

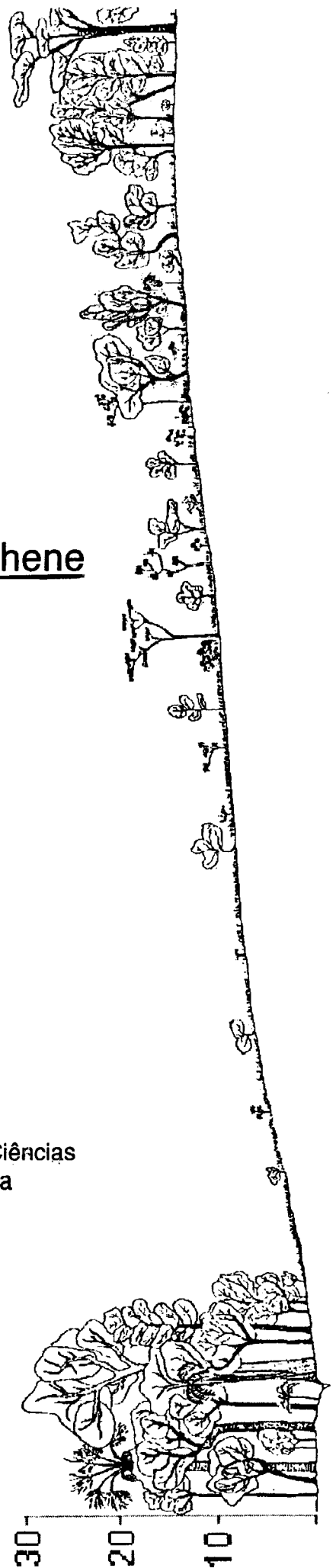
Universidade Federal de Uberlândia
Centro de Ciências Biomédicas
Curso de Ciências Biológicas

Biologia da Polinização de Callisthene
major (Vochysiaceae)
em fragmentos florestais de
Uberlândia-MG

Aline de Paula Afonso

Monografia apresentada à Coordenação do Curso de Ciências
Biológicas, da Universidade Federal de Uberlândia, para
obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas.

Uberlândia – MG
Dezembro – 1994



Universidade Federal de Uberlândia
Centro de Ciências Biomédicas
Curso de Ciências Biológicas

**Biologia da Polinização de Callisthene major (Vochysiaceae)
em fragmentos florestais de Uberlândia-MG**

Aline de Paula Afonso

Monografia apresentada à Coordenação do
Curso de Ciências Biológicas, da Universidade
Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de
Bacharel em Ciências Biológicas.

Uberlândia – MG
Dezembro – 1994

Universidade Federal de Uberlândia
Centro de Ciências Biomédicas
Curso de Ciências Biológicas

**Biologia da Polinização de Callisthene major (Vochysiaceae)
em fragmentos florestais de Uberlândia-MG**

Aline de Paula Afonso

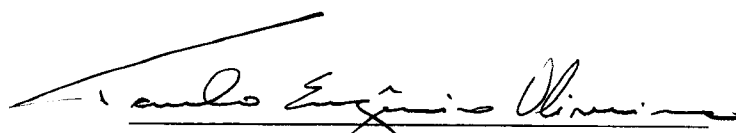
Orientador: Paulo Eugênio Oliveira

Monografia apresentada à Coordenação do
Curso de Ciências Biológicas, da Universidade
Federal de Uberlândia, para obtenção do grau de
Bacharel em Ciências Biológicas.

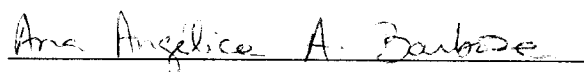
Uberlândia – MG
Dezembro – 1994

**Biologia da Polinização de Callisthene major (Vochysiaceae)
em fragmentos florestais de Uberlândia-MG**

APROVADA PELA COMISSÃO EXAMINADORA EM 09/12/94



Paulo Eugênio Oliveira (Orientador)



Ana Angélica Barbosa (1º Conselheiro)

Ivan Schiavini (2º Conselheiro)

Uberlândia – MG
Dezembro – 1994

"Os vencedores da batalha da vida são homens perseverantes que sem se julgarem gênios convenceram-se de que, só pela perseverança e esforço poderiam chegar ao fim do almejado..."

Dedico ...

Aos meus Pais, Lineu e Lourdes, pelo amor, compreensão e apoio sempre constantes ao longo de toda esta caminhada.

As minhas irmãs queridas: Paula , Poliana , Sabrina e Bruna, pelo carinho e incentivo.

A vocês, o meu muito OBRIGADA.

Agradecimentos

Ao Prof. Dr. Paulo Eugênio, pela orientação, por todas as sugestões, paciência e amizade durante estes anos de trabalho.

Ao Prof. Dr. Ivan e a professora Ana Angélica, pela disponibilidade e atenção.

A amiga Montserrat Arista pelas sugestões e valiosa colaboração nos estudos de laboratório.

A Coordenadora do Curso de Ciências Biológicas, professora Ana Maria, e a "bailarina", advogada e secretária Edna Bruns, que sempre deram um "jeitinho" em tudo.

A Renata e Silvana que ajudaram-me na coleta de material.

A amiga Mirley (Mirlinha), pela ajuda, leitura e sugestões dadas ao trabalho. Pela amizade sincera e horas de descontração.

Aos amigos, Celine, Juliana, Adriana (Fofa), Andreimar, Rosana, Fernandinha, Cristina, Claudinha, pelo estímulo constante e todos os demais colegas da 34ª e pelos bons anos de convívio.

A Dani e Tuti, pela amizade e pelas agradáveis tardes de domingo, passadas no bloco D, durante a confecção deste trabalho.

Ao Frederico (Fred) pela carona ao Parque do Sábila em sua "lobeira" e pela convívio agradável durante estes anos.

As pessoas que me proporcionaram tantos momentos de alegria: Patrícia, Marco, Maura, Mirny, Tarcísio (tio Zé), Rita, Fabiana, Ana Paula, Cristina (borboleta), Méia, Hudson, Djeane, Genilda, Wilson, Adriana Giroldo, Márcia, Luciene, Cláudia Contador, Noêmia, enfim a todos os amigos conquistados ao longo do Curso.

Ao Anselmo que tanto me animou com suas risadas que podiam ser ouvidas por todos os corredores.

A tia Paula pelo companheirismo e incentivo constante.

As tias Elvira, Conceição e Nadir por estarem sempre torcendo por mim.

Aos amigos de Luz: Adriana (Dri), Daciana, Eloína, Jaqueline Kennedy, Ercelle, Solange, Andréia, Gilberto, Ana Paula (afilhadinha), Juliana, Gilcélia, Valéria, Marcelo, Rogério, Dona Célia, Livia, Luciene (Tiêni). que mesmo distantes incentivaram-me.

Enfim, a todas aquelas pessoas que direta ou indiretamente contribuíram para a realização deste trabalho.

ÍNDICE

RESUMO.....	1
INTRODUÇÃO.....	2
MATERIAL E MÉTODOS.....	4
ÁREAS DE ESTUDO.....	4
FENOLOGIA.....	4
BIOLOGIA FLORAL.....	5
SISTEMA DE REPRODUÇÃO.....	6
VISITANTES.....	7
RESULTADOS.....	8
FENOLOGIA.....	8
BIOLOGIA FLORAL.....	8
SISTEMA DE REPRODUÇÃO.....	10
VISITANTES.....	11
DISCUSSÃO.....	12
FENOLOGIA.....	12
BIOLOGIA FLORAL.....	13
VISITANTES.....	14
SISTEMA DE REPRODUÇÃO.....	14
CONCLUSÃO.....	16
BIBLIOGRAFIA.....	17

RESUMO

O estudo com a espécie Callisthene major, foi desenvolvido em duas áreas de mata mesófila no Município de Uberlândia - M.G, no período de agosto de 1992 a novembro de 1994. Durante esse período foram feitos estudos de fenologia, biologia floral, polinização e sistemas de reprodução. A espécie floresce muito rapidamente, logo após o início da brotação e é relativamente assincrônica entre os indivíduos. As flores são pequenas e frágeis de antese diurna. A única pétala é branca com guia de néctar amarelado. A flor dura um único dia e a pétala cai normalmente no início de segundo dia. De modo geral as características apresentadas por esta espécie como zigomorfia, antese diurna e guia de néctar, sugerem uma síndrome de melitofilia. A estrutura floral e a presença de enantiostilia (alternância da posição relativa do estilete e do estame de flor para flor) são semelhantes à flores melitófilas de espécies de Qualea (Vochysiaceae) do cerrado. Os principais visitantes são abelhas, de pequeno porte, como Apis mellifera, Trigona sp (Meliponinae) e Exomalopsis (Anthophoridae). Estas abelhas ao visitarem a flor a procura do néctar, entram abaixo da sépala maior, que recobre o estame e o estilete, tocando-os e sujando a cabeça e o tórax de pólen. O néctar é produzido em pequenas quantidades (0,6 µl) e com concentrações muitas vezes acima de 50% de equivalentes sacarose. Os experimentos com polinizações controladas sugerem que a planta é predominantemente xenogâmica com um índice de auto-incompatibilidade (ISI) de 0,18. Observações em microscopia de fluorescência de pistilos fixados após a polinização, mostraram que os tubos polínicos tanto de auto-polinização como de polinização cruzada, cresceram e atingiram o ovário entre 24h e 48h após a polinização, sugerindo um mecanismo de incompatibilidade de ação tardia. Contudo a fertilização do óvulo pôde ser observada somente em pistilos de auto-polinização após 48h e de auto-polinização e polinização cruzada depois de uma semana. O comportamento de tubos polínicos observado é semelhante àquele de espécies de Qualea, sendo que nestas espécies a fertilização somente foi observada uma semana após a polinização.

INTRODUÇÃO

Nas observações sobre o mundo ao seu redor, o homem sempre se interessou pelas flores. No entanto, através dos séculos surgiram curiosos que as examinavam, cultivavam, faziam porções, perfumes e até escreviam sobre elas visando principalmente suas utilidades (Amaral, 1992).

Em certas regiões do Oriente Médio, em séculos remotos, ao que parece já existia um conhecimento de polinização. Segundo Heiser (1977) nesta região eram realizados cerimônias de fertilização, na qual eram colocados ramalhetes com flores das tamareiras machos nas tamareiras fêmeas com o fim de obter mais frutos.

As Angiospermas, grupo de plantas cuja principal característica é a flor e a interação com vetores bióticos para polinização, surgiram há 125 milhões de anos, no Cretáceo Inferior, tornando-se dominante em todo o mundo no Cretáceo superior. Com a evolução deste grupo, as espécies vegetais se especializaram em termos das características de seus polinizadores, desenvolvendo vários tipos de sistemas de polinização (Raven et al. ,1985).

Bertin (1989) define polinização como sendo a transferência de pólen da estrutura reprodutiva masculina para a feminina de uma flor. De certa forma, as plantas em sua reprodução sexuada fazem um tipo de seleção sexual. Basicamente essa seleção é feita através de manipulação de vetores, polinizadores, que envolvem as estruturas morfológicas da flor, recompensa e eventos florais que caracterizam a especialização dos sistemas de polinização. Ou ainda, por mecanismos pós-polinização razoavelmente bem conhecidos e geneticamente estudados, os sistemas de auto-incompatibilidade (Oliveira,1994b).

Estes sistemas são conhecidos desde o século XVIII e os mecanismos genéticos envolvidos nestes processos foram definidos na década de 20 (Richards, 1986). De acordo com Gibbs (1990) três mecanismos geneticamente diferentes parecem estar envolvidos neste processo: sistemas gametofíticos, esporofíticos homomorfos e esporofíticos heteromorfos.

O interesse pelo estudo da biologia floral tem aumentado grandemente nas últimas décadas. Estes estudos têm analisado de um ponto de vista funcional a dinâmica de polinização de populações vegetais (Bawa 1974) O estudo da biologia floral associada a polinização, permite assinalar as inter-relações existentes entre a planta e os seus visitantes. (Barbosa, 1983), e tem sido ainda reconhecido como

modelo para entender a evolução e a seleção natural na estruturação de comunidades (Bawa 1974, Real, 1983).

De acordo com Bawa (1990) a maior diversidade destes sistemas de polinização nas Angiospermas pode ser encontrado nas plantas de florestas tropicais. No entanto, padrões semelhantes de diversidade de sistemas de polinização, e reprodução predominantemente xenogâmica, parecem existir também na região do cerrado (Oliveira, 1991).

No presente trabalho desenvolveram-se estudos com uma espécie pertencente a família Vochysiaceae. Nos cerrados, a família tem sido reconhecida como uma das mais importantes e características (Goodland 1971, Furley & Ratter 1988). Esta família é relativamente pequena, com cerca de 200 espécies e é predominantemente Neotropical (Barroso 1984). A família tem sido subdividida em dois grupos básicos: a tribo Erismae, com dois gêneros, sendo que um deles ocorre fora das Américas, e Vochysiae com quatro gêneros neotropicais. Nos cerrados são encontradas espécies dos quatro gêneros desta última tribo (Stafleu 1948, Barbosa 1983).

As Vochysiaceae caracterizam-se principalmente por um androceu com apenas um estame e um cálice pentalobado com um dos lobos calcarado. O número de elementos da corola mostra uma tendência a redução. Das cinco pétalas básicas de Salvertia, à três pétalas desiguais em Vochysia e uma única pétala em Callisthene e Qualea (Barroso 1984, Stafleu 1948).

A biologia de reprodução das Vochysiaceae foi estudada para algumas espécies com resultados variados (Barbosa, 1983 e Oliveira, 1991, Oliveira & Gibbs, 1994, Oliveira 1994a). Algumas espécies de Qualea e Vochysia são melitófilas e com sistemas de reprodução predominantemente xenogâmicos (Barbosa, 1983 e Oliveira & Gibbs 1994). Salvertia convalliodora, de um gênero monotípico e endêmico de cerrado, apresenta uma adaptação a espingofilia, que estaria associada a sua estrutura floral mais primitiva, quando comparada com outros gêneros de Vochysiaceae na região (Oliveira, 1994a).

O quarto gênero ocorrendo na região de Uberlândia, o gênero Callisthene, abrange oito espécies, cuja distribuição é limitada a América do Sul e é encontrado particularmente na região amazônica (Stafleu, 1952). Callisthene major, é uma espécie que ocorre em cerrados e florestas do Brasil Central, inclusive em remanescentes florestais no Município de Uberlândia-MG. A espécie possui hábito arbóreo, com folhas simples, opostas, tronco crasso, ramos tortos. Do ponto de vista econômico, produz madeira que é ótima para carvão e caibros, sendo que sua casca tem uso medicinal e produz um corante amarelo (Pio-Corrêa, 1969).

Na tentativa de contribuir para a obtenção de uma visão do comportamento reprodutivo de espécies da família Vochysiaceae no município de Uberlândia, este trabalho tem por objetivo estudar o sistema de polinização e reprodução da espécie Callisthene major.

MATERIAL E MÉTODOS

ÁREAS DE ESTUDO: O estudo foi realizado no período de agosto de 1992 a outubro de 1994, no Município de Uberlândia, em duas áreas de ocorrência da espécie; áreas de matas mesófila.

Uma dessas áreas, a Fazenda Experimental do Glória, propriedade da Universidade Federal de Uberlândia, e a outra área, Parque do Sabiá, pertencente a FUTEL – Fundação Uberlandense de Turismo Esporte e Lazer.

A Fazenda Experimental do Glória situa-se a 12 Km do centro da cidade de Uberlândia e possui uma área de 685 ha. A maior parte da Fazenda destina-se a atividades agropastoris, restando uma pequena reserva de mata mesófila, com cerca de 30 ha, que protege as nascentes e as margens do Córrego do Glória. A espécie em estudo, apresenta densidade de 22 indivíduos por hectare, ocorrendo entre as 35 espécies de maior importância nesta mata. (Araújo, 1992)

O Parque do Sabiá situa-se no perímetro urbano do município de Uberlândia. Este inclui remanescentes florestais compostos por uma mata mesófila semidecídua e o restante, por cerradão e mata de galeria, totalizando 20 hectares. Possuindo ainda uma área constituída pela vereda Nesta área, Callisthene major apresenta-se como a oitava em índice de valor de importância (IVI) e uma densidade de 43 indivíduos por hectare. Esta espécie possui poucos indivíduos de grande porte na área, que estão distribuídos de forma irregular. (Guilherme, 1994).

Foram feitas nestas duas áreas, visitas periódicas de agosto de 1992 a outubro de 1994, onde foi possível verificar a época de floração da espécie e coletar material fértil para fixação em FAA 50% e herborização. Foram feitos ainda neste período os estudos reprodutivos no campo.

FENOLOGIA: Para estudos fenológicos de Callisthene major foram escolhidos 10 indivíduos adultos, localizados no Parque do Sabiá. Cada indivíduo foi etiquetado com placa metálica para acompanhamento. Esses indivíduos forneceram dados quantitativos sobre a fenologia da espécie e foram visitados semanalmente no período de 7 de abril a 28 de outubro de 1994. Nos anos anteriores, 1992 e 1993, foram feitas apenas observações fenológicas não quantitativas.

Em cada indivíduo foram observadas cinco fenofases: brotação, botões, floração, frutificação e caducifolia.

Considerou-se como período de brotação o aparecimento dos primórdios foliares até folhas de coloração verde clara e com aproximadamente 3/4 do tamanho de uma folha adulta. Botões, como o período de aparecimento dos primeiros botões florais até a véspera da abertura. Caracterizou-se como período de floração, quando as flores estavam abertas e eram flores de um dia, ou seja, quando estas estavam ainda com a pétala. Considerou-se como período de frutificação, o início do desenvolvimento do fruto até frutos maduros prontos para serem dispersos. Considerou-se como período de caducifolia, quando as folhas das árvores caíam com facilidade e quando eram observados galhos com espaços vazios, ou seja, faltando folhas.

Estas observações dos eventos fenológicos foram feitas visualmente através de notas quantitativas, que indicaram a intensidade da fenofase, como indicado abaixo:

Brotação	0-ausência de brotação 1-pouco brotação (1 a 10 ramos) 2-média brotação (10 a 50 ramos) 3-muita brotação (mais de 50 ramos)
Botões e flores	0-ausência 1-pouco(1 a 10 unidades) 2-médio(10 a 100 unidades) 3-muito(mais de 100 unidades)
Frutos	0-ausência 1-poucos (1 a 10 unidades) 2-médio (10 a 100 unidades) 3-muitos (mais de 100 unidades)
Caducifolia	0-ausência 1-pouca 2-muita 3-total

Essa metodologia foi adaptada daquela utilizada por Zanetti (1993) para observar a fenologia de Caesalpinia peltophoroides.

BIOLOGIA FLORAL: O estudo da biologia floral envolveu observações sobre a morfologia floral em material fresco e flores coletadas e fixadas em álcool a 70%.ou em FAA a 50%. Uma parte do material botânico coletado foi herborizado e depositado no herbário de botânica da Universidade Federal de Uberlândia. Para os estudos morfológicos foram feitas observações em lupa. O material fixado também foi observado em câmara clara, onde foi possível fazer desenhos de suas principais características. Algumas flores foram fotografadas a fresco com objetivo de complementar o estudo.

Para determinar o horário de antese, alguns botões foram marcados no pedicelo com cola ou linha colorida. As observações desses mesmos botões, serviram também para determinar a duração das flores.

A quantidade de néctar produzido pelas flores abertas, foi medida utilizando-se de micropipeta de 20 μ l, que eram inseridas no calcar das mesmas. Para cada medida de quantidade de néctar utilizou-se de 4 a 12 flores previamente ensacadas e a concentração de açúcar, em equivalentes de sacarose (sensu Inouye et al. 1980), foi determinada através de refratômetro de mão. Como a concentração de equivalentes de sacarose foi muitas vezes superior a 50%, diluiu-se o néctar em uma quantidade igual de água.

A receptividade do estigma foi verificada através de polinizações manuais e análise em microscopia de fluorescência descrita a seguir.

Também foi determinada a viabilidade do polén a partir de grãos de anteras de quatro flores corados com carmin acético.(Radford et al 1974).

SISTEMA DE REPRODUÇÃO: Para determinar o sistema de reprodução foram efetuados alguns tratamentos de polinizações controladas. Estes tratamentos consistiram em auto-polinização e polinização cruzada, adaptados de Bawa (1974) e semelhantes aos utilizados por Barbosa (1983).

Para isso, as flores foram isoladas em estágio de botão em saco de tecido de organza de nylon e manipuladas para os tratamentos. Na auto-polinização, flores previamente ensacadas foram polinizadas manualmente com o polén da própria flor; e na polinização cruzada o polén era proveniente da flor de um outro indivíduo da mesma espécie. Nestes tratamentos, o polén foi transferido para o estigma com auxílio de uma pinça ou com a própria antera da flor.

Após as manipulações, as flores tratadas eram marcadas no pedicelo ou na folha adjacente com cola Polar colorida (cola atóxica de PVA) e linha colorida que indicavam, respectivamente, o tipo de tratamento e a data que foi efetuada a polinização. Após as polinizações as flores foram reensacadas e mantidas assim até passar o período de receptividade.

Algumas flores foram ainda marcadas e deixadas livres para que nelas se processassem polinizações naturais (flores controle).

Os estudos sobre o sistema reprodutivo foram completados com observações sobre o crescimento de tubo polínico nos estiletos. Para estas observações, pistilos foram fixados em intervalos de 24, 48, 72 h e uma semana, após auto-polinização artificial e polinização cruzada; e analisados em microscópio de fluorescência, de acordo com procedimento de Martin (1959). Neste estudo, os pistilos foram colocados em uma solução de NaOH 9N e levados à estufa, onde permaneceram por 10 minutos. Depois foram cuidadosamente lavados e corados com algumas gotas de solução de anilina, montados em lâminas e observados em microscópio de epi-fluorescência (Carl Zeiss-Jena) na faixa de luz ultra-violeta de 450nm. Fotografias foram feitas no mesmo microscópio utilizando adaptador para ocular e camera Nikon F-301.

Para observação de eventos pós-fertilização foram utilizadas técnicas de diafanização dos óvulos (Herr,1971) e observações em microscopia de interferência (Microscópio Nikon Microphot com Normaski apparatus - DIC).

VISITANTES : Os visitantes foram observados em suas atividades nas flores , na qual seu comportamento foi descrito a partir de observações visuais diretas e, quando possível, foram fotografados. As identificações foram feitas diretamente no campo e a partir das fotografias.

RESULTADOS

FENOLOGIA: Os eventos fenológicos referentes a caducifolia, brotamento, a presença de botões, floração e frutificação são apresentados na Fig. 1.

Nota-se que em Callisthene major a caducifolia ocorre a partir de junho até setembro, apresentando dois picos de maior intensidade no mês de agosto. Fig.1.

O rebrotamento de folhas iniciou-se em julho logo após o início da caducifolia, e concentrou-se principalmente nos meses de agosto a setembro. Atingiu seu ponto máximo em agosto, caindo abruptamente no mês de setembro, voltando a ter uma intensidade menor em outubro, como mostra o gráfico (Fig.1). Isto ocorreu devido ao rebrotamento de um único indivíduo.

O aparecimento dos primeiros botões florais, ocorreu no início de agosto e a floração estendeu-se de agosto até final de setembro, onde ocorreu o pico de floração (Fig.1.). A floração é rápida e relativamente assincrônica, pois nem todos os indivíduos floresceram simultaneamente.

Em setembro foi possível observar os primeiros frutos, que demoraram uma semana para iniciar seu desenvolvimento. No entanto, a presença de frutos decorrentes da floração passada, pôde ser observada desde o início do estudo fenológico, indicando que os frutos levam quase um ano para completar seu desenvolvimento. Os frutos são cápsulas secas loculicidas com três sementes arredondadas dispersas pelo vento (Fig. 3g)

BIOLOGIA FLORAL: Callisthene major, apresenta porte arboreo de 4 a 10 m de altura, com folhas simples, opostas de tamanho pequeno, tronco crasso, ramos tortos. A floração é muito rápida e deu-se nos meses de Agosto a Setembro de 1994, e é assincrônica entre os indivíduos. As plantas produzem ramos delgados com folhas pequenas dispostas aos pares que se assemelham muito a folhas pinadas. As flores aparecem aos pares nas axilas das folhas, e os botões se diferenciam cedo durante a brotação. As folhas são persistentes durante a floração (Fig.2a)

As flores apresentam antese matutina, iniciando-se aproximadamente por volta de 06:00 h (Paulo Oliveira, obs. pessoal) e possui um odor suave. Durante a análise morfológica, verificou-se que as flores são hermafroditas, zigomorfas,

Intensidade das
fenofases (Σ)

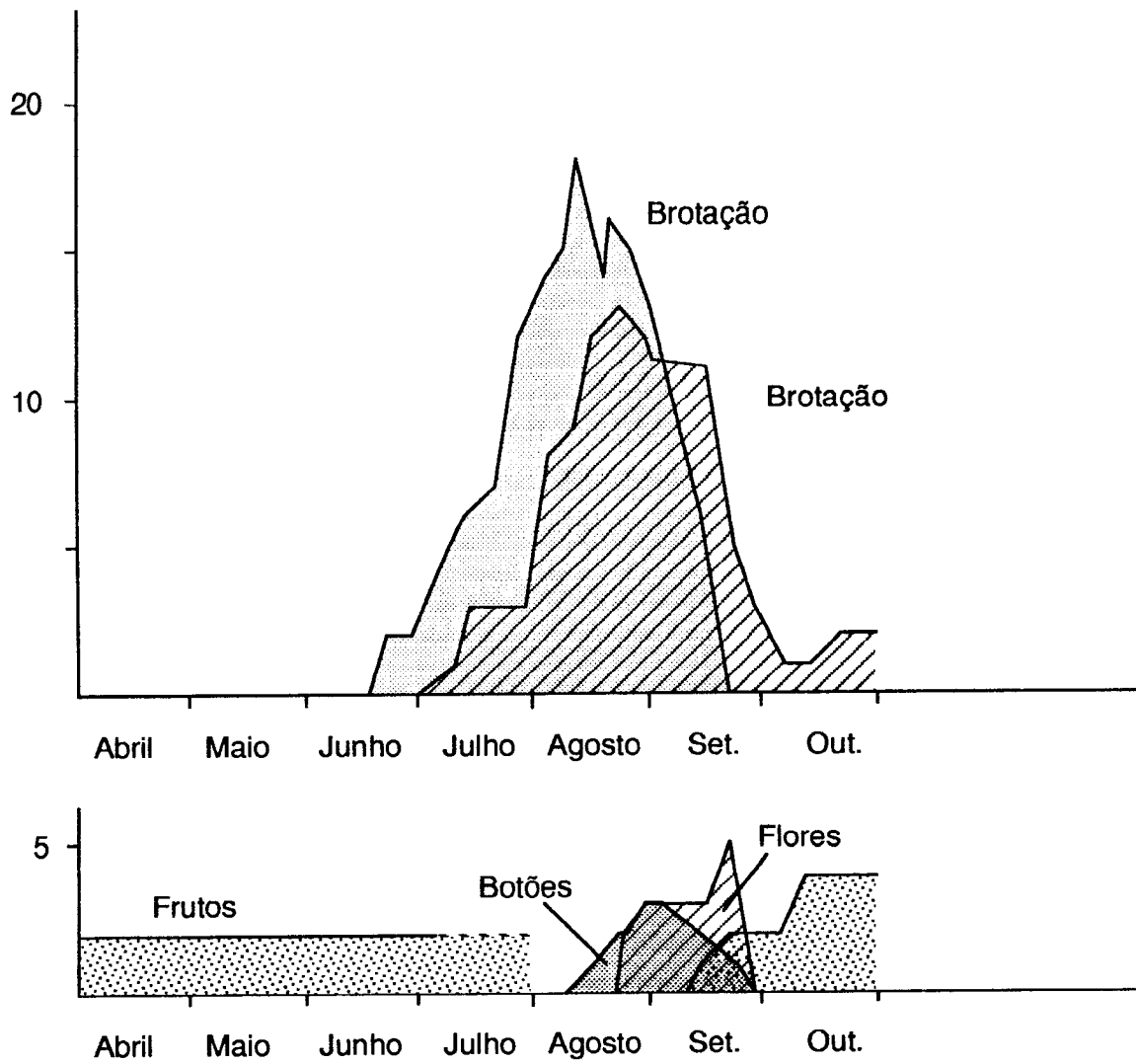


Figura 1. Fenograma de Callisthene major durante o período de abril a outubro de 1994. Os dados de intensidade de cada fenofase são somatórias das notas atribuídas a cada indivíduo (ver metodologia para maiores detalhes).



Fig. 1. (a) Flower of *Clivia* (1974); (b) flower of *Clivia* (1974); (c) flower of *Clivia* (1974); (d) flower of *Clivia* (1974).

pequenas e frágeis. O cálice é composto de 5 sépalas pilosas, sendo uma maior, oposta a pétala que recobre a antera e o estilete. Esta sépala basal apresenta um calcar ou esporão na base com 3 mm (Fig.3a,e). Possuem corola com uma única pétala branca, unguiculada, orbicordada e caniculada na base (Fig.2a e 3b). Esta pétala possui guia de néctar amarelado que atrai seus polinizadores para o local de produção de néctar no calcar (Fig. 2a). Em três oportunidades foram encontradas flores com mais de uma pétala desenvolvida (Fig. 3h,i), mas estes eventos foram raros e as flores apresentavam mal formação, inclusive com ausência de calcar.

As flores apresentam um único estame com uma antera alongada (Fig. 3d). Observou-se que o óvário é súpero, trilocular, possuindo de 6 a 8 óvulos (n=23). O estilete é delgado e o estigma único captado. A antera e o estigma ficam em lados opostos na flor aberta e a alternância da posição relativa em flores diferentes (Fig. 3f) dá origem a enantiostilia (sensu Webberling 1992) com flores sinistróginas e destróginas (Barbosa 1983).

A flor dura um dia e a pétala normalmente cai no início do segundo dia. O pólen é liberado logo após a antese da flor, mas verificou-se que em alguns botões já havia pólen antes da abertura.

O recurso oferecido pelas flores aos visitantes é o néctar, que é produzido no calcar em pequenas quantidades, 0,64 μ l (n=19) e com concentração em média de 56,8% de equivalentes de sacarose (Tab 1).

Tabela 1. Resultados das medidas de concentração de néctar (em equivalentes de sacarose) para flores de Callisthene major.

Medidas	Nº de flores utilizadas	Volume por flor (μ l)	Equivalentes de sacarose (%)
1	4	0.64	66
2	5	0.64	58
3	7	0.55	52
4	7	0.46	52
5	4	0.32	50
6	7	0.46	58
7	12	0.27	76
8	7	0.83	48
9	5	0.52	52
10	5	0.64	54
11	9	0.29	62
12	10	0.32	54

SISTEMA DE REPRODUÇÃO: Os resultados das polinizações controladas estão apresentados na Tabela 2. Estes resultados indicam uma espécie basicamente xenogâmica com índice de auto-incompatibilidade (ISI) de 0,18. Entretanto, as flores auto-polinizadas que efetivamente se desenvolveram formaram frutos perfeitos. Em um ramo mantido isolado houve formação de frutos, indicando que a auto-polinização automática pode ser frequente na espécie.

Tabela 2. Resultados das polinizações controladas, efetuadas para *Callisthene major*, no anos de 1992 e 1993, e o índice de auto-incompatibilidade obtidos a partir destes resultados.

Tratamentos	Nº de flores polinizadas-	Nº de frutos formados	Sucesso (%)
Auto-polinização	60	2	3,33
Polinização cruzada	60	11	18,33
Controle	101	29	28,71
Total	221	42	50,37

ISI* = 0,18

*Índice de auto-incompatibilidade (% de frutos de auto-polinizados/% de frutos de polinização cruzada). 0,25 seria o limite para plantas auto-incompatíveis (Bullock, 1985).

Em observações de pistilos fixados e analisados em laboratório no microscópio de fluorescência, observou-se que havia uma grande quantidade de grãos de pólen germinando nos estigmas.

Os tubos polínicos de polinização cruzada e auto-polinização apresentam comportamento semelhante, germinando em grandes quantidades (Fig 4b,c). Eles crescem até atingir o óvulo em 24 ou 48hs. No ovário, enovelam-se e as vezes parecem se ramificar próximos da micrópila dos óvulos (Fig.4d). Poucas fertilizações foram observadas até 72h, o que sugere que os óvulos não estão todos receptivos neste momento.

A fertilização do óvulo, contudo pôde ser observada em pistilos de auto-polinização de 48 h (Fig. 4e,f,g) e após uma semana. Observações em microscopia de interferência permitiram acompanhar tubos polínicos no interior do óvulo (Fig. 4h).

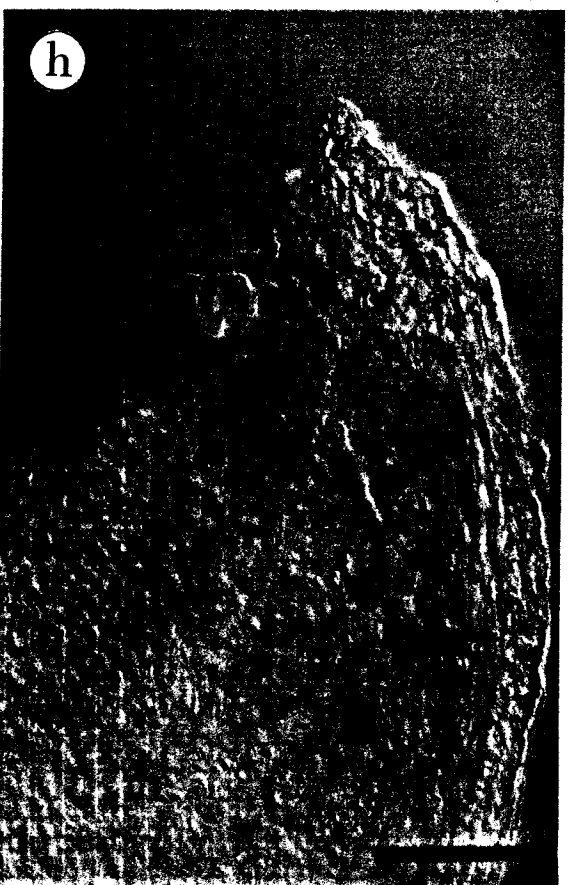
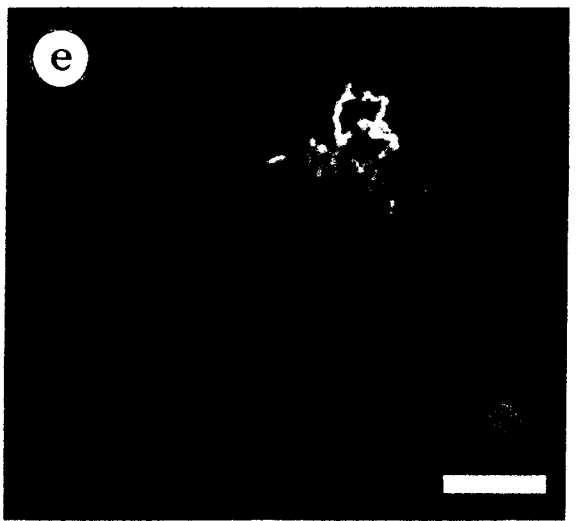
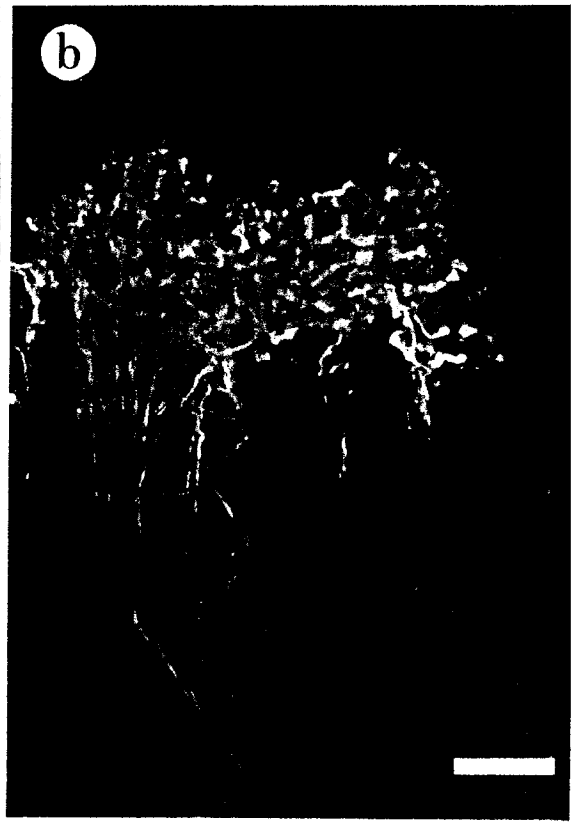


Tabela 3. Resultados de observações em microscopia de fluorescência de pistilos fixados em diferentes intervalos após a polinização.

Tratamentos	Auto-polinização				Polinização cruzada			
	24h	48h	72h	semana	24h	48h	72h	semana
Pistilos observados	09	07	05	04	08	06	03	05
Estigma com polén germinando	02	02	00	03	04	05	03	05
Base do estilete	02	02	00	03	04	05	01	01
Tubos polínicos no ovário	01	02	00	02	01	03	00	01
Tubos polínicos no óvulo	00	01	00	02	00	00	00	01

VISITANTES: Os visitantes observados nas flores de Callisthene major eram sobretudo abelhas e borboletas.

Apis mellifera foi o visitante mais comum e abelhas pequenas com tamanho semelhante, como Trigona sp.(Meliponinae) e Exomalopsis sp (Anthophoridae), devem ser os polinizadores eficazes. Estas abelhas visitam as flores pousando na pétala. Elas entram abaixo da sépala maior, procurando o acesso ao néctar alojado no calcar da flor (Fig. 2c,d). Ao sugar o néctar, as abelhas levantam a sépala maior que recobre o estilete e estame, tocando-os e sujando a cabeça e o tórax de polén, como pôde ser observado muitas vezes no campo. As visitas são rápidas e em muitas flores em um mesmo indivíduo.

As borboletas foram vistas algumas vezes visitando as flores e ao que parece não podem ser consideradas como polinizadores. Elas pousam na pétala e inserem a probóscide no calcar. para sugar o néctar aí alojado, e desta maneira não tocam no aparelho reprodutivo da planta, uma vez que para tocá-los teriam que ter um comportamento semelhante ao das abelhas .

DISCUSSÃO

FENOLOGIA: A espécie Callisthene major, apresentou queda de folhas e rebrotamento na estação seca, e este rebrotamento parece ser sincrônico entre os indivíduos. Morellato (1989) sugere que a ocorrência sincrônica de brotamento, talvez torne menor a possibilidade de desfolhação excessiva por fitófagos num único indivíduo.

Segundo Rizzini (1979) a queda foliar representaria uma adaptação vegetativa contra a perda de água e também para a sobrevivência da espécie por um período desfavorável, havendo translocação de nutrientes das folhas para outros tecidos. Morellato (1991 apud Amaral 1992) cita a deficiência hídrica como fator associado a queda de folhas na Reserva de Santa Genebra. Nos trópicos a precipitação é citada como o principal fator de influência dos padrões fenológicos, sendo a temperatura e o fotoperíodo considerados como reguladores e indutores de crescimento e reprodução (Bawa, 1983).

Em Callisthene, entretanto, não ocorre caducifolia típica. Este comportamento de queda de folhas e rebrotamento quase simultâneos é chamado por Sarmiento & Monasterio (1983) de brevi-caducifolia, e é um comportamento frequentemente observado em plantas de cerrado (Oliveira 1991). Nestes casos a caducifolia é vista como um processo de troca sincrônica das folhas e mesmo ocorrendo durante a estação seca, não está diretamente relacionada com estresse hídrico como no caso de plantas caducifólias típicas.

A precipitação parece não ser responsável pela rebrota em Callisthene major, cujo brotamento ocorre durante a seca. No caso de C. major, outros fatores como a temperatura e o fotoperíodo, podem estar atuando na sincronização da queda e rebrota das folhas.

Outro fator considerado por Reich & Borchert (1984) como indutor do brotamento é a queda das folhas, a qual reduziria a perda de água da planta por transpiração havendo assim melhor aproveitamento da água disponível para reidratação dos ramos sem folhas e para a produção de brotos ainda na estação seca. Este fator também pode ser responsável pelo brotamento dos ramos de Callisthene major, pois nesta espécie logo após a queda das folhas ocorre a rebrota.

Pôde ser observado durante as observações fenológicas não sistemáticas, que alguns indivíduos parecem florescer anualmente, tendo uma floração em um curto

período de tempo e assincrônica entre os indivíduos . Outros apenas apresentaram crescimento vegetativo. Valio (1986a,b) sugere que em muitas espécies, mesmo em indivíduos de mais idade, há um certo estágio de prontidão ou maturidade para a floração. Segundo o autor, este mecanismo não é bem conhecido e difere amplamente de espécie para espécie.

A floração é rápida, com duração de uma semana e assincrônica entre os indivíduos. Este tipo de floração rápida, com disponibilidade de flores num curto período, parece atrair principalmente visitantes com sistemas de recrutamento, como as abelhas sociais (Apis mellifera e Trigona sp.), que foram observadas na planta (veja discussão abaixo)

Em espécies que florescem por longos períodos, as oportunidades para cruzamentos não são limitados ao tempo, como aquelas em que há um pequeno período de florescimento. Mas, a assincrônia pode aumentar a taxa de polinização cruzada no início ou no final da florada, quando a quantidade de flores disponível ao polinizador é menor. Isto o forçará a visitar maior número de agrupamentos ou plantas, elevando assim a taxa de polinização (Bawa,1983). O mesmo ocorre em Callisthene major, onde os indivíduos são assincrônicos e quando um indivíduo estava quase no final da floração, outro estava iniciando. Isto pode ter aumentado a polinização cruzada forçando, mesmo os visitantes com forrageamento social, a saírem de um indivíduo com pouco recurso e ir para outro com mais flores jovens.

BIOLOGIA FLORAL: Estudos feitos com outras espécies da família Vochysiaceae, mostraram que em Callisthene major, assim como espécies de Qualea, a corola compõem-se de uma única pétala e que as flores são de cor branca. Segundo Stafleu (1952), em monografia da família Vochysiaceae, Callisthene major possui uma única pétala e que pétalas rudimentares não foram encontradas por ele. Durante este trabalho foi possível observar três flores, que possuíam duas pétalas, um estilete e três estames. Estas quimeras, também observadas por Warming (apud Stafleu 1952) confirmam a idéia que a especialização na família levou a uma redução no número de elementos no perianto e ao número de estames

Uma outra característica observada na espécie, que é semelhante ao observado em Qualea spp (Barbosa 1983), foi a presença de enantiostilia, permitindo que o polinizador transfira o polén, por exemplo, das flores nas quais o estame encontra-se no lado direito para aquelas que têm o estigma do mesmo lado. De acordo com a autora, tal característica não implica necessariamente em polinização cruzada, já que as duas formas de flor podem ocorrer na mesma planta. Entretanto, este fato pode aumentar a probabilidade da ocorrência de polinização. A mesma situação ocorre em Callisthene.

De modo geral, as características apresentadas por esta espécie como zigomorfia, antese diurna e guia de néctar, estão associados a síndrome de melitofilia (Faegri & Van der Pijl 1979). A concentração de néctar encontrada está nos limites observados para plantas polinizadas por abelhas (Richards 1986). A diferença para outras Vochysiaceae estudadas até o momento é que as flores de Callisthene são

relativamente frágeis e com um calcar reduzido, que parece adaptar a flor à visitantes de pequeno porte.

VISITANTES: Os visitantes das flores de Callisthene major são sobretudo abelhas, e ao que parece abelhas sociais, como Apis mellifera e pequenas abelhas semelhantes a Apis, que fazem recrutamento, pois a floração é muito rápida.

Segundo Janzen (1980), abelhas sociais representam uma grande proporção das espécies de abelhas tropicais. Estas abelhas conseguem sinalizar a posição de uma fonte de alimento para as companheiras (ver Roubik 1989), e com isto conseguem responder muito mais rapidamente a mudanças de densidade de flores, que acontecem em plantas com brotação sincrônica. Em Vellozia squamata (Oliveira et al. 1991), um caso extremo de floração sincronizada parece impedir a utilização das flores por abelhas solitárias maiores. De acordo com Janzen (1980), abelhas sociais são especialistas em varrer o polén e néctar que foram deixados, ou ainda não foram colhidos por outras abelhas ou visitantes florais. Estas abelhas podem aproveitar pequenas quantidades de recursos como apresentado pelas flores de Callisthene. Tamanho das flores, quantidade e concentração da recompensa; e a imprevisibilidade dos recursos, provavelmente limita à polinização a estas abelhas pequenas. Ainda que capazes de aproveitar recursos em flores pequenas, como Dalbergia miscolobium (Oliveira 1991), abelhas solitárias de médio e grande porte não foram observadas mesmo em árvores muito floridas de Callisthene. Além de recrutar membros da colônia para fontes de alimento, abelhas sociais podem até defender território ao redor destes recursos. Estes fatores podem reduzir em muito a possibilidade de fluxo de polén de uma planta para outra.

Na espécie em estudo, o que parece acontecer, é que as abelhas visitam várias flores de uma planta e quando o recurso torna-se escasso, neste caso o néctar, as abelhas se dirigem para outra planta.

O tamanho do polinizador com relação ao tamanho da flor de Callisthene major e o comportamento dos visitantes, parece ser bastante importante, pois o visitante não pode ser nem muito grande, pois poderia acarretar a queda da flor que é pequena e muito frágil, e nem muito pequeno pois dessa forma não entrará em contato com a antera e o estigma que ficam abaixo da sépala maior. Sigrist (1992), em estudo de duas espécies de Dichorisandra menciona a importância do tamanho do polinizador com relação as flores, sendo que os visitantes não podem ser tão grandes como espécies de Xylocopa ou Bombus, sob pena de não poder penetrar na flor nem contactar as anteras. Oliveira-Filho & Oliveira (1988) em estudos com Solanum lycocarpum, também discutem a importância do tamanho adequado da abelha como polinizador.

SISTEMA DE REPRODUÇÃO: Os resultados das polinizações controladas nos mostra que a espécie Callisthene major é predominantemente xenógamica, e apresenta um ISI de 0,18. Contudo foram obtidos dois frutos de auto-polinização, sendo que estes tinham aspecto normal como os outros frutos. Não foi possível,

entretanto, saber se estes frutos produziram sementes ou não, porque foram perdidos antes de completar a maturação.

Bawa (1974) observou que alguns dos indivíduos de espécies arbóreas tropicais auto-incompatíveis produziram frutos em flores autopolinizados. Segundo aquele autor a existência de auto-compatibilidade numa determinada espécie aumentaria a probabilidade de ocorrer polinização, diante da falta ou imprevisibilidade de polinizadores. Em Callisthene major, uma das explicações para a formação dos frutos, pode ser a assincronia dos indivíduos, tornando imprevisível a presença dos polinizadores para trazer pólen de um indivíduo para outro.

O sistema de incompatibilidade foi calculado a partir do índice ISI, usado por Bullock (1985), baseado na porcentagem de frutos formados de auto-polinização sobre a de polinização cruzada. O índice baixo (0.18) apresentado por C. major mostra a necessidade da planta atrair um número mínimo de polinizadores especializados, para assegurar a polinização cruzada. Isto poderia ser feito com a produção de muitas flores e uma certa sincronia entre os indivíduos. A assincronia observada durante o período de estudo pode limitar a eficiência da polinização e frutificação.

Tubos polínicos de polinização cruzada e auto-polinização de Callisthene major, apresentaram comportamento semelhantes àqueles observados por Oliveira (1991) em espécies de Qualea. Nestas espécies os tubos cresciam até o ovário, formando enovelamento próximo a micrópila dos óvulos. A fertilização em Qualea, entretanto, só ocorria uma semana após a polinização. Nestas espécies, as fertilizações foram observadas tanto para polinização cruzada como auto-polinização (Oliveira 1991) e em Qualea cordata o desenvolvimento embrionário se iniciava mesmo em óvulos fertilizados por auto-polinização (S. Godoy-Aveiro, com. pessoal). Ao que parece Callisthene major, assim como espécies as de Qualea, apresenta mecanismo de incompatibilidade de ação tardia ao nível do óvulo. Esta situação tem sido encontrada em muitas árvores tropicais (Seavey & Bawa 1986), e contrasta com os mecanismos de incompatibilidade clássicos, onde os tubos polínicos de auto-polinização param de crescer em algum momento entre a germinação do pólen e a chegada do tubo polínico no ovário. Um sistema clássico foi observado para espécies de Vochysia (Oliveira & Gibbs 1994), com os tubos polínicos parando no segundo terço do estilete e apresentando deposições de calose típicas destes mecanismos de incompatibilidade. Em Callisthene, foi impossível definir exatamente onde ocorre a reação de incompatibilidade, mas as observações de tubos polínicos de auto-polinização no interior dos óvulos indicam que uma situação semelhante ao observado em Qualea deve estar acontecendo.

CONCLUSÃO

- Em Callisthene major, a floração é rápida e assincrônica entre os indivíduos, ocorrendo logo depois do início da brotação das folhas jovens. Este comportamento de brevi-caducifolia e durante a seca tem sido observado para outras plantas de cerrado e matas mesófilas.

- A espécie estudada apresenta características de melitofilia, como zigomorfia, antese diurna, guia de néctar; semelhantes a algumas espécies de Qualea e Vochysia estudadas no cerrado. Entretanto, as flores são fragéis e polinizadas por pequenas abelhas sociais, ao contrário de muitas espécies da família Vochysiaceae, que são visitadas por abelhas grandes pertencentes a família Anthophoridae

- A espécie é basicamente xenógama, como a maioria das espécies da família estudadas até o momento, e apresenta um sistema de incompatibilidade de ação tardia semelhante ao observado em espécies de Qualea. Xenogamia e incompatibilidade de ação tardia representam mais do que características da família, mas mecanismos reprodutivos largamente observados entre plantas tropicais

- O trabalho apresentado contém informações básicas que servirão para complementar um quadro geral sobre espécies da família ,onde poderemos ter uma visão de como os sistemas de polinização evoluíram dentro da Vochysiaceae.

BIBLIOGRAFIA

- Amaral, M.E.C. 1992. Ecologia Floral de Dez Espécies da Tribo Bignonieae (Bignoniaceae), em uma Floresta Semidecídua no Município de Campinas, SP. Tese de Doutorado, UNICAMP. Campinas-SP.
- Araújo, G.M. 1992. Composição da estrutura e teor de nutrientes nos solos e nas folhas de espécies arbóreas de duas matas mesófilas semidecíduas no Triângulo Mineiro. Tese de doutorado, UNICAMP. Campinas-SP
- Barbosa, A.A. 1983. Aspectos da ecologia reprodutiva de três espécies de Qualea (Vochysiaceae) de uma cerrado de Brasília. - D.F. Tese de Mestrado, Universidade de Brasília.
- Barroso, G.M. 1984. Sistemática de Angiospermas do Brasil. Vol. 2. Imprensa Universitária. Viçosa-MG.
- Bawa, K.S. 1974. Breeding systems of tree species of a lowland tropical community. *Evolution* 28: 85-92.
- Bawa, K.S. 1983. Patterns of flowering in tropical plants. *In* Handbook of Experimental Pollination Biology (C.E. Jones, & R.J. Little ed.). Van Nostrand Reinhold Co., New York. p. 394-410.
- Bawa, K.S. 1990. Plant-pollinator interactions in tropical rain forests. *Annu.Rev.Ecol.Syst.* 21: 399-422.
- Bertin, R.I. 1989. Pollination biology. *In* Plant-Animal Interaction (W.G. Abrahamson ed.). McGraw-Hill, New York. p. 23-86.
- Bullock, S.H. 1985. Breeding systems in the flora of a tropical deciduous forest. *Biotropica* 17: 287-301.
- Faegri, K., & Pijl, L.V.d. 1979. The Principle of Pollination Ecology. Pergamon Press. New York.
- Furley, P.A., & Ratter, J.A. 1988. Soil resources and plant communities of the central Brazilian cerrado and their development. *J. Biogeogr.* 15: 97-108.
- Gibbs, P.E. 1990. Self-incompatibility in flowering plants: a neotropical perspective. *Revta.bras.Bot* 13: 125-136.
- Goodland, R. 1971. A physiognomic analysis of the cerrado vegetation of Central Brazil. *J.Ecol.* 59: 411-419.
- Guilherme, F.A.G. 1994. Estrutura fitossociológica das essências arbóreas nativas de um remanescente vegetal urbano, Parque do Sabiá, Município de Uberlândia, MG. Relatório Final de Atividades de Bolsista de Iniciação Científica, Universidade Federal de Uberlândia.
- Heiser, C.B. 1973. Sementes para a Civilização. EDUSP. São Paulo.
- Herr, J.M. 1971. A new clearing-squash technique for the study of ovule development in Angiosperms. *Amer.J.Bot.* 58: 785-790.

- Inouye, D.W., Favre, N.D., Lanun, J.A., Levine, D.M., Meyers, J.B., Roberts, M.S., Tsao, F.C., & Wang, Y.Y. 1980. The effect of non-sugar nectar constituents on estimates of nectar energy content. *Ecology* 61: 992-995.
- Janzen, D.H. 1980. *Ecologia Vegetal nos Trópicos*. EDUSP. São Paulo.
- Martin, F.N. 1959. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Tech.* 34: 125.
- Morellato, L.P., Rodrigues, R.R., Leitão-Filho, H.F., & Joly, C.A. 1989. Estudo comparativo da fenologia de espécies arbóreas de florestas de altitude e floresta mesófila semidecídua na Serra do Japi, Jundiá-SP. *Revta.bras.Bot* 12: 71-84.
- Oliveira, P.E. 1991. The Pollination and Reproductive Biology of a Cerrado Woody Community in Brazil. PhD, University of St. Andrews (Scotland).
- Oliveira, P.E. 1994a. Polinização e sistema de reprodução de Salvertia convallariodora (Vochysiaceae): uma espécie de cerrado polinizada por mariposas (Lepidoptera-Sphingidae). Manuscrito submetido a Revista Brasileira de Botânica
- Oliveira, P.E. 1994b. Sistemas de Incompatibilidade: idéias a partir de plantas de cerrado. Manuscrito apresentado no XLV Congresso Nacional de Botânica e preparado para publicação
- Oliveira, P.E., Gibbs, P.E., & Bianchi, M. 1991. Pollination and breeding biology of Vellozia squamata (Liliales-Velloziaceae): a species of the Brazilian cerrados. *Botanica Acta* 104: 392-398.
- Oliveira, P.E., & Gibbs, P.E. 1994. Pollination and breeding systems of some Vochysia species (Polygalales-Vochysiaceae) in Central Brazil. *J.Trop.Ecol.* (no prelo)
- Oliveira-Filho, A.T., & Oliveira, L.C.A. 1988. Biologia floral de uma população de Solanum lycocarpum St. Hil. (Solanaceae) em Larvas, MG. *Revta.brasil.Bot.* 11: 23-32.
- Pio-Correia, M. 1969. *Dicionário das Plantas Uteis do Brasil e das Exóticas Cultivadas*. Ministério da Agricultura – IBDF. Rio de Janeiro. pp 343.
- Raven, P.H., Evert, R.F., & Curtis, H. 1985. *Biologia Vegetal*. Guanabara Dois. Rio de Janeiro.
- Real, L. 1983. Introduction. *In* Pollination Biology (L. Real ed.). Academic Press., Orlando (Florida). p. 1-5.
- Reich, P.B., & Borchert, R. 1984. Water stress and tree phenology in a tropical dry forest in the lowlands of Costa Rica. *J.Ecol.* 72: 61-74.
- Richards, A.J. 1986. *Plant Breeding System*. George Allen & Unwin. London.
- Rizzini, C.T. 1979. *Tratado de Fitogeografia do Brasil*. HUCITEC/EDUSP. São Paulo.
- Roubik, D.W. 1989. *Ecology and Natural History of Tropical Bees*. Cambridge University Press. Cambridge.
- Sarmiento, G., & Monasterio, M. 1983. Life forms and phenology. *In* Ecosystems of the World: Tropical Savannas (F. Bouliere ed.). Elsevier, Amsterdam. p. 79-108.
- Seavey, S.R., & Bawa, K.S. 1986. Late-acting self-incompatibility in Angiosperms. *Bot. Review* 52: 195-219.
- Sigrist, M.R. 1992. Fenologia, biologia floral, mecanismos de polinização e sistema reprodutivo de duas espécies simpátricas de Dichorisandra (Commelinaceae). Tese de Mestrado, UNICAMP.
- Stafleu, F.A. 1948. A monography of the Vochysiaceae. I. Salvertia and Vochysia. *Meded.Bot.Mus.Utr.* 95: 397-540.
- Stafleu, F.A. 1952. A monography of the Vochysiaceae. II. Callisthene. *Acta Bot. Neerl.* 1: 222-242.
- Valio, I.F.M. 1986a. Frutificação. *In* Fisiologia Vegetal (M.G. Ferri ed.). EPU-EDUSP, São Paulo. p. 313-342.
- Valio, I.F.M. 1986b. Reprodução em plantas superiores. *In* Fisiologia Vegetal (M.G. Ferri ed.). EPU-EDUSP, São Paulo. p. 281-312.

- Weberling, F. 1992. Morphology of Flowers and Inflorescences. Cambridge University Press. Cambridge.
- Zanetti, M.R. 1993. Polinização e Reprodução de Caesalpinia peltophoroides (Leguminosae-Caesalpinioideae). Monografia de Bacharelado. Departamento de Biociências. Universidade Federal de Uberlândia.