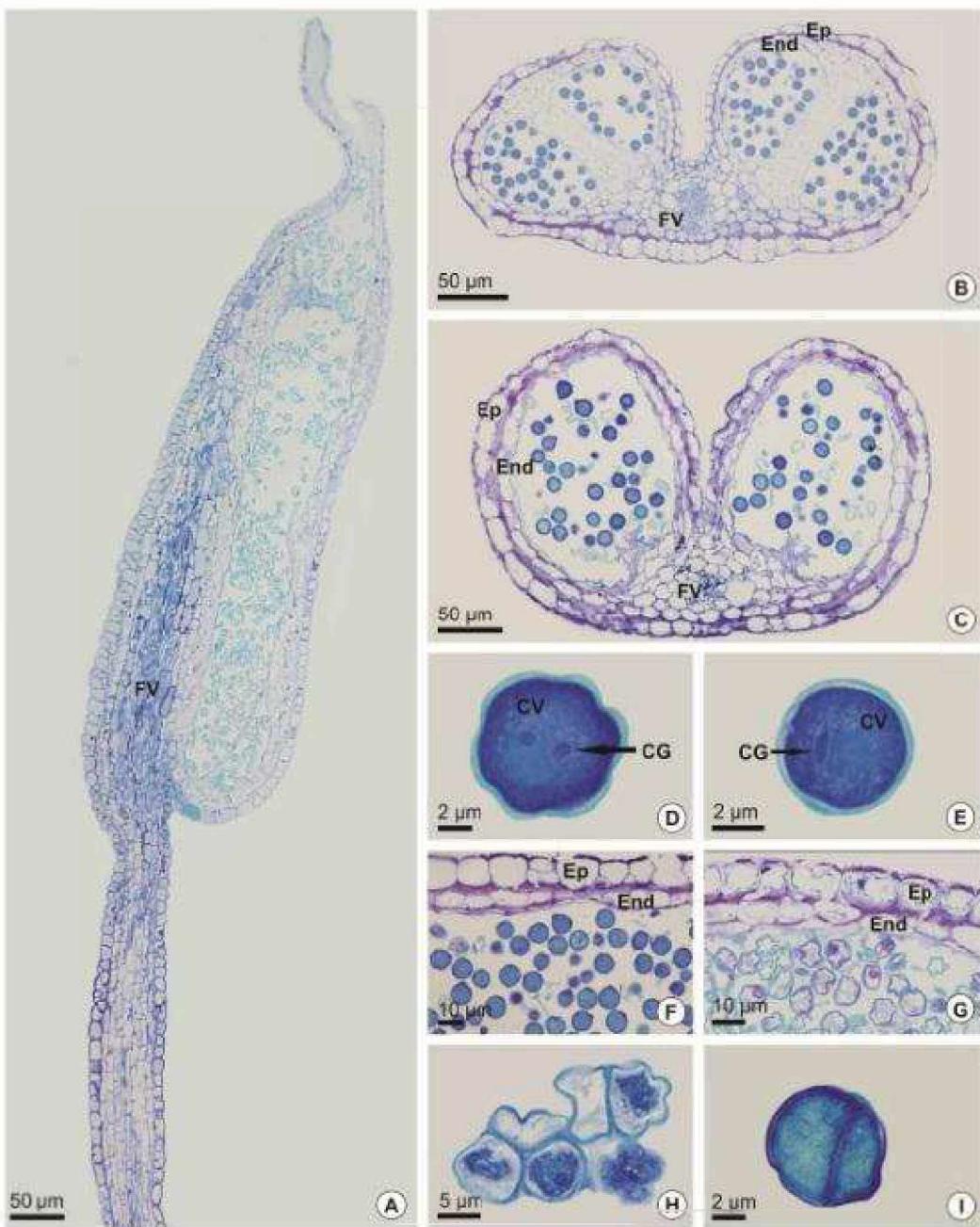


Figura 4. Aspectos anatômicos da antera e dos grãos de pólen do estame de polinização de *Microlicia cordata*. A – Corte longitudinal da antera; B, C – Corte transversal da antera evidenciando os quatro esporângios (B) e a formação de um único esporângio por teca devido à degeneração do septo interesporangial (C); D-E: Detalhes do grão de pólen maduro; F-G. Corte longitudinal da antera madura evidenciando grãos de pólen com conteúdo citoplasmático (F) e sem conteúdo citoplasmático (G); H. Detalhe dos grãos de pólen sem ou com pouco conteúdo citoplasmático; I. Detalhe de um grão com duas células morfologicamente idênticas. (CG – célula generativa; CV – célula vegetativa; End – Endotélio; Ep – Epiderme; FV – Feixe vascular.)

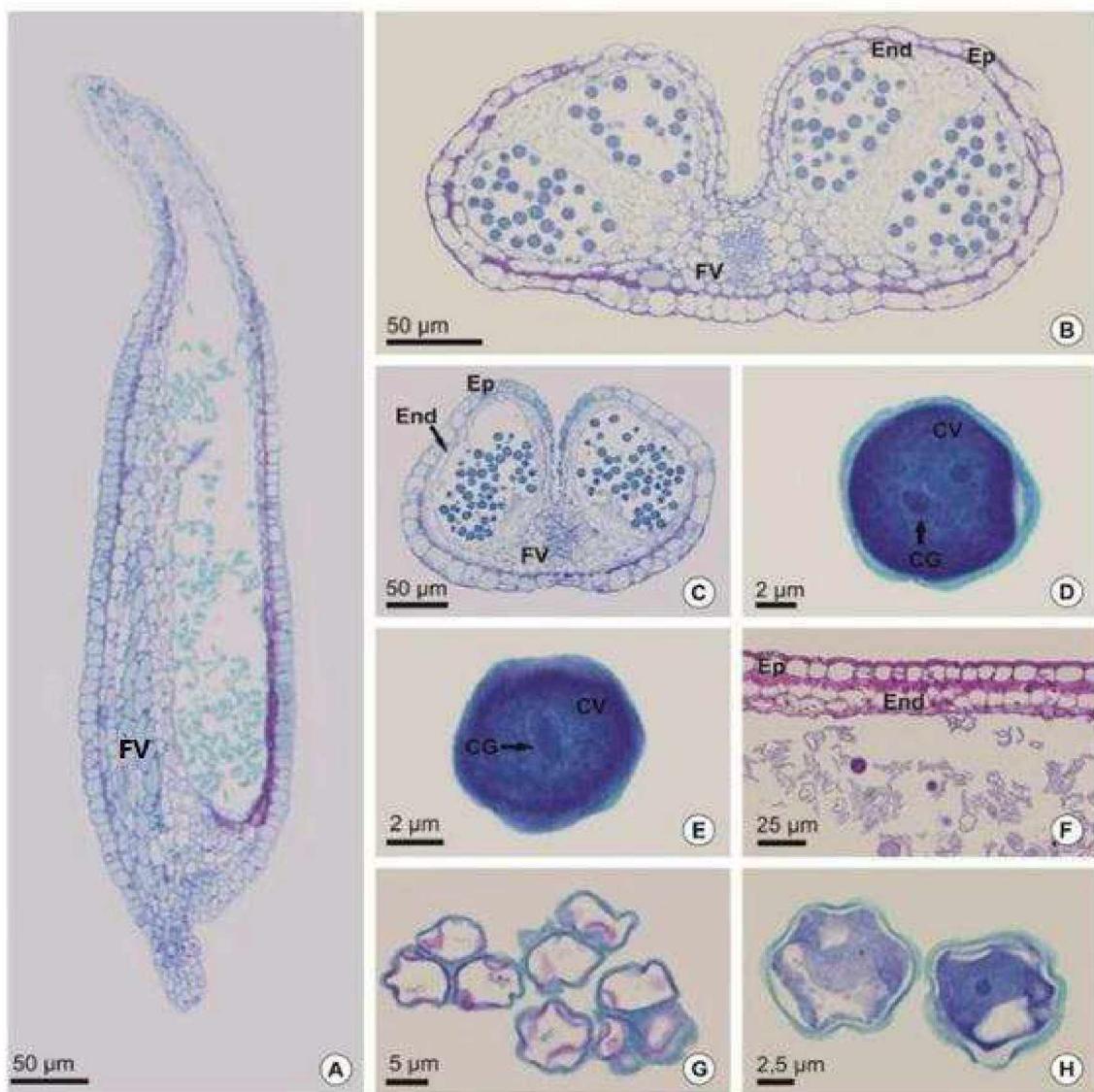


Figura 5. Aspectos anatômicos da antera e dos grãos de pólen do estame de alimentação de *Microlicia cordata*. A – Corte longitudinal da antera; B, C – Corte transversal da antera evidenciando os quatro esporângios (B) e a formação de um único esporângio por teca devido à degeneração do septo interesporangial (C) (seta); D-E: Detalhes do grão de pólen maduro; F: Corte longitudinal da antera madura evidenciando grãos de pólen sem conteúdo citoplasmático; G: Detalhe dos grãos de pólen sem conteúdo citoplasmático; H: Detalhe dos micrósporos vacuolados presentes na antera madura. (CG – célula generativa; CV – célula vegetativa; End – Endotécio; Ep – Epiderme; FV – Feixe vascular.)

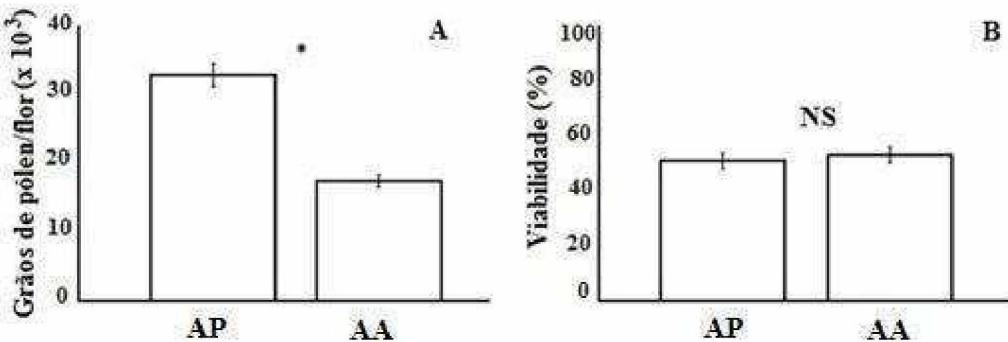


Figura 6. Número de grãos de pólen por flor (A) e estimativa de viabilidade polínica (B) nas anteras de polinização (AP) e anteras de alimentação (AA) de *Microlicia cordata*. (* significativo a um intervalo de 95% de confiança. NS – não significativo).

Coloração das peças florais

Anteras dos estames de polinização apresentaram coloração similar à corola, enquanto que anteras dos estames de alimentação e apêndice ventral do conectivo dos estames de polinização têm coloração semelhante, pois ocupam a mesma região no hexágono de cores. Sendo assim, o apêndice ventral do conectivo dos estames de polinização atua como mímico aumentando o sinal de atração aos polinizadores.

As curvas de reflectância indicaram que pétala e antera dos estames de polinização têm maior reflectância nas faixas do azul e do vermelho (Figuras 7A–B) correspondente à coloração roxa, já antera dos estames de alimentação e apêndice ventral do conectivo dos estames de polinização apresentam maior reflectância a partir dos 500 nm (Figuras 7C–D) que é correspondente à faixa do amarelo e do vermelho.

Existe diferença significativa no número de pontos que ocorre em cada região do hexágono, ou seja, entre os *loci* de cores das peças florais ($\chi^2=17,8$; gl.=6; $p<0,01$). Observou-se que 97% dos pontos de cor da pétala se encontram na região do azul, 80% de pontos de cor das anteras dos estames de polinização ocupam a região azul-verde, enquanto que 99% dos pontos das anteras dos estames de alimentação e 83% dos pontos do apêndice ventral do conectivo dos estames de polinização ocupam o mesmo espaço na região do verde (Figura 8). Além disso, existe uma sobreposição significativa de 95,81% entre os pontos das anteras dos estames de alimentação e do apêndice ventral do conectivo dos estames de polinização no hexágono de cores ($p<0,05$) (Figura 9).

Também houve diferença significativa entre o contraste de cor das peças florais analisadas e as pétalas ($F=25,19$; $gl.= 2$; $p<0,001$). Especificamente, o contraste entre a antera do estame de polinização e a pétala ($0,097 \pm 0,067$) (AP-PE) é menor que o contraste entre a antera do estame de alimentação e a pétala ($0,151 \pm 0,312$) ($t=-2,974$; $gl.=58$; $p<0,01$) (AA-PE), bem como menor que o contraste entre o apêndice ventral do conectivo do estame de polinização e a pétala ($0,197 \pm 0,311$) ($t=-6,069$; $gl.=58$; $p<0,001$) (AVP-PE). Todavia não houve diferença significativa entre o contraste de cor das anteras dos estames de alimentação e do apêndice ventral do conectivo dos estames de polinização com as pétalas, o que sugere que esta última estrutura poderia atuar como mimíco no processo de polinização ($t=-0,032$; $gl.=58$; $p=0,975$) (Figura 10).

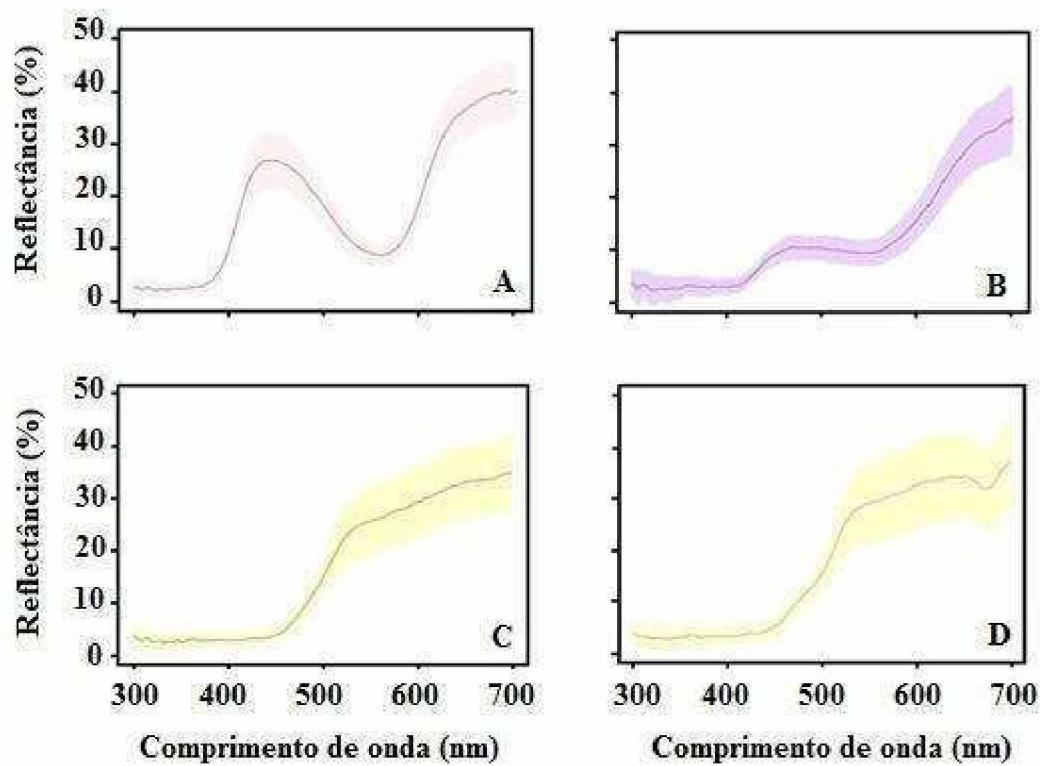


Figura 7. Curvas de reflectância das peças florais de *Microlicia cordata*. A) Pétala, B) Antera do estame de polinização, C) Antera do estame de alimentação, D) Apêndice ventral do conectivo do estame de polinização.

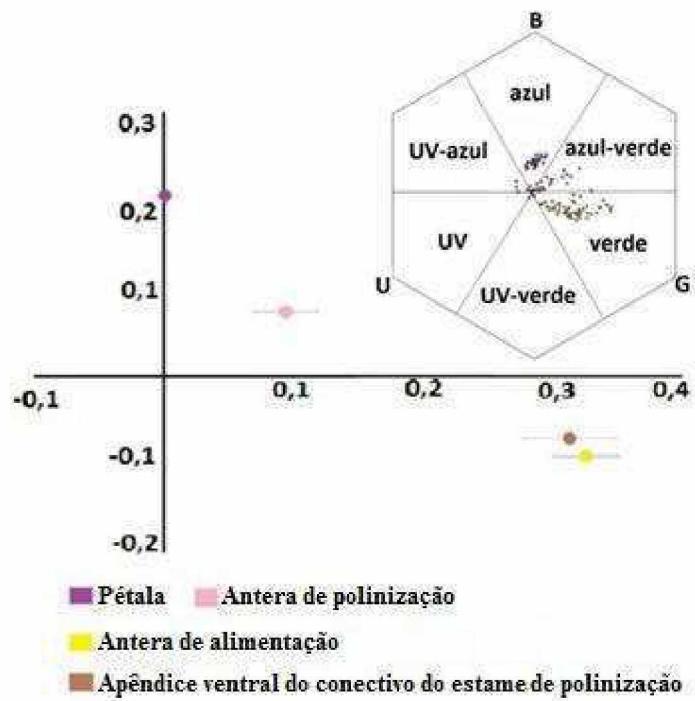


Figura 8. Modelo de espaço de cor para *Apis* (Hexágono). B – azul. G – verde. U – ultravioleta. Os pontos indicam onde cada peça floral se encontra no modelo do hexágono de cores. As coordenadas x – e y – foram calculadas com base nos valores de estimulação dos receptores UV, azul e verde para cada estrutura analisada (Chittka 1992).

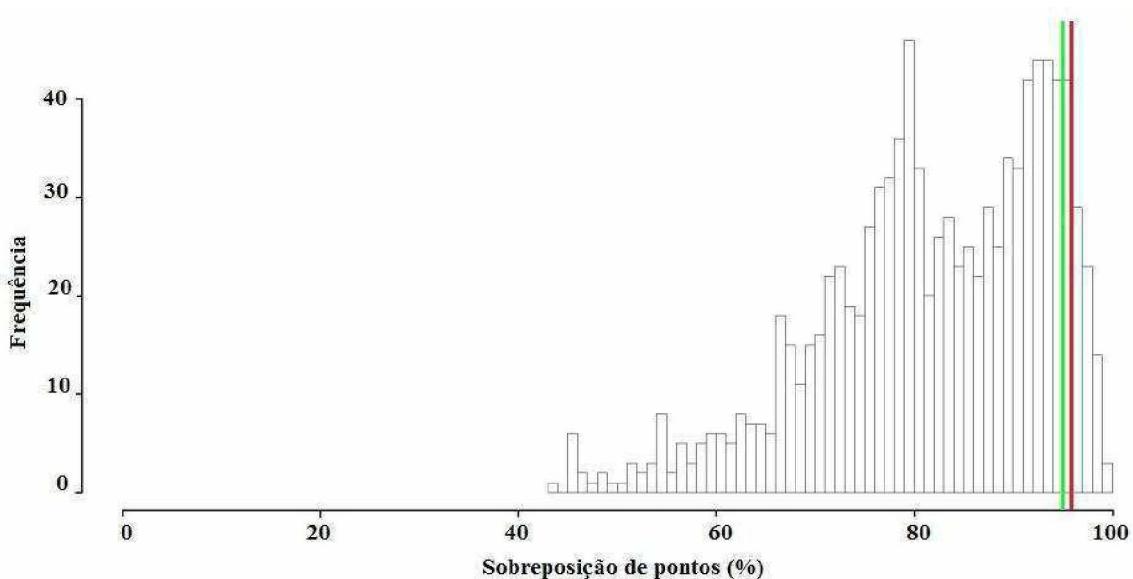


Figura 9. Distribuição de frequência das porcentagens da sobreposição entre os pontos das anteras dos estames de alimentação e do apêndice ventral do conectivo dos estames de polinização. A linha verde indica o intervalo de confiança unicaudal a 95% de confiança e a linha vermelha indica o valor real de sobreposição entre os pontos.

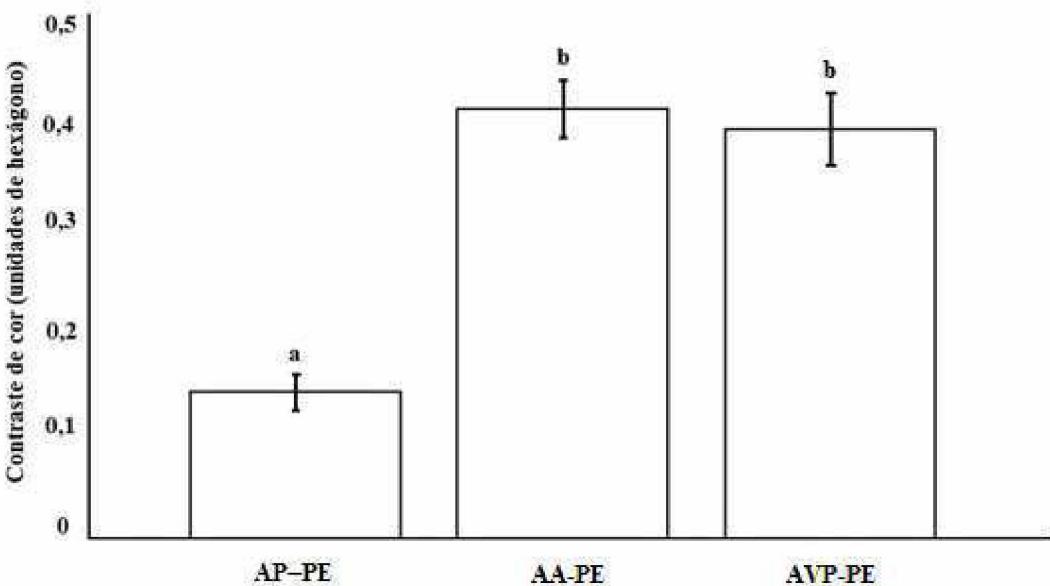


Figura 10. Contraste de cor das estruturas florais de *Microlicia cordata*. (AP-PE: antera do estame de polinização – pétala; AA-PE: antera do estame de alimentação – pétala; AVP-PE: apêndice ventral do conectivo do estame de polinização – pétala). As letras diferentes indicam que o tamanho das estruturas é diferente. As letras iguais indicam que não houve diferença significativa entre o contraste das estruturas.

DISCUSSÃO

Os resultados obtidos apoiam o modelo de divisão de trabalho entre as anteras de *Microlicia cordata*. Assim como proposto por esse modelo, as anteras dos estames de polinização desta espécie são maiores que as anteras dos estames de alimentação e também apresentam maior quantidade de grãos de pólen. E apesar das diferenças morfológicas observadas entre as anteras, como tamanho e cor diferentes nos dois ciclos, não foram verificadas diferenças anatômicas (Luo *et al.* 2008; 2009; Ferreira & Araújo 2016). Também não foram encontradas diferenças morfológicas e anatômicas nem de conteúdo entre os grãos de pólen das anteras de polinização e de alimentação de *M. cordata*, como também não ocorre em outras espécies da família, como é o caso de *Melastoma dodecandrum* e *M. sanguineum* (Luo *et al.* 2009). A estimativa de viabilidade polínica foi a mesma em ambos os ciclos, porém as taxas de inviabilidade foram altas, o que não costuma ser comum em espécies dependentes de polinizador (Hoffmann & Varassin 2011; Ferreira & Araújo 2016). Em relação à coloração das peças florais, observou-se que os estames de polinização têm coloração menos contrastante em relação às pétalas, enquanto que estames de alimentação e

apêndice ventral do conectivo dos estames de polinização têm cores mais contrastantes com a corola e são mais atrativos aos polinizadores (Jesson & Barret 2003; Vallejo-Marín *et al.* 2009).

Morfologia e anatomia dos estames e dos grãos de pólen

Em relação à posição do androceu, os estames de polinização de *M. cordata* estão voltados para a parte de baixo da flor, situados próximos ao estigma, enquanto que os estames de alimentação estão localizados na porção central da flor, resultando em um androceu zigomórfico, padrão também verificado em outras espécies de Melastomataceae (Renner 1989; Luo *et al.* 2008; Romero *et al.* 2014, 2015; Romero & Versiane 2016). Em geral, os estames das flores de Melastomataceae se apresentam dobrados de forma que os poros das anteras ficam voltados para baixo, numa posição estratégica em relação ao estigma, a fim de evitar a autopolinização, tanto antes como durante a antese (Renner 1989). Porém, mesmo estando nessa posição, o pólen não escapa das anteras, a menos que haja um agente polinizador, geralmente uma abelha, que estabelece um contato firme com os estames, e por meio de suas vibrações expulsa o pólen pelos poros das anteras (Buchmann & Hurley 1978; Renner 1989; De Luca *et al.* 2013). Sendo assim, o androceu zigomórfico pode estar relacionado com um melhor posicionamento do polinizador na flor, além de permitir a deposição de pólen em locais diferentes no corpo do polinizador, facilitando, dessa forma, a polinização cruzada (Jesson & Barret 2003; Luo *et al.* 2008; Vallejo-Marín *et al.* 2009; Ferreira & Araújo 2016).

As características morfológicas das anteras e dos grãos de pólen em *M. cordata* são comuns ao encontrado em outras espécies de Melastomataceae. Anteras bitecas e tetraesporangiadas, endotécio sem espessamentos fibrosos parietais e grãos esféricos liberados em mônades no estágio bicelular são condições comuns na família (Tobe & Raven 1983; Luo *et al.* 2008; Cortez *et al.* 2015). Por outro lado, como observado em algumas espécies com heteranteria, não foram verificadas diferenças morfológicas e anatômicas nem de conteúdo entre os grãos de pólen provenientes dos estames de polinização e de alimentação de *M. cordata* (Mori & Orchard 1980; Luo *et al.* 2009). Contudo, em algumas espécies da família, como é o caso de *Melastoma malabathricum*, podem ocorrer diferenças anatômicas nos grãos de pólen entre as anteras dos dois ciclos. Nesta espécie, a ornamentação da exina difere entre os ciclos, sendo que na antera de polinização o pólen tem superfície micro-rugosa, enquanto que na antera de alimentação o pólen tem superfície micro-estriada, e sua parede celular

apresenta espaços irregulares entre as columelas, o que não ocorre no pólen da antera de polinização (veja Luo *et al.* 2008).

Ainda há espécies, além de Melastomataceae, que apresentam diferenças nos tipos de grãos de pólen provenientes de espécies com heteranteria (Luo *et al.* 2009). Por exemplo, em *Lecythis pisonis* (Lecythidaceae), o pólen apresenta mudança de coloração, o que indica uma diferença fisiológica entre os grãos de pólen provenientes de cada tipo de antera, embora não haja diferenças morfológicas entre eles (Mori & Orchard 1980). *Lagerstroemia indica* (Lythraceae) apresenta diferenças na anatomia e na composição do conteúdo citoplasmático dos grãos de pólen provenientes de cada tipo de antera (Nepi *et al.* 2003).

Portanto, ocorre divisão de trabalho a nível morfológico entre as anteras de polinização e de alimentação de *M. cordata*. Porém, aparentemente, não ocorre divisão de trabalho a nível anatômico e funcional entre os grãos de pólen provenientes dos estames de polinização e de alimentação de *M. cordata*, como relatado em outras espécies com heteranteria (Luo *et al.* 2008; Ferreira & Araújo 2016).

Quantidade e estimativa de viabilidade dos grãos de pólen

Os dados obtidos indicam que em *M. cordata* a heteranteria se expressa mais na quantidade do que na qualidade dos grãos de pólen, uma vez que há diferença significativa na quantidade de grãos formados entre as anteras dos dois ciclos de estames, embora a estimativa de viabilidade seja semelhante.

Em muitas espécies de Melastomataceae, a quantidade de pólen varia de acordo com o tipo de estame, sendo comumente observado que as anteras dos estames de polinização contêm significativamente mais grãos de pólen do que as anteras dos estames de alimentação, e que as anteras dos estames de polinização também possuem uma porcentagem de grãos de pólen viáveis superior ou igual ao das anteras dos estames de alimentação (Luo *et al.* 2008; 2009; Ferreira & Araújo 2016). De acordo com o modelo de divisão de trabalho, as anteras dos estames de polinização possuem mais grãos de pólen viáveis quando comparados às anteras dos estames de alimentação, pois esses grãos se depositam em locais estratégicos do corpo do polinizador, não sendo consumidos por este, mas sim, utilizados na reprodução da planta (Luo *et al.* 2008; Vallejo-Marín *et al.* 2009).

Em *M. cordata*, as anteras dos estames de polinização também produzem mais grãos de pólen que as anteras dos estames de alimentação. Já em relação à viabilidade polínica, não houve diferença significativa entre os dois tipos de estames, porém as taxas de inviabilidade foram altas. Segundo Hoffmann & Varassin (2011), em cinco espécies de *Tibouchina*, apesar do dimorfismo das anteras, verificou-se viabilidade polínica similar em ambos os ciclos, podendo esta variar entre indivíduos da mesma população. Em *Desmoscellis villosa*, que também apresenta heteranteria, os grãos de pólen apresentaram alta taxa de viabilidade, sendo esta similar em ambos os ciclos (Ferreira & Araújo 2016). Provavelmente, a viabilidade polínica similar em ambos os ciclos de estames nessas espécies, inclusive em *M. cordata*, se deva ao processo meiótico, que é o mesmo nos dois ciclos, independentemente de sua função de alimentação ou polinização (Luo *et al.* 2009; Hoffmann & Varassin 2011).

Porém, a grande quantidade de grãos de pólen inviáveis observada nos dois tipos de estames de *M. cordata* não era o esperado. Essa alta taxa de inviabilidade polínica pode ocorrer devido à fatores ambientais, como alterações na umidade e temperatura, que podem diminuir a viabilidade dos grãos de pólen, de acordo com o estágio de desenvolvimento do botão floral (Prasad *et al.* 1999; Dafni & Firmage 2000; Cruz *et al.* 2008). Outro fator a ser considerado seria o excesso ou a ausência de nutrientes. Por exemplo, altas taxas de salinidade no ambiente podem resultar na acumulação de íons no pólen gerando distúrbios metabólicos, os quais podem levar a uma diminuição da viabilidade, germinação e crescimento do tubo polínico (Dhingra & Varghese 1985). Além disso, a longevidade da flor, bem como o tempo de antese também podem afetar a viabilidade do pólen (Dafni & Firmage 2000; Souza *et al.* 2002; Hoffmann & Varassin 2011).

Em Melastomataceae, altas taxas de inviabilidade polínica têm sido descritas em espécies apomíticas, devido principalmente às anormalidades meióticas. Acredita-se que tais espécies possam ser alopoliplóides, originadas após cruzamento interespecífico e duplicação cromossômica (Goldenberg & Shepherd 1998; Caetano *et al.* 2013a,b). Nestes apomíticos, os grãos de pólen inviáveis apresentam as mesmas características anatômicas que foram observadas na espécie aqui investigada. Embora não haja indícios de apomixia em *M. cordata*, uma possível origem híbrida desta espécie poderia levar às irregularidades meióticas e baixa viabilidade polínica, o que deve ser investigado. Inviabilidade polínica relacionada às anormalidades meióticas em híbridos, apomíticos ou não, é frequentemente relatada na literatura (Pagliarini 2000; El Maâtaoui & Pichot 2001; Ferreira *et al.* 2009). Em três espécies

de *Crotalaria* (Fabaceae), a baixa viabilidade pode ser compensada pelo elevado número de grãos de pólen produzidos (Ferreira *et al.* 2009), o que pode ocorrer em *M. cordata*. Neste sentido, embora muitos grãos sejam inviáveis, os grãos viáveis poderiam ser suficientes para garantir o sucesso reprodutivo da espécie. Portanto, os dois tipos de anteras poderiam contribuir para o processo de polinização.

Coloração das peças florais

As diferentes cores dos estames de *M. cordata* podem estar relacionadas ao papel de cada um dos dois tipos no processo de polinização (Luo *et al.* 2009; Ferreira & Araújo 2016). Sabe-se que a frequência de visitação dos polinizadores pode variar de acordo com o ciclo de estames (Luo *et al.* 2008; Ferreira & Araújo 2016). Em um experimento com *Melastoma malabathricum* (Melastomataceae), foram removidos os estames de polinização, de cor púrpura similar à corola e as visitas dos polinizadores continuaram iguais às das flores controle (que não tiveram anteras removidas). Por outro lado, quando foram removidos os estames de alimentação, de coloração amarela, contrastante com a corola, as visitas declinaram brusca e significativamente, indicando que as anteras dos estames de polinização exercem baixa atração visual e olfatória para as abelhas em comparação as anteras dos estames de alimentação (Luo *et al.* 2008).

Em *M. cordata*, as anteras de polinização são púrpuras, possuindo uma coloração discreta e pouco contrastante em relação às pétalas, o que sugere também que essas anteras são menos atrativas para os polinizadores, podendo cumprir melhor a função de polinização, uma vez que os grãos de pólen disponíveis nessas anteras não seriam totalmente consumidos pelos polinizadores, mas ficariam aderidos ao seu corpo e seriam, posteriormente, transferidos para outras flores (Luo *et al.* 2009; Vallejo-Marín *et al.* 2009). Esse padrão floral, geralmente, ocorre não apenas em Melastomataceae, mas também em outras famílias de Angiospermas, inclusive aquelas que possuem muitos representantes, como é o caso de Commelinaceae, Fabaceae e Solanaceae (Rodrigues *et al.* 2005; Luo *et al.* 2009; Vallejo-Marín *et al.* 2010).

Por outro lado, as anteras dos estames de alimentação funcionam como um atrativo para os polinizadores, especialmente devido à sua coloração amarela UV-absorvente, similar ao pólen (Heuschen *et al.* 2005; Luo *et al.* 2009; Ferreira & Araújo 2016). Além disso, o apêndice ventral do conectivo dos estames de polinização tem coloração similar à das anteras dos estames de alimentação, possuindo a mesma cor para a capacidade de discriminação de

Apis mellifera, já que ocupam a mesma região no hexágono de cores (Chittka 1992). Tais estruturas centrais da flor são muito atrativas devido ao seu contraste em relação à corola, o que é típico de flores melitófilas (Lunau 1992; Heuschen *et al.* 2005). Assim, anteras dos estames de alimentação e apêndice ventral do conectivo dos estames de polinização oferecem, em conjunto, maior sinal de atração para os polinizadores, visto que a corola seria apenas um atrativo a longa distância (Lunau 2006).

Sendo assim, em *M. cordata* ocorrem três importantes processos intraflorais que medeiam a relação entre a planta e o polinizador. Em primeiro lugar, as anteras dos estames de polinização são púrpuras e se apresentam camufladas para os polinizadores, devido à coloração similar com a corola. Em segundo lugar, as anteras dos estames de alimentação são amarelas e bem atrativas aos polinizadores por apresentarem coloração bastante contrastante em relação às pétalas, e sinalizarem o recurso oferecido (pólen) honestamente. Por fim, o apêndice ventral do conectivo dos estames de polinização tem também coloração amarela, similar às anteras dos estames de alimentação, porém essa coloração apenas mimetiza as anteras, aumentando o sinal de atração aos agentes polinizadores. Porém, o apêndice ventral do conectivo dos estames de polinização não oferece nenhum recurso, sendo assim um sinal desonesto para os polinizadores.

Dentro deste contexto, a hipótese do “mimetismo de pólen” é um fenômeno mundialmente comum em Angiospermas, a qual indica a existência de estruturas florais com características semelhantes ao grão de pólen que atrai os agentes polinizadores, como é o caso da coloração amarela UV-absorvente das anteras dos estames de alimentação e do apêndice ventral do conectivo dos estames de polinização em *M. cordata*. Ainda, há o fato de que estas estruturas se concentram no centro da flor, o que aumenta as chances de visita (Heuschen *et al.* 2005; Lunau 2006; Barônio *et. al* 2016). Tal sistema de mimetismo é composto de três componentes principais, que seriam: 1) a estrutura modelo, como é o caso das anteras dos estames de alimentação; 2) a estrutura mímica, que seria o apêndice ventral dos estames de polinização e 3) o receptor do sinal, que seriam as abelhas visitantes (Lunau 2006). Dessa forma, o mimetismo floral é um processo evolutivo dinâmico que envolve a capacidade de sinalização das plantas e a percepção dos polinizadores (Roy & Widmer 1999).

Muitas espécies usam estruturas mímicas para superar as desvantagens de atrair e recompensar os visitantes florais com todo o pólen, e assim, podem economizar este recurso ao transferir a função sinalizadora de estames naturais para outras estruturas que imitam sua

função (Dafni 1984; Lunau 2006). Além disso, tais estruturas de imitação fornecem um sinal mais padronizado e constante em espécies com morfos diferentes, como é o caso daquelas que apresentam heteranteria (Lunau 2006). Assim, a presença de estruturas mímicas, similares aos estames, é um aspecto generalizado da sinalização floral de Angiospermas polinizadas por abelhas e provavelmente representa o sistema de mimetismo mais rico do mundo (Heuschen *et al.* 2005; Lunau 2006).

De acordo com a hipótese do “mimetismo de pólen”, a semelhança de cor entre anteras dos estames de alimentação e o apêndice ventral do conectivo dos estames de polinização de *M. cordata* sugere que as abelhas poderiam interpretar estes últimos como supostas anteras que forneceriam recursos, sendo assim, esta estrutura atuaria como um sinal desonesto e intensificador na atração dos visitantes, que seriam enganados pela coloração similar dessas estruturas (Renner 1989; Lunau 2006). E provavelmente *M. cordata* é o primeiro caso descrito de mimetismo em que a estrutura modelo e a estrutura mímica ocorrem na mesma flor.

AGRADECIMENTOS

À Universidade Federal de Uberlândia (UFU) e ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal (PPGBV) pelo incentivo à pesquisa, ao Laboratório de Morfologia Vegetal e Imagens (Lamovi) pelo material de apoio, à Reserva do Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia (CCPIU) pela permissão do estudo em sua área e à CAPES pela bolsa de pesquisa concedida no ano de 2015. Esse estudo faz parte da dissertação de mestrado da primeira autora.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Agostini, K.; Lopes, A.V.; Machado, I.C. 2014. Recursos Florais. In: Rech, A.R.; Agostini, K.; Oliveira, P.E.A.M.; Machado, I.C. (eds.) Biologia da Polinização. Editora Projeto Cultural, Rio de Janeiro. Pp. 129–150.
- Appolinário, V. & Schiavini, I. 2002. Levantamento Fitossociológico de espécies arbóreas de Cerrado (stricto sensu) em Uberlândia - Minas Gerais. Boletim do Herbário Ezequias Paulo Heringer 10: 57–75.
- Araújo, G.M.; Barbosa, A.A.A.; Arantes, A.A.; Amaral, A.F. 2002. Composição florística de veredas no Município de Uberlândia, MG. Revista Brasileira de Botânica 25(4): 475–493.
- Bacci, L.F.; Versiane, A.F.A.; Oliveira, A.L.F.; Romero, R. 2016. Melastomataceae na RPPN do Clube Caça e Pesca Itororó, Uberlândia, MG, Brasil. Hoehnea 43(4): 541–556.
- Barônio, G.J.; Maciel, A.A.; Oliveira, A.C.; Kobal, R.O.A.C.; Meireles, D.A.L.; Brito, V.L.G.; Rech, A.R. 2016. Plantas, polinizadores e algumas articulações da biologia da polinização com a teoria ecológica. Rodriguésia 67(2): 1–19.
- Brito, V.L.G.; Weynans, K.; Sazima, M.; Lunau, K. 2015. Trees as huge flowers and flowers as oversized floral guides: the role of floral color change and retention of old flowers in *Tibouchina pulchra*. Frontiers in Plant Science 6(362): 1–10.
- Bronstein, J.L. 1994. Our current understanding of mutualism. The Quarterly Review of Biology 69: 31–51.
- Buchmann, S.L.; Hurley, J.P. 1978. A Biophysical Model for Buzz Pollination in Angiosperms. Journal of Theoretical Biology 72: 639–657.
- Buchmann, S.L. 1983. Buzz pollination in Angiosperms. In: Jones, C.E.; Little, R.J. (eds.) Handbook of Experimental Pollination Biology. Van Nostrand Reinhold, New York. Pp. 73–113.
- Caetano, A.P.S.; Simão, D.G.; Carmo-Oliveira, R.; Oliveira, P.E. 2013a. Diplospory and obligate apomixis in *Miconia albicans* (Miconieae, Melastomataceae) and an embryological

comparison with its sexual congener *M. chamissois*. *Plant Systematics and Evolution* 299:1253–1262.

Caetano, A.P.S.; Teixeira, S.P.; Forni-Martins, E.R.; Carmello-Guerreiro, S.M. 2013b. Pollen insights into Apomictic and Sexual *Miconia* (Miconieae, Melastomataceae). *International Journal of Plant Sciences* 174(5):760–768.

Chittka, L. 1992. The color hexagon: a chromaticity diagram based on photoreceptor excitations as a generalized representation of colour opponency. *Journal of Comparative Physiology* 170: 533–543.

Chittka, L.; Menzel, R. 1992. The evolutionary adaptation of flower colours and the insect pollinators colour vision. Publisher Springer-Verlag 171(2): 171–181.

Chittka, L.; Kevan, P.G. 2005. Flower colour as advertisement. In: Dafni, A., Kevan, P.G., Husband, B.C. (eds.) Practical Pollination Biology. Enviroquest Ltd., Cambridge, ON, Canadá. Pp. 157–196.

Cogniaux, C. A. 1883. *Microlicia*. In: Martius, C. F. P.; Eichler, A. W.; Urban., I. (eds.) Flora Brasiliensis. Leipzig: Fleischer. Pp. 6–204.

Cortez, P.A.; Caetano, A.P.S.; Carmello-Guerreiro, S.M.; Teixeira, S.P. 2015. Anther wall and pollen development in Neotropical species-rich *Miconia* (Melastomataceae). *Plant Systematic Evolution* 301: 217–230.

Cruz, T.V; Souza, M.M; Roza, F.A.; Viana, A.J.C; Belo, C.O.; Fonseca, J.W.S. 2008. Germinação in vitro de grãos de pólen em *Passiflora suberosa* para sua utilização em hibridação interespecífica. *Revista Brasileira de Fruticultura* 30(4): 875–879.

Dafni, A. 1984. Mimicry and Deception in Pollination. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 15:259–278.

Dafni, A.; Firmage, D. 2000. Pollen viability and longevity: practical, ecological and evolutionary implications. *Plant Systematics and Evolution* 222:113–132.

Dafni, A., Kevan, P.G., Husband, B.C., 2005. Practical Pollination Ecology. Enviroquest Ltd., Cambridge, ON, Canada. 590p.

Darwin, C. 1862. *Carta a Asa Gray*, 22 de janeiro. Disponível em: <<http://www.darwinproject.ac.uk/letter/DCP-LETT-3404.xml>> Acesso em: 01 dez. 2016.

Darwin, F. 1899. The botanical work of Darwin. *Annals of Botany* 13: 9–19.

De Luca, P.A.; Bussiere, L.F.; Souto-Vilaros, D.; Goulson, D.; Mason, A.C.; Vallejo-Marin, M. 2013. Variability in bumblebee pollination buzzes affects the quantity of pollen released from flowers. *Oecologia* 172: 805–816.

Dhingra, H. R.; Varghese, T. M. 1985. Effect of Salt Stress on Viability, Germination and Endogenous Levels of Some Metabolites and Ions in Maize (*Zea mays* L.) Pollen. *Annals of Botany* 55 (3): 415–420.

El Maâtaoui, M.; Pichot, C. 2001. Microsporogenesis in the endangered species *Cupressus dupreziana* A. Camus: evidence for meiotic defects yielding unreduced and abortive pollen. *Planta* 213(4): 543–9.

Feder, N.; O'Brien, T.P. 1968. Plant microtechnique: some principles and new methods. *American Journal of Botany* 55:123–142.

Ferreira K., Torres, G.A., Carvalho I.V.; Davide LC. 2009. Abnormal meiotic behavior in three species of *Crotalaria*. *Pesquisa Agropecuária Brasileira* 44(12): 1641–1646.

Ferreira, Q.I.X.; Araújo, F.P. 2016. Economia de pólen favorecida pela heteranteria em *Desmocelis villosa* (Melastomataceae). *Rodriguésia* 67(2): 347–355.

Gerrits, P.O.; Smid, L. 1983. A new, less toxic polymerization system for the embedding of soft tissues in glycol methacrylate and subsequent preparing of serial sections. *Journal of Microscopy* 132:81–85.

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.; Almeda, F.; Sosa, K.; Ribeiro, R.C.; Michelangeli, F.A. 2015. Rupestrea: A New Brazilian Genus of Melastomataceae, with Anomalous Seeds and Dry Indehiscent Fruits. *Systematic Botany* 40(2): 561–571.

Goodland, R. 1979. Análise ecológica da vegetação de cerrado. In: Goodland R & Ferri M.G. (eds.) Ecologia do cerrado. São Paulo, Ed. Itatiaia e EDUSP. Pp. 61–171.

Hedtke, S.M.; Patiny, S.; Danforth, B.N. 2013. The bee tree of life: a supermatrix approach to apoid phylogeny and biogeography. BMC Evolutionary Biology 13:138.

Herre, E.A.; Knowlton, N.; Mueller, U.G. & Rehner S.A. 1999. The evolution of mutualisms: exploiting the paths between conflict and cooperation. Trends in Ecology and Evolution 14: 49–53.

Heuschen, B.; Gumbert, A.; Lunau, K. 2005. A generalized mimicry system involving angiosperm flower colour, pollen and bumblebees' innate colour preferences. Plant Systematics and Evolution 252: 121–137.

Hoffmann, G.M.; Varassin, I.G. 2011. Variação da viabilidade polínica em *Tibouchina* (Melastomataceae). Rodriguésia 62(1): 223–228.

Jesson, L. K.; Barrett, S.C.H. 2003. The comparative biology of mirror-image flowers. International Journal of Plant Sciences 5(164): 237–249.

Johansen DA. 1940. Plant microtechnique. McGraw-Hill Book Company Inc., New York. 523p.

Land, M.F.; Nilsson, D.E. 2002. Light and vision. In: Land, M.F.; Nilsson, D.E. (eds.) Animal Eyes. Oxford, Oxford University Press. Pp. 16–32.

Leite, F.B. 2016. Função da heteranteria em duas espécies de *Tibouchina* (Melastomataceae): atração de abelhas e dinâmica de pólen. Dissertação de Mestrado em Biologia Vegetal. Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas, Campinas. 58p.

Lunau, K. 1992. Innate recognition of flowers by bumble bees: orientation of antennae to visual stamen signals. Canadian Journal of Zoology 70:2139–2144.

Lunau, K. 1992. A new interpretation of flower guide coloration - Absorption of ultraviolet-light enhances color saturation. *Plant Systematics and Evolution* 183(1): 51–65.

Lunau, K. 2006. Stamens and mimic stamens as components of floral colour patterns. *Botanische Jahrbücher* 127(1): 13–41.

Lunau, K.; Papiorek, S.; Eltz, T.; Sazima, M. 2011. Avoidance of achromatic colours by bees provides a private niche for hummingbirds. *Journal of Experimental Biology* 214:1607–1612.

Lunau, K.; Piorek, V.; Krohn, O.; Pacini, E. 2014. Just spines—mechanical defense of malvaceous pollen against collection by corbiculate bees. *Apidologie* 46: 144–149.

Luo, Z.; Zhang, D.; Renner, S.S. 2008. Why two kinds of stamens in buzz-pollinated flowers? Experimental support for Darwin's division-of-labour hypothesis. *Functional Ecology* 22: 794–800.

Luo, Z.; Gu, L.; Zhang, D. 2009. Intrafloral differentiation of stamens in heterantherous flowers. *Journal of Systematics and Evolution* 47(1): 43–56.

Malaco, G. B.; Pioli, D.; Silva Junior, E. L.; Franchin, A. G.; Melo, C.; Silva, A. M.; Pedroni, F. 2013. Avifauna da reserva do Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia. *Atualidades Ornitológicas (Impresso)* 174: 40–53.

McDowell, E.M.; Trump, B.F. 1976. Histologic fixatives suitable for diagnostic light and electron microscopy. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine* 100(8): 405–414.

Mori, S.A.; Orchard, J.E. 1980. Intrafloral Pollen Differentiation in the New World Lecythidaceae, Subfamily Lecythidoideae. *Science* 209(18): 400–403.

Muller, H. 1881. Dois tipos de estames com funções diferentes na mesma flor. *Nature* 24: 307–308.

Muller, F. 1883a. Dois tipos de estames com funções diferentes na mesma flor. *Nature* 27: 364 –365.

Nepi, M.; Guarnieri, M.; Pacini, E. 2003. Real and feed pollen of *Lagerstroemia indica*: Ecophysiological differences. *Plant Biology* 5: 311–314.

O'brien T.P., Feder N., Mccully M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by Toluidine Blue O. *Protoplasma* 59: 368–373.

Pagliarini, M.S. 2000. Meiotic behavior of economically important plant species: the relationship between fertility and male sterility. *Genetics and Molecular Biology* 23(4): 997–1002.

Pearse, A. G. E. 1980. *Histochemistry theoretical and applied: preparative and optical technology*. 4.ed. Edinburgh: Churchill Livingston, 439 p.

Prasad, P.V.V; Craufurd, P.Q.; Summerfield, R.J. 1999. Fruit Number in Relation to Pollen Production and Viability in Groundnut Exposed to Short Episodes of Heat Stress. *Annals of Botany* 84: 381–386.

R Development Core Team. 2016. R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. Disponível em: <<https://www.r-project.org/>> Acesso em 08/12/2016.

Radford, A. E.; Dickison, W. C.; Massey, J. R.; Bell, C.R. 1974. *Vascular plant systematics*. New York: Harper & Row. 891 p.

Rech, A.R.; Brito, V.L.G. 2012. Mutualismos extremos de polinização: História natural e tendências evolutivas. *Oecologia Australis* 16(2): 297–310.

Renner, S.S. 1989. A survey of reproductive biology in Neotropical Melastomataceae and Memecylaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 76:496–518.

Rodrigues, R.S.; Flores, A.S.; Miotto, S.T.S.; Baptista, L.R.M. 2005. O gênero *Senna* (Leguminosae, Caesalpinioideae) no Rio Grande do Sul, Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 19(1):1–16.

Romero, R. 2003. Revisão taxonômica de *Microlicia* sect. *Chaetostomooides* (Melastomataceae). *Revista Brasileira de Botânica* 26(4): 429–435.

Romero, R.; Silva, K.R.; Simão, D.G. 2014. *Microlicia crassa* and *M. maculata* spp. nov. (Melastomataceae) from Minas Gerais, Brazil: morphology and leaf anatomy. *Nordic Journal of Botany* 000: 1–8.

Romero, R.; Woodgyer, E. 2015. *Microlicia*. In: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB9782>>. Acesso em: 07 dez. 2016.

Romero, R.; Silva, K.R.; Simão, D.G. 2015. *Microlicia cogniauxiana* and *Microlicia naudiniana* (Melastomataceae), Two New Species from the Espinhaço Range, Brazil. Systematic Botany 40(4):1–11.

Romero, R.; Versiane, A.F.A. 2016. *Microlicia candelleana* (Melastomataceae): a new endemic species to the Espinhaço range, Minas Gerais, Brazil. Phytotaxa 261 (3): 275–281.

Roy, B.A.; Widmer, A. 1999. Floral mimicry: a fascinating yet poorly understood phenomenon. Elsevier Science 4(8): 325–330.

Santos, A.K.A.; Martins, A. B.; Romero, R.; Santos, A. P. M.; Almeda, F Bernado, K. F. R.; Koschnitzke, C.; Goldenberg, R.; Reginato, M.; Lee, R. C. S.; William Antonio Rodrigues, W. A. 2009. Melastomataceae. In: Giulietti, A.M.; Giulietti, A.M.; Rapini, A.; Andrade, M. J. G.; Queiroz, L. P.; Silva, J. M. C. (eds.) Plantas raras do Brasil. Belo Horizonte, MG: Conservação Internacional, Universidade Estadual de Feira de Santana. Pp. 263–279.

Schiavini, I.; Araújo, G.M. 1989. Considerações sobre a vegetação da Reserva ecológica do Panga (Uberlândia). Sociedade de Natureza 1: 61–66.

Souza, M.M.; Pereira, T.N.S.; Martins, E.R. 2002. Microsporogênese e Microgametogênese associadas ao tamanho do botão floral e da antera e viabilidade polínica em Maracujazeiro-Amarelo (*Passiflora edulis* Sims f. *flavicarpa* Degener). Ciência e Agrotecnologia 26(6): 1209–1217.

Tobe, H.; Raven, P.H. 1983. An embryological analysis of Myrtales: its definition characteristics. Annals of the Missouri Botanical Garden 70: 71–94.

Vallejo-Marín, M.; Manson, J.S.; Thomson, J.D.; Barrett, S.C.H. 2009. Division of labour within flowers: heteranthery, a floral strategy to reconcile contrasting pollen fates. Journal of Evolutionary Biology 22: 828–839.

Vallejo-Marín, M.; Silva, E.M.; Sargent, R.D.; Barrett, S.C.H. 2010. Trait correlates and functional significance of heterantery in flowering plants. *New Phytologist* 188: 418–425.

Vogel, S. 1978. Evolutionary shifts from reward to deception in pollen flowers. In: Richards, A.J. *et al.* (eds.) *The Pollination of Flowers by Insects*. Academic Press, London. Pp. 89–96.

Waser, N.M.; Chittka, L.; Price, M.V.; Willians, N.M.; Ollerton, J. 1996. Generalization in pollination systems, and why it matters. *Ecology* 77(4): 1043–1060.

Wyszecki, G.; Stiles, W.S. 1982. *Color Science: Concepts and Methods, Quantitative Data and Formulae*. 2^a ed. NewYork: Wiley, 968 p.

III. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Os estames e as anteras de *M. cordata* apresentam tamanhos diferentes, sendo que o ciclo de polinização é maior do que o de alimentação, embora sua estrutura anatômica seja semelhante. Corroborando a hipótese de divisão de trabalho, as anteras dos estames de polinização possuem, de fato, maior quantidade de grãos de pólen em relação às anteras dos estames de alimentação, possivelmente em função do seu maior tamanho. Porém, não há diferença na viabilidade polínica, visto que os dois tipos de estames apresentam alta inviabilidade devido à presença de anormalidades encontradas nos grãos de pólen. A cor dos dois ciclos de estames permite concluir que suas colorações estão relacionadas ao papel de cada peça floral na polinização. Os estames de polinização são pouco atrativos aos polinizadores devido ao pouco contraste de sua coloração em relação à corola, ao contrário dos estames de alimentação que possuem cor contrastante com a corola, sendo bastante atrativos para os polinizadores. E o apêndice ventral do conectivo dos estames de polinização apresenta o mesmo padrão de cor dos estames de alimentação e, dessa forma, atua como mímico, aumentando o sinal de atração para os agentes polinizadores.