



CAROLINE CAMBRAIA FURTADO CAMPOS

**BIOLOGIA REPRODUTIVA DE *Tibouchina*
heteromalla COGN. (MELASTOMATACEAE) E
Ocimum selloi BENTH (LAMIACEAE)**

LAVRAS-MG

2010

CAROLINE CAMBRAIA FURTADO CAMPOS

**BIOLOGIA REPRODUTIVA DE *Tibouchina heteromalla* COGN.
(MELASTOMATACEAE) E *Ocimum selloi* BENTH (LAMIACEAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do programa de Pós-graduação em Ecologia Aplicada, área de concentração em Ecologia e Conservação de Recursos em Paisagens Fragmentadas e Agrossistemas, para a obtenção do título de Mestre.

Orientadora

Dra. Rosângela Alves Tristão Borém

Co-orientadora

Dra. Mariana Esteves Mansanares

LAVRAS - MG

2010

**Ficha Catalográfica Preparada pela Divisão de Processos Técnicos da
Biblioteca da UFLA**

Campos, Caroline Cambraia Furtado.

Biologia reprodutiva de *Tibouchina heteromalla* Cogn. (Melastomataceae) e *Ocimum selloi* Benth. (Lamiaceae) / Caroline Cambraia Furtado Campos. – Lavras : UFLA, 2010.

83 p. : il.

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Lavras, 2010.

Orientador: Rosângela Alves Tristão Borém.

Bibliografia.

1. Autógamas. 2. Alógamas. 3. Conservação. 4. Polinização. 5. Sistema reprodutor. I. Universidade Federal de Lavras. II. Título.

CDD – 583.0446

CAROLINE CAMBRAIA FURTADO CAMPOS

**BIOLOGIA REPRODUTIVA DE *Tibouchina heteromalla* COGN.
(MELASTOMATACEAE) E *Ocimum selloi* BENTH (LAMIACEAE)**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Lavras, como parte das exigências do programa de Pós-graduação em Ecologia Aplicada, área de concentração em Ecologia e Conservação de Recursos em Paisagens Fragmentadas e Agrossistemas, para a obtenção do título de Mestre.

APROVADA em 27 de setembro de 2010.

Dra. Milene Faria Vieira	UFV
Dr. José Marcio Rocha Faria	UFLA

Dra. Rosângela Alves Tristão Borém
Orientadora

Dra. Mariana Esteves Mansanares
Co-orientadora

LAVRAS – MG

2010

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente aos meus pais, por todo apoio e amor incondicional para que esta vitória fosse conseguida.

Aos meus Tios, Tias, e Avós por todo carinho e atenção proporcionado.

À minha orientadora, Profa. Rosângela Alves Tristão Borém, que me abriu as portas na UFLA, proporcionando grande aprendizado e tornando possível a conclusão deste mestrado. Além de se transformar em uma grande amiga e acima de tudo uma mãe de coração.

À co-orientadora, Profa. Mariana Esteves Mansanares, que apareceu em meu mestrado para complementar de forma fundamental este trabalho, acabando por se transformar em grande conselheira e amiga e um exemplo a ser seguido.

À Profa. Milene Faria Vieira por aceitar a participação na defesa de dissertação e sugestões.

Ao Prof. José Márcio, por disponibilizar o laboratório de Sementes Florestais e aceitar a participação na defesa de dissertação.

À Capes pela concessão da bolsa de estudos durante todo o período do mestrado. Ao programa de Pós-Graduação em Ecologia Aplicada/UFLA. Aos professores do Setor de Ecologia/UFLA e Departamento de Engenharia Florestal/UFLA, pela grata convivência e ajuda. Às secretárias Thaíza e Nelzy pelo apoio oferecido.

Aos amigos de curso e do Laboratório de Ecologia Vegetal e de Sementes Florestais, Daniel Pifano, Gabriel (Gazim), Carol Gusmão, Patricia, Jaqueline, Vitor, Alexandre, Arthur, Elton, Ana Cristina, Grazielle, Giuslan, Felipe, Ligiane, Lisiane, Leopoldo, Thais, Érica, Gabriel, Tito, Cristina, Eleonora, Gabriela, Cíntia, Nara, Carolzinha, Nayara, Daniel Quedes, Geovany, Rute, Renan, Tati, Ana, Janice, Olívia e Wilson sem os quais esta dissertação não seria completa. As amigas e irmãs Patrícia e Larissa por todo companheirismo e pelos bons momentos vividos. E aos meus grandes amigos da vida que de maneira indireta propiciaram alegrias que influenciaram diretamente nesta etapa: Yara, Daniel Pifano, Adriana, Stephanie, Felipe, Ivo, Pedro, Bruno, Eduardo, Luís, Leonardo, Raphaella, Raphael, Pri, Gabriella, Daniela e Gaúxa.

RESUMO

O Brasil possui, aproximadamente, 23% das espécies vegetais existentes no planeta, apresentando, portanto, uma das maiores biodiversidade vegetal da Terra. No entanto, uma parte ínfima dessas plantas foi estudada, principalmente, ao que se refere ao sistema reprodutivo. O conhecimento da biologia reprodutiva (biologia floral e mecanismos reprodutivos da espécie) é essencial para o desenvolvimento de programas de melhoramento genético, compreensão do processo de domesticação e manejo sustentável, diminuindo o impacto negativo do extrativismo predatório. No intuito de elucidar algumas questões ecológicas das espécies que ocorrem em áreas de grande pressão antrópica, e ainda pouco estudadas, buscou-se entender os mecanismos reprodutivos: morfologia floral, abertura das floras, receptividade estigmática, viabilidade polínica, o sistema reprodutivo, produção de frutos e sementes, germinação das sementes e principais polinizadores das espécies, *Tibouchina heteromalla* Cogn. e *Ocimum selloi* Benth.. *T. heteromalla* foi estudada e coletada em campo rupestre no Parque Florestal Quedas do Rio Bonito, enquanto *O. selloi* foi cultivado em canteiros no Horto de Plantas Medicinais “Ervas e Matos” transplantados de populações coletadas em cerrados localizados na Cidade de Lavras e Luminárias. O estigma se encontrou receptivo após a antese para *T. heteromalla* e na pré-antese para *O. selloi*. A viabilidade polínica para *T. heteromalla* foi de 90% enquanto que para *O. selloi* foi de 97%. Tanto *Tibouchina heteromalla* quanto *O. selloi* apresentaram um sistema misto de reprodução e foram classificadas como autocompatíveis. A germinação se deu ao 6º dia em *T. heteromalla* e ao 7º dia em *Ocimum selloi* obtendo, respectivamente, uma média de 56% e 66% de sementes germinadas. Em *T. heteromalla* a polinização cruzada apresentou uma maior germinação (81%) em relação à autopolinização (20%). No entanto, *O. selloi* apresentou resultados contrários, sendo a autopolinização espontânea (75%) mais eficiente no processo germinativo do que a polinização cruzada espontânea (36,6). Em ambas espécies foram encontradas formigas forrageando que muito raramente chegam às flores. Os polinizadores foram *Xylocopa brasiliatorum* (*T. heteromalla*) e *Apis mellifera* (*O. selloi*). Os recursos alimentares oferecidos por *T. heteromalla* são: grão de pólen, tricomas glandulares e os estames, enquanto que em *O. selloi* são: grãos de pólen e néctar.

Palavras-chave: Sistema reprodutor. Autógamas. Alógamas. Conservação. Polinização.

ABSTRACT

Brazil has approximately 23% of plant species on the planet, and so presents one of the greatest plant biodiversity on Earth. However, a tiny proportion of these plants has been studied mainly in relation to the reproductive system. The knowledge of reproductive biology (floral biology and reproductive mechanisms of species) is essential for the development of breeding programs, understanding the process of domestication and sustainable management, reducing the negative impact of predatory extraction. To clarify some issues of ecological species that occur in areas of high human pressure and yet, few studies tried to understand the reproductive mechanisms: floral morphology, opening of floras, stigmatic receptivity, pollen viability, reproductive system, production of fruit and seeds seed germination and main pollinator species, *Tibouchina heteromalla* Cogn. and *Ocimum selloi* Benth .. *T. heteromalla* was studied and collected in rocky fields in the Parque Floretal Quedas do Rio Bonito, while *O. selloi* was grown in beds in the Garden of Medicinal Plants "Herbs and Matos" transplant of populations collected in savannas located in the city of Lavras and Luminaires. The stigma is receptive found after anthesis *T. heteromalla* and pre-anthesis *O. selloi*. Pollen viability for *T. heteromalla* was 90% while *O. selloi* was 97%. As far as *Tibouchina heteromalla*, *O. selloi* showed a mixed mating system and were classified as self-compatible. Germination took the 6th day on *T. heteromalla* and 7th day respectively in *Ocimum selloi* getting an average of 56% and 66% of seeds germinated. In *T. heteromalla* presented cross-pollination increased twinning (81%) compared to autopolinização (20%). However, *O. selloi* presented contrary results being spontaneous self-pa (75%) more efficient in the germination process than the spontaneous cross-pollination (36.6). In both species were found foraging ants that come very rarely the flowers. Pollinators were *Xylocopa brasiliatorum* (*T. heteromalla*) and *Apis mellifera* (*O.selloi*). Food resources by offering *T. heteromalla* are: pollen, glandular and stamens, whereas in *O. selloi* are: pollen and nectar.

Keywords: Reproductive system. Autogamous. Outcrossing plants. Conservation. Ollination.

LISTA DE TABELAS

ARTIGO 1

Tabela 1	Manual pollinization on flowers of <i>Tibouchina heteromalla</i> (Cogn.) (Melastomataceae) in Parque Florestal Quedas do Rio Bonito, Lavras- MG.....	42
Tabela 2	Percentages of seed germination in <i>Tibouchina heteromalla</i> Cogn. (Melastomataceae) flowers in the Parque Florestal Quedas do Rio Bonito, Lavras-MG.....	45

ARTIGO 2

Tabela 1	Comparação entre horários de antese e receptividade estigmática entre diferentes espécies do gênero <i>Ocimum</i>	69
Tabela 2	Produção e viabilidade do pólen de <i>O. selloi</i> em três estádios florais de desenvolvimento.....	70
Tabela 3	Valores médios e viabilidade polínica média de espécies do gênero <i>Ocimum</i>	71
Tabela 4	Resultados de cruzamentos naturais e artificiais em <i>Ocimum selloi</i>	72
Tabela 5	Frutificação nos testes de polinização em algumas espécies de <i>Ocimum</i>	73
Tabela 6	Comparação de médias realizada pelo teste Tukey, SNK e Scott-Knott e porcentagem de sementes germinadas.....	76
Tabela 7	Análise de variância para a germinação de sementes de <i>Ocimum selloi</i> Benth.....	76

LISTA DE FIGURAS

ARTIGO 1

- Figura 1 Details of the flower and reproductive organs showing the change in coloring during floral maturation..... 39
- Figura 2 Images obtained through scanning electronic microscopy. Details: (A) Pollen grains on the anther; (B) – Pollen grains; (C) – Glandular trichomes on a fillet; (D) Trichomes on the stylet..... 41

ARTIGO 2

- Figura 1 Indivíduos de *Ocimum selloi* Benth..... 61
- Figura 2 *Ocimum selloi* Benth ramos com inflorescência..... 62
- Figura 3 Inflorescência de *Ocimum selloi* Benth..... 67
- Figura 4 Cálice e Gineceu de *Ocimum selloi* Benth..... 68
- Figura 5 Germinação de sementes de *Ocimum selloi* Benth..... 75
- Gráfico 1 Comparação da produtividade de grãos de pólen entre os diferentes estádios florais..... 70

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO GERAL.....	10	
2 OBJETIVO GERAL.....	21	
REFERÊNCIAS.....	22	
ARTIGO 1	FLORAL BIOLOGY AND BREEDING MECHANISMS OF TIBOUCHINA HETEROMALLA COGN. IN ROCKY OUTCROPS IN THE SOUTH OF MINAS GERAIS.....	29
1 INTRODUCTION.....	32	
2 MATERIAL AND MEHTODS.....	34	
3 RESULTS AND DISCUSSION.....	38	
REFERENCES.....	50	
ARTIGO 2	MECANISMOS REPRODUTIVOS E ECOLÓGICOS DE <i>OCIMUM SELLOI</i> BENTH.: UMA ESPÉCIE DE INTERESSE MEDICINAL.....	56
1 INTRODUÇÃO.....	59	
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	61	
3 RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	66	
REFERENCIAS.....	79	

1 INTRODUÇÃO GERAL

O estudo da flora mundial é uma necessidade nos dias de hoje, levando-se em conta a enorme diversidade ainda pouco estudada e constantemente ameaçada pela ação humana (DONOGHUE; ALVERSON, 2000). O Brasil é considerado o país com a maior diversidade vegetal do mundo, contando com mais de 55.000 espécies catalogadas (DIAS, 1996), sendo que muitas destas apresentam potencial de uso medicinal, aromático, ornamental e restaurador.

A vegetação dos campos rupestres se enquadra neste estado de conhecimento restrito, porém já vem revelando elevada diversidade, tanto pelo número total de espécies bem como de espécies endêmicas, e pela presença de habitats diferenciados (CONCEIÇÃO; PIRANI, 2005).

Suas plantas apresentam adaptações para sobreviver a variações extremas de temperatura e disponibilidade de água. A altitude elevada, a inclinação do terreno e os afloramentos rochosos favorecem uma grande amplitude térmica, tanto ao longo do dia como entre as estações do ano. Devido à rochosidade e às fortes declividades, as precipitações são seguidas de enxurradas e curtos períodos de excesso hídrico. Entre as precipitações, ocorrem períodos mais longos de forte déficit de água. Além destes rigores, o Complexo Rupestre também sofre os impactos de incêndios ocasionais (SEMIR, 1991).

De acordo com Giulietti et al. (1987), a vegetação dos campos rupestres é formada em parte por espécies autóctones, selecionadas pelas condições do clima e especialmente dos solos e, em parte, pela redução na distribuição geográfica de espécies que, no passado, eram amplamente distribuídas. O maior ciclo de especiação das montanhas está relacionado com condições edáficas, pois se sabe que rochas e areias expostas no topo das montanhas estão entre as combinações mais extremas de condições ambientais.

Veloso, Rangel Filho e Lima (1991) classificou tal formação como “Refúgios Vegetacionais ou Relíquias de Vegetação” que, segundo ele, são toda e qualquer vegetação floristicamente diferente do complexo geral da flora dominante.

Segundo Harley et al. (1995), áreas montanhosas, nas quais se encontram os campos rupestres, são comparáveis a ilhas separadas pelas condições ecológicas muito diferentes que existem nas terras baixas, atuando como barreiras para migração. Disto resulta um sistema ideal e de grande interesse do ponto de vista biológico, no que concerne ao estudo da fauna e da flora e das características adaptativas que possibilitaram seu estabelecimento e sucesso ecológico no ambiente de altitude, explicando-se, assim o grande número de táxons endêmicos nesses ambientes.

De acordo com esse autor, tais cadeias montanhosas atuam como moderadores das mudanças climáticas, permitindo a migração altitudinal e fornecendo refúgios durante períodos adversos sob forma de uma ampla gama de habitats. Além disso, fornecem um gradiente fisiográfico que permite a fragmentação e posterior fusão das populações causadas pelas oscilações climáticas, criando o fenômeno de “bomba geradora de espécies”. É provável que processos recentes de isolamento e hibridação tenham contribuído sobremaneira para formar o atual quadro de diversidade da flora nos campos rupestres (HARLEY et al., 1995).

Todas estas características marcantes somadas a sua história geológica e passado climático acabam por tornar este tipo de vegetação merecedor de grande prioridade de conservação.

Em estado semelhante de conhecimento encontramos o cerrado, uma vegetação savânica lenhosa, que reveste cerca de dois quintos da superfície do país. O cerrado apresenta uma fisionomia muito variável de acordo com a

proporção entre elementos lenhosos (árvores e arbustos) e herbáceos (OLIVEIRA-FILHO; RATTER, 1995).

Em geral a ocorrência da vegetação de cerrado em qualquer local está associada a uma conjunção dos seguintes fatores ambientais: (a) clima sazonal com estação seca bem definida, (b) solos de baixa fertilidade, ácidos, profundos e bem drenados e (c) ocorrência de fogos mais ou menos regulares (OLIVEIRA-FILHO; RATTER, 1995).

A flora do cerrado está entre as mais ricas dentre as savanas do mundo, com uma estimativa superior a 6.000 espécies vasculares (MENDONÇA et al., 1998). Ela foi reconhecida internacionalmente como um dos 34 HOT SPOTS para conservação em função da sua elevada diversidade biológica sob ameaça pela ocupação desordenada que já converteu mais de 50% da vegetação natural em paisagens antropizadas (MITTERMAYER; MYERS; MITTERMEIER, 1999). Considerando que as espécies neste ambiente têm uma distribuição restrita (FELFILI et al., 1997), a magnitude da devastação da flora pode ser facilmente detectada.

As pesquisas sobre o modo como está organizada e distribuída a biodiversidade nas comunidades do cerrado, bem como seus padrões ecológicos, são ainda reduzidas. Estas informações são necessárias para avaliar os impactos decorrentes de atividades antrópicas, planejar a criação de unidades de conservação e para a adoção de técnicas de manejo (BATALHA; MANTOVANI, 2002).

Em razão da grande diversidade apresentada e do estado de ameaça, a conservação destes ambientes e a aplicação do conhecimento sobre a ecologia desses ecossistemas é essencial. Assim, pesquisas com espécies pouco investigadas merecem uma atenção maior nestas áreas, requerendo estudos mais amplos sobre sua ecologia reprodutiva, seja em razão de sua abundância, processo exploratório ou por sua aplicabilidade na sociedade. *Tibouchina*

heteromalla Cogn. e *Ocimum selloi* Benth. são espécies que ocorrem nestes ambientes, apresentando algumas das características descritas anteriormente e devem ser estudadas mais detalhadamente.

A espécie *Tibouchina heteromalla* Cogn. pertence à família Melastomataceae, cuja distribuição é pantropical com cerca de 1.500 espécies no Brasil, distribuídas em 67 gêneros, sendo o gênero *Tibouchina* Aubl. representado por cerca de 350 espécies (RENNER, 1993). Ocorre desde o México e as Antilhas até o norte da Argentina e Paraguai, com especial distribuição no Brasil, principalmente nos estados da região sudeste (GUIMARÃES, 1997; PERALTA, 2002).

Renner (1993) propôs uma nova classificação para as tribos de Melastomataceae e *Tibouchina*, anteriormente posicionada em Tibouchineae (COGNIAUX, 1885, 1891), e foi incluída em Melastomeae, tribo que apresenta cerca de 850 espécies e 47 gêneros sendo representada por exemplares com sementes cocleadas com superfície tuberculada, frequentemente com microornamentações na testa, estames com conectivos apendiculados e ovário revestido por tricomas no ápice.

O gênero *Tibouchina* foi descrito por Aublet (1775) baseado em uma única espécie, *Tibouchina aspera*, coletada na Guiana Francesa. Porém, o gênero só foi reconhecido quase cem anos mais tarde por Baillon (1877) com a descrição de novas espécies. Cogniaux (1885; 1891) delimitou o gênero de maneira mais ampla e, tradicionalmente, o dividiu em 11 seções, são elas: *Diplostegia*, *Involucrales*, *Pleroma*, *Lepidotae*, *Eutibouchina*, *Barbigerae*, *Simplicicaules*, *Diotanthera*, *Pseudopterolepis*, *Octomeris* e *Purpurella*. Estas seções possuem problemas em sua delimitação, sendo, em alguns casos, difícil posicioná-las em determinada seção (GUIMARÃES, 1997; SOUZA, 1986) O mesmo autor incluiu em *Tibouchina* algumas espécies descritas nos gêneros *Chaetogastra*, *Diplostegium*, *Lasiandra*, *Pleroma*, *Purpurella*, entre outros

(GUIMARÃES, 1997). O gênero *Tibouchina* apresenta indivíduos de porte herbáceo, subarbusivo, arbustivo ou arbóreo podendo ser diferenciado de outros da família pela presença de estames férteis (todos), estes dispostos em dois ciclos hetromórficos, ovário súpero com ápice revestido por tricomas, fruto capsular com 4- 5 lóculos e sementes cocleadas, minuciosamente tuberculadas (WURDACK, 1962; PERALTA, 2002). Alguns de seus representantes são conhecidos popularmente por jacatirão, quaresmeira e orelha de onça (WURDACK, 1962).

A espécie *T. heteromalla* Cogn. apresenta hábito subarbusivo ou arbustivo, sendo classificada como endêmica do Brasil, principalmente nas regiões Sudeste e Centro-Oeste. Apresenta distribuição isolada ou formando pequenas populações, sendo encontrada frequentemente em áreas de campo rupestre (GUIMARÃES; MARTINS, 1997). Esta espécie vem sendo amplamente utilizada na recuperação de áreas degradadas e na ornamentação, pois são plantas tipicamente pioneiras tolerando a luminosidade direta e com flores atrativas nas cores roxas (SOUZA; LORENZI, 2005).

Ocimum selloi Benth. é um subarbusto perene, pertencente à família Lamiaceae, antiga Labiatae, que compreende 224 gêneros e 5600 espécies, subdividida em 7 subfamílias, as quais apresentam uma distribuição cosmopolita com centros de origem nas regiões mediterrânicas, Oriente Médio e montanhas subtropicais. No Brasil existem cerca de 23 gêneros e 232 espécies nativas pertencentes a esta família. Um dos gêneros existentes é o *Ocimum* que compreende 160 espécies herbáceas e subarbusivas sendo também encontrado em regiões tropical e subtropical da Ásia, África, América Central e do Sul, porém o principal centro de diversidade é o continente africano (IOANNIDIS; BONNER; JOHNSON, 2002). A migração posterior para outras regiões geográficas distantes foi responsável pela introdução de variações mediante cruzamentos naturais e euploidias. Não obstante, a filogenia das espécies é pouco

conhecida e as diferenças morfológicas entre muitas *taxa* são difíceis de serem definidas devido a presença de formas intermediárias nas populações nativas, tornando-se a nomenclatura muito complicada (GUPTA, 1994).

No Brasil 11 espécies do gênero *Ocimum* são cultivadas devido à presença de óleos essenciais (IOANNIDIS; BONNER; JOHNSON, 2002) e substâncias aromáticas destinadas a produção de perfumes, fármacos, cosméticos e temperos (SIMON; CHADWICH; CRACKER, 1996). A folhagem é a parte econômica, possuindo tricomas glandulares, onde ocorre a síntese e o armazenamento do óleo essencial (GUPTA, 1994). Outro aspecto que envolve algumas espécies de *Ocimum* diz respeito a uma característica marcante que é a variação de cor nas variedades predominantemente púrpuras. Tal característica vem despertando o interesse de alguns pesquisadores devido à sua grande importância tanto para o comércio de plantas ornamentais como para indústria de corante, haja vista a abundante fonte de antocianinas, pigmentos vermelhos estáveis muito empregados na indústria de alimentos e bebidas (SANTOS, 2007).

Dentre as plantas medicinais de grande importância encontra-se o *Ocimum selloi* Benth., popularmente conhecido como “elixir-paregórico” nos Estados da Bahia, do Espírito Santo e do Rio de Janeiro, como “alfavaquinha” em Minas Gerais e como “atroveran” em São Paulo (MORAIS et al., 2002). Possui largo uso popular, como antidiarréico, antiespasmódico e antiinflamatório, além de ter sua atividade comprovada como repelente de insetos (VANDERLINDE; COSTA; ANGELO, 1994). A espécie é nativa do Brasil e é encontrada nas regiões Sul e Sudeste do país, ocorrendo principalmente nas fisionomias de cerrado e florestas semidecíduais (MARTINS, 1998). Suas folhas e inflorescências possuem óleo essencial que apresenta diferentes constituintes, como metilchavicol, trans-anetol e

metileugenol (MORAIS et al., 2002), o que pode conferir diferenças em seu odor.

As caracterizações genética e química de populações de *Ocimum selloi* oriundas dos estados de São Paulo, Paraná e Minas Gerais, realizadas por Facanali (2004; 2008), mostraram divergência genética e variação na composição química dos óleos essenciais em função das regiões de origem. Sendo assim, o conhecimento da biologia reprodutiva fornece subsídios para a compreensão sobre como os genes são recombinados e mantidos pela espécie para a perpetuação de sua variabilidade genética natural, base do seu contínuo potencial evolutivo (SEBBENN et al., 1999), tornando-se, então, essencial para o desenvolvimento de programas de melhoramento genético e compreensão do processo de domesticação de plantas (SILVA; GERHARD-BANDEL; MARTINS, 2001).

A biologia floral através do estudo dos sistemas reprodutivo mescla-se à ecologia da polinização, relacionando a diversidade floral à diversidade do comportamento e da morfologia dos animais visitantes e polinizadores (WASER, 1983), bem como demonstrando a interdependência desses, uma vez que a maioria das plantas depende dos agentes de polinização para a reprodução sexuada, e os recursos florais constituem as principais fontes de alimento para diversos grupos de animais (PROCTOR; YEO; LACK, 1996).

As interações entre plantas e polinizadores são vitais para a integridade estrutural e funcional dos ecossistemas naturais, assim como para a manutenção ou aumento na produção de alimentos pelo ser humano. Acredita-se que três quartos dos produtos vegetais consumidos pelos seres humanos, assim como noventa por cento das plantas silvestres, sejam dependentes da polinização por animais. Além disso, a proteção às espécies silvestres ameaçadas de extinção, a utilização de espécies vegetais em ambientes urbanos e a produção de forrageiras para alimentar animais úteis também são beneficiadas com a

compreensão dos conceitos de biologia floral e polinização (FIGUEIREDO, 2000).

Diversos fatores ecológicos e genéticos podem afetar os padrões de reprodução, resultando na ocorrência de endogamia nas populações e na variação temporal e espacial das taxas de cruzamento, mecanismos de incompatibilidade (MURAWSKI; HAMRICK, 1992) bem como padrões de florescimento, tais como, duração do período de florescimento, sincronia e densidade de indivíduos com flores (FACANALI et al., 2009).

O estudo dos mecanismos reprodutivos das espécies vegetais é de fundamental importância para o fitomelhoramento (ALLARD, 1999), pois os métodos de melhoria gênica diferem entre espécies autógamas e alógamas (IUCHI, 1994). Além disto, o conhecimento do sistema de reprodução das plantas pode ajudar a determinar a variabilidade genética das espécies (BRASILEIRO; AMARAL, 2007).

O sistema de polinização pode servir ainda como instrumento para se estudar os processos de co-evolução, onde o grau de adequação morfológica, fisiológica e comportamental observada entre planta e polinizador pode ser avaliado (PROCTOR; YEO; LACK, 1996). Nesse contexto, aspectos relacionados à morfologia floral e comportamento de visitação, bem como aqueles relativos à fisiologia e morfologia da flor, servem como parâmetros para mensurar o grau de relação entre espécies de plantas e seus visitantes florais, analisando quais dentre eles contribuem efetivamente para a reprodução da planta (FIGUEIREDO; SAZIMA, 2007; PROCTOR; YEO; LACK, 1996).

Pesquisas sobre interações planta-polinizador têm sido norteadas por enfoques diversos, tais como a ecologia de comunidades e genética de populações, ajudando ainda a elucidar questões em vários campos, como sistemática e filogenia vegetal, biologia evolutiva e adaptação, ecologia de populações, biologia reprodutiva e biologia da conservação. Estas informações

ainda podem ser utilizadas em estudos de regeneração de áreas degradadas, sobrevivência e manutenção de populações fragmentadas, manejo de populações naturais e conservação ambiental (KAGEYAMA, 1992; MARTINS et al., 2008).

Estudos realizados dentro da família Melastomataceae, na qual está descrita a espécie a *Tibouchina heteromalla* encontraram predominantemente um sistema reprodutivo do tipo xenógamo (RENNER, 1989), favorecido pela separação espacial entre o estigma e o pólen nas flores, e pela necessidade de manipulação das anteras por parte de vetores para liberar este pólen. A existência de mecanismos de autoincompatibilidade genética é relativamente comum nas tribos Rhexieae e Miconieae, e menos característica nas tribos Melastomeae e Microliceae (GOLDENBERG; SHEPHERD, 1998).

Trabalhos recentes têm mostrado, com relativa frequência, a ocorrência de casos de apomixia na família (GOLDENBERG, 2000; GOLDENBERG; SHEPHERD, 1998; RENNER, 1989). A apomixia é um fenômeno pelo qual uma planta é capaz de produzir sementes com embriões viáveis sem que antes houvesse fusão de gametas e formação de zigoto (MOGIE, 1992). A apomixia parece estar relacionada também à poliploidia e hibridações, o que consequentemente faz com que a viabilidade do pólen das espécies apomíticas seja quase sempre mais baixa do que nas espécies não apomíticas (GRANT, 1981).

As flores destas espécies são geralmente polinizadas por abelhas que coletam o pólen disposto em anteras tubulosas, com forma variável, mas quase sempre com deiscência poricida. Estas abelhas abraçam as anteras e efetuam movimentos vibratórios para extrair o pólen das anteras, efetuando polinização vibrátil (“buzz pollination”) (BUCHMANN, 1983). Algumas espécies de Melastomataceae, no entanto, apresentam produção de néctar e são polinizadas

por ratos (LUMER, 1980), moscas (GOLDENBERG; SHEPHERD, 1998), morcegos ou beija-flores (RENNER, 1989).

Já para a família Lamiaceae especificamente dentro do gênero *Ocimum*, estudos demonstram que este pode apresentar fecundação cruzada, apesar de se reproduzirem predominantemente por autofecundação, o que evidencia a ampla versatilidade reprodutiva deste gênero, acentuando a variabilidade genética, a qual é essencial para sua evolução (ALMEIDA et al., 2004).

Gonçalves (2008) argumenta que flores de *Ocimum* apresentam atributos florais relacionados à síndrome floral de melitofilia, mas que nem sempre estas características são suficientes para definir o poder da espécie em atrair polinizadores. No entanto, sugere que o principal polinizador do gênero seja *Apis mellifera* seguidos de outros himenópteros. Porém, a presença de menor número de flores e maior produção de frutos em algumas espécies do gênero pode sugerir menor eficiência em atrair polinizadores, o que favorece a autogamia. Flores pequenas, androceu e gineceu próximos são características de plantas autógamias.

Auxiliando os estudos de conservação, encontra-se o processo germinativo de sementes, cuja fase é uma das mais críticas do ciclo de vida das plantas e determina tanto a distribuição de espécies como sua abundância nas comunidades vegetais. Além disto, o conhecimento da biologia das sementes é fundamental para o entendimento do estabelecimento de plântulas, sucessão, regeneração natural e reabilitação de áreas degradadas (GOMES; FERNANDES, 2002).

A velocidade de extinção das espécies no Brasil atinge proporções alarmantes em curto espaço de tempo quando comparada a eras geológicas passadas. Este processo tende a causar não somente a perda de substâncias terapêuticas valiosas, mas também de genes que codificam enzimas com uso potencial no melhoramento vegetal e estudos biossintéticos de novos produtos

naturais. Dessa forma, os estudos ecológicos, reprodutivos e genéticos das espécies presentes em ambientes vulneráveis são de suma importância para avaliar a probabilidade de persistência das espécies (SILVA et al., 2008).

2 OBJETIVO GERAL

Este trabalho buscou entender a biologia reprodutiva das espécies *Tibouchina heteromalla* Cogn. e *Ocimum selloi* Benth. avaliando a sua morfologia floral, abertura das flores, receptividade estigmática, viabilidade polínica, o sistema reprodutivo, produção de frutos e sementes além dos seus principais polinizadores e visitantes florais.

REFERÊNCIAS

ALLARD, R. W. **Principles of plant breeding**. New York: J. Wiley, 1999. 254 p.

ALMEIDA, O. S. et al. Estudo da biologia floral e mecanismos reprodutivos do alfavacão, *Ocimum officinalis* L. visando o melhoramento genético. **Acta Scientiarum - Biological Sciences**, Maringá, v. 26, n. 3, p. 343-348, 2004.

AUBLET, J. B. C. F. **Histoire des plantes de la Guiane Française**. Paris: Librairie de la Faculte de Médecine, 1775. 25 p.

BAILLON, H. E. **Histoire des plantes: melastomatacées**. Paris: L. Hachette, 1877. 65 p.

BATALHA, M. A.; MANTOVANI, F. R. The vascular flora of the cerrado in Emas National Park, Central Brazil. **Sida**, Dallas, v. 20, n. 1, p. 295-312, Apr. 2002.

BRASILEIRO, B. P.; AMARAL, C. L. F. Caracterização do sistema reprodutivo de acessos de *ocimum* spp. (lamiaceae) do banco de germoplasma de plantas medicinais da UESB, Bahia, Brasil. **Magistra**, Cruz das Almas, v. 19, n. 4, p. 333-336, 2007.

BUCHMANN, S. L. Buzz pollination in Angiosperms. In: JONES, C. E.; LITTLE, R. J. (Ed.). **Handbook of experimental pollination biology**. New York: V. N. Reinhold, 1983. p. 73-113.

COGNIAUX, A. Melastomaceae. In: CANDOLLE, A. de; CANDOLLE, C. de (Ed.). **Monographiae phanerogamarum**. Paris: G. Masson, 1891. v. 7, p. 1250-1256.

COGNIAUX, A. Melastomataceae: tribus II, tibouchinieae. In: MARTIUS, C. F. P.; Eichler, A. G. **Flora brasiliensis**. Lipsiae: F. Fleischer, v. 14, p. 5-480, 1885.

CONCEIÇÃO, A. A.; PIRANI, J. R. Delimitação de habitats em campos rupestres na Chapada Diamantina, Bahia: substratos, composição florística e aspectos estruturais. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 23, n. 1, p. 85-111, 2005.

DIAS, B. F. S. **A implementação da convenção sobre diversidade biológica no Brasil: desafios e oportunidades**. Campinas: A. Tosello, 1996. 10 p.

DONOGHUE, M. J.; ALVERSON, W. S. A new age of discovery. **Annals Missouri Botany Garden**, Saint Louis, v. 97, n. 2, p. 110-126, Mar. 2000.

FACANALI, R. **Caracterização da diversidade genética e da composição química do óleo essencial de populações de *Ocimum selloi* Benth.** 2004. 93 p. Dissertação (Mestrado em Horticultura) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2004.

_____. **Estudo da biologia reprodutiva, diversidade genética e química de populações de *Ocimum selloi* Benth.** 2008. 129 p. Tese (Doutorado em Horticultura) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2008.

FACANALI, R. et al. Biologia reprodutiva de populações de *Ocimum selloi* Benth. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Botucatu, v. 11, n. 2, p. 141-146, 1999.

FELFILI, J. M. et al. Comparação florística e fitossociológica do cerrado nas chapadas pratinha e dos veadeiros. In: LEITE, L.; SAITO, C. H. (Ed.). **Contribuição ao conhecimento ecológico do cerrado**. Brasília: UnB, 1997. p. 6-11.

FIGUEIREDO, R. A. Biologia floral de plantas cultivadas: aspectos teóricos de um tema praticamente desconhecido no Brasil. **Argumento**, Porto Alegre, v. 2, n. 3, p. 8-27, 2000.

FIGUEIREDO, R. A.; SAZIMA, M. Phenology and pollination biology of eight *Peperomia* species (Piperaceae) in semideciduous forests in southeastern Brazil. **Plant Biology**, Stuttgart, v. 9, n. 1, p. 136-141, Feb. 2007.

GIULIETTI, A. M. et al. Flora da Serra do Cipó, Minas Gerais: caracterização e lista das espécies. **Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo**, São Paulo, v. 9, n. 1, p. 1-151, 1987.

GOLDENBERG, R. Apomixia como alternativa à reprodução sexuada em Melastomataceae. In: CAVALCANTI, T. B.; WALTER, B. M. T. (Ed.). **Tópicos atuais em botânica**. Brasília: EMBRAPA Recursos Genéticos, 2000. p. 225-230.

GOLDENBERG, R.; SHEPHERD, G. J. Studies on the reproductive biology of Melastomataceae in cerrado vegetation. **Plant Systematics and Evolution**, New York, v. 211, n. 2, p. 13-29, Mar. 1998.

GOMES, V.; FERNANDES, G. W. Germinação de aquênios de *Baccharis dracunculifolia* DC. (Asteraceae). **Acta Botanica Brasilica**, Porto Alegre, v. 16, n. 4, p. 421-427, jun. 2002.

GONÇALVES, C. B. S. et al. Atividade de insetos em flores de *Ocimum gratissimum* L. e suas interações com fatores ambientais. **Revista Caatinga**, Mossoró, v. 21, n. 3, p. 128-133, 2008.

GRANT, V. **Plant speciation**. New York: Columbia University, 1981. 563 p.

GUIMARÃES, P. J. F. **Estudos taxonômicos de *Tibouchina* sect. *Pleroma* (D. Don) Cogn. (Melastomataceae)**. 1997. 146 f. Tese (Doutorado em Botânica) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1997.

GUIMARÃES, P. J. F.; MARTINS, A. B. *Tibouchina* sect. *Pleroma* (D. Don) Cogn. (Melastomataceae) no estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 20, n. 1, p. 11-33, jun. 1997.

GUPTA, R. Basil (*Ocimum* spp.): G-15 gene Banks for medicinal & aromatic plants. **Newsletter**, New York, v. 1, n. 5/6, p. 1-3, 1994.

HARLEY, R. M. et al. **Flora of the Pico das Almas, Chapada Diamantina, Bahia, Brazil**. Kew: Royal Botanic Gardens, 1995. 78 p.

IOANNIDIS, D.; BONNER, L.; JOHNSON, C. UV-B is required for normal development of oil glands in *Ocimum basilicum* L. (sweet basil). **Annals of Botany**, London, v. 90, n. 1, p. 453-460, Dec. 2002.

IUCHI, V. L. **Morfologia, biologia floral, propagação e crescimento de “rainha do abismo” (*Sinningia leucotrichia* Hoene) Moore**. 1994. 168 f. Tese (Doutorado em Fitotecnia) - Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG, 1994.

KAGEYAMA, P. Y. Recomposição da vegetação com espécies arbóreas nativas em reservatórios de usinas hidrelétricas da CESP. **Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais**, Piracicaba, v. 8, n. 25, p. 1-43, 1992.

LUMER, C. Rodent pollination of *Blakea* (Melastomataceae) in a Costa Rican cloud Forest. **Brittonia**, Bronx, v. 32, n. 4, p. 512-517, Oct./Dec. 1980.

MARTINS, E. R. Estudos em *Ocimum selloi* Benth.: isoenzimas, morfologia e óleo essencial. In: _____. **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agrônômica**. Botucatu: UNESP, 1998. v. 1, p. 193-217.

MARTINS, K. et al. Estrutura genética populacional de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae - Caesalpinioideae) em fragmentos florestais no Pontal do Paranapanema, SP, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 31, n. 1, p. 61-69, jan./fev. 2008.

MENDONÇA, R. C. et al. Flora vascular do Cerrado. In: SANO, S. M.; ALMEIDA, S. P. de (Ed.). **Cerrado: ambiente e flora**. Brasília: EMBRAPA-CPAC, 1998. p. 289-556.

MITTERMEYER, R. A.; MYERS, N.; MITTERMEIER, C. G. **Hotspots earth's biologically richest and most endangered terrestrial ecoregions**. Arlington: CEMEX Conservation International, 1999. 430 p.

MOGIE, M. **The evolution of asexual reproduction in plants**. London: Chapman & Hall, 1992. 276 p.

MORAIS, L. A. S. et al. *Phytochemical characterization of essential oil from *Ocimum selloi**. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 74, n. 1, p. 183-186, mar. 2002.

MURAWSKI, D. A.; HAMRICK, J. L. Mating system and phenology of *Ceiba pentandra* (Bombacaceae) in central Panama. **Journal of Heredity**, Washington, v. 83, n. 1, p. 401-404, July/Aug. 1992.

OLIVEIRA FILHO, A. T.; RATTER, J. A. **Database, woody flora of 106 forest areas of eastern tropical South America**. Edinburgh: Royal Botanic Garden Edinburgh, 1995. 525 p.

PERALTA, P. Las especies del género *Tibouchina* (Melastomataceae) en Argentina. **Darwiniana**, Buenos Aires, v. 40, n. 1/4, p. 107-120, 2002.

PROCTOR, M.; YEO, P.; LACK, A. **The natural history of pollination**. London: Harper Collins, 1996. 479 p.

RENNER, S. S. Phylogeny and classification of the Melastomataceae and Memecylaceae. **Nordic Journal of Botany**, Copenhagen, v. 13, n. 5, p. 519-540, May 1993.

RENNER, S. S.. Survey of reproductive biology in Neotropical Melastomataceae and Memecylaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, Saint Louis, v. 76, n. 1, p. 496-518, Apr. 1989.

SANTOS, E. F. **Seleção de tipos de *Ocimum basilicum* L. de cor púrpura para o mercado de plantas ornamentais**. 2007. 69 p. Dissertação (Mestrado em Ciências Agrárias) - Universidade de Brasília, Brasília, 2007.

SEBBENN, A. M. et al. Variação genética entre e dentro de populações de amendoim: *Pterogyne nitens*. **Scientia Florestalis**, Piracicaba, v. 56, n. 1, p. 29-40, dez. 1999.

SEMIR, J. **Revisão taxonômica de *Lychnophora* Mart. (Vernoniaceae:Compositae)**. 1991. 515 f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) - Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1991.

SILVA, A. B. et al. Biologia floral e mecanismos reprodutivos de *Ocimum canum* Sims (Lamiaceae). **Revista Biotemas**, Florianópolis, v. 21, n. 2, p. 33-40, 2008.

SILVA, R. M.; GERHARD-BANDEL, M. I. F. F.; MARTINS, P. S. Biologia reprodutiva de etnovarietades de mandioca. **Scientia Agrícola**, Piracicaba, v. 58, n. 1, p. 101-107, 2001.

SIMON, J. A.; CHADWICH, A. L.; CRACKER, L. E. **Herbs: an indexed bibliography 1970-1980**. Hamden: Archon Books, 1996. 770 p.

SOUZA, M. L. D. R. Estudo taxonômico do gênero *Tibouchina* Aubl. (Melastomataceae) no Rio Grande do Sul, Brasil. **Insula**, Florianópolis, v. 16, n. 1, p. 3-109, dez. 1986.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II**. Nova Odessa: Plantarum, 2005. 640 p.

VANDERLINDE, F. A.; COSTA, E. A.; ANGELO, L. C. A. Atividades farmacológicas gerais e atividade anti espasmódica do extrato etanólico de *Ocimum selloi* Benth. (elixir paregórico). In: SIMPÓSIO DE PLANTAS MEDICINAIS DO BRASIL, 12., 1994, Fortaleza. **Anais...** Fortaleza: UFC, 1994. p. 156.

VELOSO, H. P.; RANGEL FILHO, A. L. R.; LIMA, J. C. A. **Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal**. Rio de Janeiro: IBGE, 1991. 124 p.

WASER, N. M. Competition for pollination and floral character differences among sympatric plant species: a review of evidence. In: JONES, C. E.; LITTLE, R. J. (Ed.). **Handbook of experimental pollination biology**. New York: V. N. Reinhold, 1983. p. 277-293.

WURDACK, J. J. Melastomataceae of Santa Catarina. **Sellowia**, Itajaí, v. 14, p. 109-217, 1962.

ARTIGO 1

**FLORAL BIOLOGY AND BREEDING MECHANISMS OF
TIBOUCHINA HETEROMALLA COGN. IN ROCKY OUTCROPS IN
THE SOUTH OF MINAS GERAIS**

Caroline Cambraia Furtado Campos^{1,2}, Jaqueline Fidelis Duarte¹, Rosângela
Alves Tristão Borém¹, Daniel Melo de Castro¹

¹ Universidade Federal de Lavras, Departamento de Biologia, CP 3037 -
CEP.37200000 - Lavras-MG.

² Autor para correspondência: carol.cambraia@yahoo.com.br

Publicado na Brazilian Journal of Ecology-vol 13, 18-28 p. 2009.

ABSTRACT

Tibouchina heteromalla Cogn. (Melastomataceae) has been extensively exploited, both for ornamental purposes and use in the recovery and reforestation of degraded areas. This study in floral biology, the reproductive system, potential floral pollinators and visitors was undertaken in the Ecological Park Quedas do Rio Bonito (PEQRB), Lavras - MG. Twenty specimens from the population were selected, marked and accompanied during flowering and fructification. The reproductive system was evaluated through manual pollination, and reproductive efficiency calculated. Manual pollination treatments indicated a facultative xenogamic species, with a larger formation of fruits through cross- (44.6%) than self- (12.7%) pollination. Emasculated flowers did not form fruits, as was the case with flowers through spontaneous self-pollination. The low rate of formation of control-fruit (29.2%) can be explained by the scarcity of floral visitors. Root protrusion occurred on the 6th day, with 56% germination. Flowering was spread from January to June, and fruit ripening from April and September. The available food resources for floral visitors and pollinators consisted of pollen grains, probably glandular trichomes located in the stamens, and the stamens themselves. The most frequent visitors were specimens from the families Aphididae, Curculionidae, Formicidae and Tettigonidae. *Xylocopa brasiliatorum* was indicated as the main pollinator.

Keywords: Melastomataceae. Breeding mechanism. Tibouchine. Rocky outcrops. Crossed pollination.

RESUMO

Tibouchina heteromalla Cogn. (Melastomataceae) tem sido explorada com fins ornamentais e utilizada na recuperação e reflorestamento de áreas degradadas. O estudo da biologia floral, sistema reprodutivo, potenciais polinizadores e visitantes florais foi realizado no Parque Ecológico Quedas do Rio Bonito (PEQRB), Lavras – MG. Vinte indivíduos da população foram selecionados, marcados e acompanhados eventos fenológicos de floração e frutificação. O sistema reprodutivo foi avaliado com polinizações manuais e cálculo da eficácia reprodutiva. Os tratamentos de polinização manual indicaram a espécie como xenógama facultativa com maior formação de frutos por polinização cruzada (44,6%) do que por autopolinização (12,7%). Flores emasculadas para agamospermia não formaram frutos, bem como flores com autopolinização espontânea. A baixa formação de frutos-controle (29,2%) pode ser explicada pela escassez de visitantes florais. A protusão da radícula ocorreu no 6º dia com 56% de germinação. A floração estendeu-se de janeiro a junho, e o amadurecimento dos frutos, entre abril e setembro. Os recursos alimentares oferecidos aos visitantes florais e polinizadores foram o grão de pólen, provavelmente os tricomas glandulares localizados nos estames e os próprios estames. Os visitantes mais frequentes foram espécimes das famílias Aphididae; Curculionidae; Formicidae; Tettigonidae. *Xylocopa brasilianorum* foi indicado como principal polinizador da espécie.

Palavras-chave: Melastomataceae. Sistema reprodutivo. *Tibouchina*. Campo rupestre. Polinização cruzada.

1 INTRODUCTION

There are several important aspects, vital for a clear understanding of floral biology, such as morphology, phenology, the reproductive system, pollinization and fertilization. Studies on reproductive ecology are also important for increasing comprehension on features of ecological equilibrium existent in nature, how plants evolved on the planet, and how animals, mainly bees, manage to survive through making use of flowers.

Floral biology, through its reproductive system, blends with the ecology of pollinization, thereby relating floral diversity with the behavior and morphology of visiting and pollinizing animals (47), thus demonstrating their mutual dependence, since most plants rely on these agents for sexual reproduction. Furthermore, floral resources constitute the main food supply for several animal groups (36).

The interaction of plants with pollinizing agents is vital for the structural and functional integrity of natural ecosystems, besides the maintenance and increase in the production of food for human consumption. It is believed that three quarters of the plant products thus produced, as well as ninety percent of wild plants, are dependent on animal pollinization. Furthermore, the protection of wild species threatened with extinction, the use of plant species in urban environments and the production of fodder for feeding domestic animals are also benefited through understanding floral biology and pollinization concepts (17).

The system of pollinization can serve as an instrument for studying co-evolutionary processes, where the degree of morphological, physiological and behavioral adequacy observed between plant and pollinizer can be evaluated (36). In this context, aspects concerning floral morphology and visiting behavior, as well as those referring to flower physiology and morphology,

could serve as parameters for measuring the degree of relationship between plant species and their floral visitors, as well as for discerning which among them effectively contribute to plant reproduction (15,36,18).

Research on plant-pollinizer interaction has been directed along several lines of inquiry, such as community ecology and population genetics, even to the point of aiding in elucidating/throwing light upon various fields, such as plant systematics and phylogeny and population ecology, besides evolutive, adaptational, reproductive and conservational biology.

This information could be of further use in studies on the regeneration of degraded areas, the survival and maintenance of fragmented populations, the management of natural populations and environmental conservation (27,42,25,31).

The species *Tibouchina heteromalla* Cogn., endemic in Brazil, mainly in the southeastern and central-western regions, occurs either isolated or in the form of small scattered populations, often to be found in rocky areas and distributed mosaic-like, as a result of variations in topography, slope/declivity, physiognomy, nature of the substratum and microclimate (24). This species is extremely abundant in rocky outcrops of the Parque Ecológico Quedas do Rio Bonito (PEQRB), where the study was undertaken.

Even though *Tibouchina heteromalla* is a relatively common species in the region, so far no study has come to light regarding its reproductive ecology, which urges the need for developing research so as to understand its reproductive mechanisms, with a view to conservation.

With this in mind, the expressed aim is to describe the floral biology, reproductive system and pollinization of *Tibouchina heteromalla* Cogn., with a view to analyzing existent interactions and adaptations between plant and pollinizers.

2 MATERIAL AND MEHTODS

Description of the area – The study was carried out in the Parque Ecológico Quedas do Rio Bonito – PEQRB (21°19'-21°20'S e 44°58'- 44°59' W), in Lavras county, south Minas Gerais State. The park consists of 235 ha, and is situated at a height varying between 1.000 and 1.300 m. According to Köppen, the climate is of the Cw b type, mesothermic, with droughts in the winter and mild summers. The average temperature is around 19,3 ° and the average yearly rainfall 1.493 mm, with the rains concentrated in the summer (13).

The main original rocks are quartzite and micaxysts in the higher regions and granitic leukratic gnaisses and quartzite in the lower, with a predominance of litholic, alic and Cambi soils (10)

Study species – The species *Tibouchina heteromalla* Cogn., is usually bushlike or subbushlike. It is identified by the presence of villosities, tetragonal branches, opposed leaves with acrodomous nervures and villous indumentum. The flowers are of a purple or magenta coloring and classified as pentamerous sub-unsymmetrical. There are also very small-sized trichomes throughout (24).

The androecium is composed of ten diplostemonous stamens, five larger antesepal and five smaller antepetal. On the base and the region between the connective and the fillet anthers, there are wine-colored glandular trichomes, of the same shade as the base of the petals. The anthers of the antepetal stamens are of a pearlish shade and those of the antesepal rose-colored. The change in coloring becomes more evident as the flower matures (24).

Floral opening – Three buds in pre-anthesis in three individuals were marked with colored threads. The buds were observed throughout the day so as to accompany floral opening.

Pollinic feasibility – Six individuals were selected and five pre-anthesis buds extracted from each. These were fixed in FAA 50% to test pollen grain feasibility. They were then mounted on slides, stained with aseptic carmine and examined through an optic microscope (37). The first 100 grains on each slide were counted. The percentage of feasible grains was calculated from the proportion between feasible and unfeasible. Those with stained cytoplasm were considered feasible and those without and morphologically irregular were considered unfeasible (22).

Pollen grains collected from each individual were distinguished as regards stamens (antesepal and antepetal) and stigmas, for morphological studies through Scanning Electromicroscopy (SE).

In anticipation of SE analysis, pollen grains previously fixed in 1% osmium tetroxide were dehydrated in rising series acetone (25, 50, 75, 90 and 100%), mounted on metallic supports (stubs) and gold-coated. Images were obtained by electronic-microscope scanning (LEO Evo 40 XVP) in the Laboratory of Electronic Microscopy and Ultra-structural Analysis of the Department of Phytopathology of the Federal University of Lavras.

Stigmatic receptivity – Stigma receptivity in the field was ascertained by its viscous and humid aspect (1), and checked by using hydrogen peroxide (H₂O₂) at 3% (26) and observing the consequential liberation of oxygen through a magnifying glass. This was done with buds and flowers at the different phases, from pre-anthesis to senescence, the presence of catalase being indicative of receptivity.

Pollinization – During florescence, additional visits were made to undertake manual pollinization. Twelve individuals were selected, with the flowers receiving five types of treatment: 1) manual cross pollinization – reception from flowers of the same population; 2) manual self-pollinization – flowers were pollinized with their own pollen; 3) apomixis – the anthers and

part of the stylet were excised at pre-anthesis; 4) open pollinization (control) – the flowers were only marked and left at random, without posterior treatment; 5) spontaneous selfpollinization –buds were isolated, without being manipulated. Threads of different colors were used for identifying treatments. Manipulated florescences were protected before treatments with organza nylon/sheer nylon bags, and were only unwrapped at the moment of treatment, so as to guarantee unfertilized flowers. The ratio between the percentage of fruits arising from manual self-pollinization and that of cross pollinization was used to define the self-incompatibility index (9)

Germination – Formed fruits were collected and their seeds set to germinate in type B.O.D germination chambers/rooms, at a temperature of $25^{\circ}\text{C} \pm 1$, thus reproducing the species' natural environmental conditions when flowering and forming fruit. In the first place, seeds underwent aseptic treatment using a solution of 1% sodium hypochlorite for one minute. They were then washed with distilled water and left to dry naturally. This was followed by distribution in 9 cm Petri dishes with a double layer of filter paper wetted with 2,5 times its own mass in distilled water. The fruits and their respective seeds were separated according to the original reproductive treatment: T1 –seeds from manual selfpollinization; T2 - seeds from manual cross polinization; T3 - seeds from controls. No fruits were formed in the remaining treatments.

Germination tests were entirely random, with 8 repetitions of 25 seeds per treatment. Observations were done every two days, visually and by stereoscopic microscope, the results being registered during 30 days. The percentage of germination and starting times were calculated. Data analysis was based on non-parametric variance using R® software routines, by means of the Kruskal-Wallis test at 5% significance, seeing that pre-supposed homocedasticity and normality were not attained.

Seed water content/ – This was obtained by the ‘hothouse at $105\pm 3^{\circ}\text{C}$, for 24 hours’ method (5), with two sub-samples of around 0,1g, expressed in percentages.

Floral visitors – Infield observations of floral visitors were carried out with 350 flowers, during the periods between 7,30 a.m. and 5 p.m., and for 30 days, with an eye to foraging behavior, as well as the time, frequency and duration of visits.

The methodology used was similar to that described in biocenotic studies (41), with anticipation of continuous displacement around those randomly chosen flowering plants under study, with the collection of all floral visitors

Witness specimens were collected by means of entomological nets, and, in some cases, directly in bottles, and after deposited in death-chambers for later taxonomic determination by specialists of the Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras.

3 RESULTS AND DISCUSSION

Flowering in *Tibouchina heteromalla* occurred between the months of January and June, with peaks at the end of the rainy season, between the months of March and May. The fruit-period extended from February to September, with ripening occurring during the dry season, between the months of April and September.

This flowering-pattern, with the production of flowers extending over a long time-span throughout the entire population, asynchronously among individuals, is characterized as intermediate annual flowering (34). In species of this type, the opportunities for crossing are not so limited in time, as is observed where the flowering period is short (34)

In *T. heteromalla*, inflorescence is of the cyme-type, subtype dichasium dimonochasium, whereby we encounter flowers in anthesis, others in senescence, and even buds just beginning to grow.

The floral bud is entirely coated by the calyx lappets, which will only open when anthesis is about to begin so that the petals can be released.. The wine-colored hypanthium is covered by trichomes.

The beginning of floral anthesis can be divided into three phases. In the first, the petals separate, whereat the folded stamens can be seen with the anthers turned towards the center of the flower. The stamens expand in the second phase. Finally, the petals are completely open and the stamens placed together at the lower part of the flower. Anthesis occurs during the daytime, mostly in the period between 6 and 8 a.m., although this has been observed at any time throughout the day. The flowers survive about two days until complete senescence.

Inside the flower, the color at the base of the corolla alters, passing from white at the beginning of anthesis to wine-colored in older flowers. This

characteristic can be observed after 6 to 8 days from anthesis, as can be seen in Figure 1. This change in color has also been reported for *Tibouchina pulcra* and *Tibouchina sellowiana*, which were white at anthesis to later become reddish-violet (43). The color of the stamens changes from white to wine-colored when in the senescence phase, as was observed in the petals.



Figure 1 Details of the flower and reproductive organs showing the change in coloring during floral maturation

It is believed that the change in color functions for long-distance signaling to pollinizers, as a way of bringing plant and pollinizer together for mutual benefits. Plants are pollinized more efficiently, whereas pollinizers, through being guided, end up saving both time and energy (50).

High pollinic feasibility of 82,5% to 90% was established for both antepetal and anteseal stamens during all the phases of anthesis (19). In another study, similar results in all the phases (85,61% to 90,64%) were also attributed to *Cambessedesia hilariana* (Melastomataceae). Thus, pollen grains from all the anthers can be used in processes of plant fertilization and nutrition of bee-offspring.

At the population or species level, it is possible to suppose that averages above 85% for feasible grains indicate non-apomictic populations, whereas those below 20% indicate apomictic ones. Intermediary values could include apomictic individuals with high pollen feasibility, as is the case of *Miconia petropolitana*, or non-apomictic individuals with lower feasibility, as encountered in individuals of *Leandra dasytricha* and *Tibouchina cerastifolia* (22).

The images obtained through scanning electronic microscopy revealed a large amount of pollen both in the antesepal anther as well as the antepetal (Fig. 2A). The existent glandular trichomes (Fig. 2C) could be responsible for pollinator attraction through the release of odors. Although in the case of *T. heteromalla*, no characteristic odor was perceived, there are records of other Melastomataceae, (8) and (38), as well as *Miconia pepericarpa* Mart. And *Cambessedesia hilariana* (19), where it was reported that during the period of anthesis, the flowers exhaled an odor probably from osmophores present in the corolla, fillet, stylet and stigmatic papillae, and that intensification of this odor is through glandular trichomes, externally placed on the base of fillets, the hypanthium and the aspeck of the ovary.

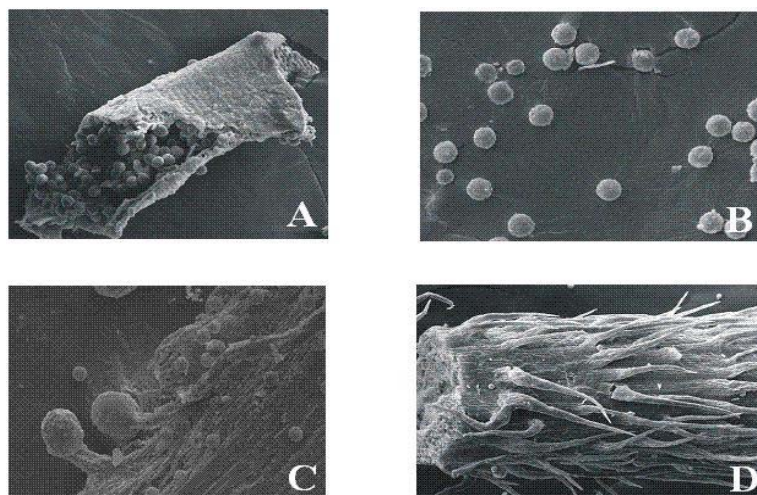


Figure 2 Images obtained through scanning electronic microscopy. Details: (A) Pollen grains on the anther; (B) – Pollen grains; (C) – Glandular trichomes on a fillet; (D) Trichomes on the stylet

Trichomes are numerous on the stylet base (Fig. 2 D) and, as is the case of the stigma, there is a change in color, both being white in younger flowers, and after maturation, the former becoming wine-colored and the latter pearlish.

The highest stigmatic receptivity was recorded in the morning from 7 a.m. to around 1 p.m., diminishing during the afternoon and at sunset, and continuing receptive for two days. The aspect of the stigma was viscous and humid in flowers in the earlier phase of anthesis. Catalasis was observed through a magnifying glass, receptivity being evident by the presence of sweat/perspiration from stigmatic papillae, with swelling of the stigma itself. After changing color, flowers were generally incapacitated, the stigma no longer being receptive (50).

These fall away from the calyx, so that in most inflorescences only the fruits remained in the form of capsules capable of changing color, green at the beginning of development, which starts on the 6th to 8th day after initiating

anthesis, to brown when mature. In seeds, this change in color was a continuous process, going from white in the first weeks, to yellow, then brown, and finally a dark brown color, remaining so until the end of sampling.

A study of the reproductive system indicates that the species is xenogamous facultative, thus characterized by the linkage between the gametes of genetically distinct individuals. Spontaneous self-pollinization and emasculation do not generate fruit, so the species is nonapomictic. (Table 1). The index of self-incompatibility (ISI) found was 0,28, this revealing that *Tibouchina heteromalla* is self-compatible, although very close to the limit of selfincompatibility (ISI=0,25).

Table 1 Manual pollinization on flowers of *Tibouchina heteromalla* (Cogn.) (Melastomataceae) in Parque Florestal Quedas do Rio Bonito, Lavras-MG

Treatment	Flower (n)	Fruit (n)	Successfully reproduced (%)
Manual cross pollinization	150	67	44.6
Manual self-pollinization	150	19	12.7
Apomixy	150	0	0
Control	150	44	29.2
Spontaneous selfpollinization	150	0	0

With fertilization by gametes coming from the same flower or from flowers of the same individual, the plant is said to be self-compatible. Self-fertilization leads to the procreation of descendents equal to the plant that originally produced the gametes. If the mother-plant is well adapted to the environment, and this remains unaltered, it is advantageous for the plant species

to generate alike descendents, for they will be born adapted to their surroundings.

Fertilization through cross pollinization gives rise to descendents different from the progenitor, for the embryo has a mother that passes on her characteristics through the ovule, and a father, whose characteristics were transported by the pollen grain. Thus, the advantage of cross pollinization is the increase in characteristic variability within plant species, thereby facilitating improved adaptation in future plant generations to environments under Constant modification. It was also noted that cross pollinization leads the way to greater plant resistance against plagues and sicknesses (17).

Even though *T. heteromalla* is self-compatible, a flowering pattern favoring cross pollinization would be more advantageous for a species that depends on external vectors for pollen transportation (40). Thus, the scant availability of flowers per unit of time reduces the level of geitonogamy, and forces pollinizers to look for food from other individual flowers within the population, thereby increasing the chance of crossing (33). The flowering pattern and pollinizer foraging behavior could directly influence fruit formation in this species.

Even though it has been proven that *T. heteromalla* is not an apomitic species, studies undertaken in the Serra do Japi (SP) region gave evidence that 7 among the 13 species of the Melastomataceae studied form fruit from apomixis on (22). Nevertheless, amongst these, apomixis is more frequent in the Miconieae tribe, although uncommon among the Melastomeae, as was shown in the already studied *Tibouchina* species (40). Apomixis also appears to be related with polyploidy and hybridism, which consequently leads to pollen viability of apomitic species almost always being lower than that in non-apomitic (23).

The number of seeds per flower in control treatments and manual cross pollinization remains unaltered during the maturation phase, maintaining an

average of around 760 ± 21 seeds per flower, which implies that the number of seeds formed is more related to the rate of pollinization and fertilization than to the age of the fruit, since these values are maintained in younger fruits.

Further proof arises on analyzing the number of seeds in individuals that underwent manual self-pollinization, where the amount was much less than in the case of those in the aforementioned treatments, with an average of 450 ± 21 seeds per fruit, thereby in agreement with observations on physiological maturation in *T. heteromalla* (30).

The seeds of *T. heteromalla* were of significantly different sizes, measuring approximately 0,6 x 0,2 mm in self-pollinized and 0,8 x 0,4 mm, on an average in controls and cross pollinization. These characteristics were also observed in *Miconia cinnamomifolia*, another of the Melastomataceae species, as shown (35).

This difference in seed development could be related to plant environmental resource availability (for the plant), the lack of fertilization of all the ovules present in isolated plants, and the low quality of pollen produced by the anthers, thereby explaining the large number of aborted seeds found in these fruits and in those of other Melastomataceae species, as shown in (50), (3) and (44).

Seed germination in *T. heteromalla* occurred from the 6th day on, and extended until the 30th day at a temperature of 25 °C in B.O.D. Reckoning was done according to the Rules of Seed Analysis (5). The total germination rate was 56%. The germination of seeds from crosspollinization was higher compared to control and manual self-pollinization (Table 2).

Table 2 Percentages of seed germination in *Tibouchina heteromalla* Cogn. (Melastomataceae) flowers in the Parque Florestal Quedas do Rio Bonito, Lavras-MG

Treatment	Germination (%) *
Cross	81
Control	68
Manual self-pollinization	20

*Teste de Kruskal-Wallis a 5 % , p (0,00003)

Data from experiments on germination in *T. heteromalla* indicated that the germination rate in seeds from cross pollinated fruits was higher (81%), whereas in fruits formed from selfpollinization, it was only 20%. These data confirm that, even in self-compatible species, genotypes from cross-pollinization should be selected, due to the subsequent increase in population genetic variability, and the forthcoming improved conditions for species survival in the environment (33).

Very often, ideal environmental conditions for germination are related to the predominant ecological conditions of the plant-habitat. The most significant germination rates are those whereat the temperature is close to that recorded at the most propitious time for sprouting (4). In the present study, the test temperature portrays reality as it is to be found by *T. heteromalla* in the field, thus confirming the high values encountered in treatments.

The average time for germination (t_{-}) is an indication of the speed of the procedure, and can be used as proposed by (16) to classify seeds into three categories: quick (< 5 days), intermediate ($5 < t_{-} < 10$ days) and finally slow (> 10 days). On considering this classification, for *T. heteromalla* seeds germinated under continuous white light, the average time till completion was intermediate,

the lowest average being recorded at 25°C, as shown by (21), when working with *Tibouchina multiflora*.

T. heteromalla seeds are classified as orthodox, according to their internal water content. Thus they can be stored after drying due to their facility in losing water. This was noted after the humidity test, whereby the water rate was 23%, reaching below 10% after hot-house drying.

Development in orthodox seeds is complete only when the humidity rate is low (2). (44) Drying is an important factor through interrupting essential steps in development leading to germination, as continuance is coincident with re-hydration of quiescent seeds. In photosensitive seeds, phytochrome photoconversion only occurs in tissues with at least 15% humidity (45), thus confirming that the degree of tissue humidity is of prime importance.

During the process of seed development and maturation, the progressive loss of water directly influences the speed of germination (2,11,30). This can thus be considered as an efficient indicator of seed physiological maturity (2,11,44).

As to *T. heteromalla* visitors, individuals were registered from the following orders: Hemiptera - Family Apidae; Coleoptera - Family Curculionidae; Hymenoptera - Family Formicidae; Orthoptera - Family Tettigoniidae.

Most of all the insects collected visited flowers during the morning, from 9 a.m. to 3 p.m., with the highest peak between 10 to 12 a.m.

Due to the presence of tubulous anthers with spontaneous opening through pores, an eventual pollinizer may be found in the family Apidae, subfamily Xylocopinae. The species *Xylocopa brasiliatorum* (bumble bee) has been observed on *T. heteromalla*. These are mainly female collectors which embrace the anthers with the front legs and through vibratory movements caused

by the contraction and relaxing of flight muscles (7), bring about the spontaneous and profuse release of pollen from the wing cases.

In evolution, the differentiation of anthers to an elongated tube-shape and spontaneous opening through pores were responses to the mechanism of vibratory pollinization (14). (12) suggested that flowers pollinated by vibratory movements evolved from polyandrous, nectariferous flowers with a reduced number of stamens (and consequently producing little pollen), and which, in time, even stopped producing nectar.

According to (38), in the Melastomataceae, vibratory pollinization is so efficient that, once established, it is difficult for any alternative pollinating mechanism to evolve, even in groups very rich in species. The basic type of flowers in the Melastomataceae would probably be the result of co-evolution between old ancestors and bees (39).

According to (14), pore-opening anthers afford greater protection for pollen and diminish loss, since grains are guided towards the pollinator's body, besides limiting the number of visitors, as only certain groups of bees are capable of vibrating anthers.

Specimens of *Xylocopa brasilianorum* also visited open flowers, as in pre-anthesis (flower buds about to open), opening them with the legs. The specimen collected and analyzed in the laboratory revealed pollen grains stuck to the back of the thorax and on the head.

The flower of *T. heteromalla*, through being relatively small-sized is propitious for *Xylocopa brasilianorum*, since, according to (46) it has a short tongue, thus does not have the capacity to reach the base of long-sized flowers.

As *T. heteromalla* flowering is asynchronous, not all are fully in flower simultaneously, thereby forcing pollinizer movement among the various widely separated individuals. This behavior promotes cross-pollinization, consequently guaranteeing more intense gene flux (33). In this manner, during the months in

which *T. heteromalla* flowers remain open, bee species visit these seeking pollen and thus promoting both cross- as well as self-pollinization of the species.

Ants (Formicidae) were encountered throughout most of the day moving and foraging all over the plant, auspiciously offering protection. Hostility, on the part of the ant towards other floral visitors was noted, as was the case of an insect of the family Tettigoniidae, which the ant forced to withdraw and move to another floral bud. This was often noted.

The behavior of another individual of the same family (Tettigoniidae) was observed. This remained on the flower for 20 minutes, collecting pollen from the anthers of all the anteseptal stamens. No part of the insect body entered in contact with the stigma at any moment during collection, which can be partly explained by herkogamy, an instance of spatial separation between stigma and anther. From reports, it appears that this same occurrence was noted in other species of the family Melastomataceae, as *Miconia ciliata* and *Miconia discolor* (32), and *Cambessedesia hilariana* (19). According to (15) and (38), this mechanism is recognized as being one of those responsible for impeding spontaneous self-pollinization in hermaphroditic species.

Tibouchina heteromalla, although self-compatible, requires a pollen vector for successful reproduction. The system of cross-pollinization of a species can be influenced by pollinizer activity and flower density. In populations of low floral density, there is an increase in pollen dispersion and a lower incidence of self-pollinization (29). In plant-pollinizer interactions, the space between neighboring plants appears to be an important factor towards success. (28). As *T. heteromalla* is self-compatible, the efficiency of cross-pollinization may also be defined by plant behavior, the spatial distribution of individuals and the number of simultaneously available flowers on the plant.

The number of visitors observed, both quantitatively and qualitatively, was low. (20), on studying pollinization biology in high level fields, noted that

in rocky areas, gene flux is lower due to the scant possibility of pollinizers roaming over long distances. According to (6), reproduction in insects, in general associated to regional seasonality, normally occurs from October to March, followed by a diapause until the following summer.

As evidently shown, *Tibouchina heteromalla* is characterized by a self-compatible facultative xenogamic sexual system, changes in petal coloration, and androecium and gynaecium related to the initial phase of senescence. The stigma remains feasible during two days following floral anthesis, morning being the period of greater feasibility. The effective pollinizer was *Xylocopa brasilianorum*, through vibratory pollinization when collecting. It was also noted that disposable feeding resources for floral visitors and pollinizers are pollen grains, probably from glandular trichomes located on the stamens and even the stamens themselves, seeing that some insects feed on floral parts.

REFERENCES

- ALMEIDA, E.C. **Biologia floral e mecanismos de reprodução em *Crotalaria mucrota* Desv.** Ceres 33(190): 528-540. 1986.
- AMARAL, L.I.V.; PEREIRA, M.F.D.A. & CORTELAZZO, A.L. **Germinação de sementes em desenvolvimento de *Bixa orellana*.** Revista Brasileira de Fisiologia Vegetal 12(3): 273-285. 1999.
- BARROSO, G. M.; MORIM, M. P.; PEIXOTO A. L. & ICHASO, C. L. F. **Frutos e sementes: morfologia aplicada à sistemática de dicotiledôneas.** UFV, Viçosa. 1999.
- BASKIN, J.M. & BASKIN, C.C. **Role of temperature and light in the germination ecology of buried seeds of weedy species of disturbed forests. I. *Lobelia inflata*.** Canadian Journal of Botany 70: 589-592. 1992.
- BRASIL. **Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. Regras para análise de sementes.** Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 365p. 1992.
- BROWN, K.S.Jr. **Borboletas da Serra do Japi: diversidade, habitats, recursos alimentares e variação temporal.** p: 142-186. *In: História Natural da Serra do Japi: ecologia e preservação de uma área florestal no sudeste do Brasil (Morellato, L.P.C).* Editora Unicamp, Campinas. 1992.
- BUCHMANN, S. L. N. **Buzz pollination in Angiosperms,** p. 73-113. *In: C. E. JONES & J. LITTLE (Eds.) Handbook of experimental pollination biology.* New York, Van Nostrand Reinhold. 1983.
- BUCHMANN, S.L.; JONES, C.E. & COLIN, L.J. **Vibratile pollination of *Solanum douglasii* and *S. xanti* (Solanaceae) in southern California.** Wasmann Journal of Biology 35:1-25. 1977.

BULLOCK, S. H. **Breeding system in the flora of a tropical deciduous forest in Mexico.** *Biotropica*, 17: 287-301. 1985.

CURI, N.; LIMA, J. M.; ANDRADE, H. & GUALBERTO, V. **Geomorfologia, física, química e mineralogia dos principais solos da região de Lavras (MG).** *Ciência e Prática, Lavras*, 14(2): 297-307.1990.

DAY, J.S. Development and maturation of sesame seeds and capsules. *Field Crops Research* 67(1): 1-9. 2000.

DUKAS, R. & DAFNI, A. **Buzz pollination in three nectariferous Boraginaceae and possible evolution of buzz-pollinated flowers.** *Plant Systematic and Evolution* 169: 65-68. 1990.

EIDT, R.C. **The climatology of South America.** *In Biogeography and ecology in South America* (E.J. Fittkau, J. Illies, H. Klinge, G.H. Schwabe & H. Sioli, eds.). W. Junk Publishing, The Hague, 1: 54-81. 1968.

ENDRESS, P. K. Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge University Press, Cambridge. 551pp. 1994.

FAEGRI, K. & PIJL, L. VAN DER. **The principles of pollination ecology.** 3 ed. Oxford, Pergamon Press. 1979.

FERREIRA, A.G.; CASSOL, B.; ROSA, S.G.T.; SILVEIRA, T.S.; STIVAL, A.L. & SILVA, A.A. **Germinação de sementes de Asteraceae nativas do Rio Grande do Sul, Brasil.** *Acta Botanica Brasílica* 15: 231-242. 2001.

FIGUEIREDO R. A. **Biologia floral de plantas cultivadas. Aspectos teóricos de um tema praticamente desconhecido no Brasil.** *Argumento* 2 (3): 08-27. 2000.

FIGUEIREDO, R.A. & SAZIMA, M. **Phenology and pollination biology of eight *Peperomia* species (Piperaceae) in semideciduous forests in southeastern Brazil.** *Plant Biology*, 9(1): 136-141. 2007.

FRACASSO, C.M. & SAZIMA, M. **Polinização de *Cambessedesia hilariana* (Kunth) DC. (Melastomataceae): sucesso reprodutivo versus diversidade, comportamento e frequência de visitas de abelhas.** *Revista Brasileira de Botânica* 27(4): 797-804. 2004.

FREITAS, L & SAZIMA, M. **Pollination biology in a tropical high-altitude grassland in Brazil: interactions at the community level.** *Annals of the Missouri Botanical Garden* 93(3): 465–516. 2006.

GARCIA, L.C.; BARROS, F.V.; LEMOS FILHO, J.P. **Comportamento germinativo de duas espécies de canga ferrífera: *Baccharis retusa* DC. (Asteraceae) e *Tibouchina multiflora* Cogn. (Melastomataceae).** *Acta Botânica Brasilica* 20(2): 443-448. 2006.

GOLDENBERG, R. & I. G. VARASSIN. **Sistemas reprodutivos de espécies de Melastomataceae da Serra do Japi, Jundiá, São Paulo, Brasil.** *Revista Brasileira de Botânica*, 24: 283-288. 2001.

GRANT, V. **Plant Speciation.** Columbia University Press, New York. 1981.

GUIMARÃES, P.J.F. & MARTINS, A.B. ***Tibouchina* sect. *Pleroma* (D. Don) Cogn. (Melastomataceae) no estado de São Paulo.** *Revista Brasileira de Botânica* 20: 11-33. 1997.

KAGEYAMA, P.Y. **Recomposição da vegetação com espécies arbóreas nativas em reservatórios de usinas hidrelétricas da CESP.** *IPEF Série Técnica* 8(25): 1-43, Piracicaba. 1992.

KEARNS, C.A. & INOUE, D.W. **Techniques for pollination biologists.** University Press of Colorado, Niwot. 1993.

KEVAN, P.G. & BAKER, H.G. **Insects as flowers visitors and pollinators.** Annual Review of Entomology 28: 407-453. 1983.

KUNIN, W.E. **Population size and density effects in pollination: pollinator foraging and plant reproductive success in experimental arrays of *Brassica kaber*.** Journal of Ecology 85:225-234. 1997.

LEVIN, D.A. & KESTER, H.W. **Gene flow in seed plants. Evolutionary biology** 7: 139-220. 1974.

LOPES, J.C.; DIAS, P.C; PEREIRA, M.D. **Maturação fisiológica de sementes de quaresmeira.** Pesquisa Agropecuária Brasileira, Brasília, 40 (8): 811-816. 2005.

MARTINS, K.; SANTOS, J. D. DOS; GAIOTTO, F. A.; MORENO, M.A.; KAGEYAMA, P. Y. **Estrutura genética populacional de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae - Caesalpinioideae) em fragmentos florestais no Pontal do Paranapanema, SP, Brasil.** Revista Brasileira de Botânica, 31(1): 61-69. 2008.

MELO, G.F. & MACHADO, I.C. **Auto-incompatibilidade em *Miconia ciliata* (L.C. Rich.) DC. (Melastomataceae).** Acta Botanica Brasílica 12: 113-120. 1998.

MONTORO G. R., SANTOS M. L. **Fenologia e Biologia Reprodutiva de *Tibouchina papyrus* (Pohl) Toledo (Melastomataceae) no Parque Estadual da Serra dos Pireneus, Goiás.** Biol. Neutron. 4(1): 21-29. 2007.

NEWSTROM, L. E., G. W. FRAMKIE, H. G. BAKER & R. K. Colwell. **Diversity of longterm flowering patterns, In: L. A. McDade, K. S. Bawa, G. S. Hartshorn, H. A. Hespenheide (Eds). La selva: ecology and natural history of lowland tropical rainforest.** Chicago , University of Chicago Press. p. 142–160. 1993.

PEREIRA, T.S. & MANTOVANI, W. **Maturação e dispersão de *Miconia cinnamomifolia* (DC.) Naud. na Reserva Biológica de Poço das Antas, município de Silva Jardim RJ, Brasil.** Acta Botanica Brasilica 15(3): 335-348. 2001.

PROCTOR, M.; YEO, P. & LACK, A. **The natural history of pollination.** Harper Collins Publishers, London. 1996.

RADFORD, A.E.; DICKSON, W.C.; MASEY, J.R. & BELL, C.R. **Vascular plant systematics.** Harper & Row, New York. 1974.

RENNER, S.S. **A survey of reproductive biology in Neotropical Melastomataceae and Memecylaceae.** Annals of the Missouri Botanical Garden 76(2): 496-518. 1989.

RENNER, S. S. **Reproduction and evolution in some genera of Neotropical Melastomataceae.** *Memoirs of the New York Botanical Garden* 55: 143-152. 1990.

SANTOS, M. L. **Florística e biologia reprodutiva de espécies de Melastomataceae no Parque Estadual da Serra de Caldas Novas e Parque Estadual da Serra dos Pireneus, Goiás.** Universidade de Brasília, Brasília, DF. 2003.

SAKAGAMI, S. F.; S. LAROCA & J. S. MOURE. **Wild bee biocenotics in São José dos Pinhais (PR), south Brazil. Preliminary report.** Journal of the Faculty of Science, Hokkaido University, Zoology, 16(2): 253-291. 1967.

SAZIMA, I. & SAZIMA, M. **Mamangavas e irapuás (Hymenoptera, Apoidea): visitas, interações e conseqüências para a polinização do maracujá (Passifloraceae).** Revista Brasileira de Entomologia 33: 109-118. 1989.

SILVA, C.V. DA & AFFONSO, P. **Levantamento de *Tibouchina* Aubl. (Melastomataceae) no Parque Estadual da Serra do Mar – Núcleo Curucutu – São Paulo.** Revista do Instituto Florestal, São Paulo, 17(2): 195-206. 2005.

SIMÃO, E.; NAKAMURA, A.T. & TAKAKI, M.. **Época de colheita e capacidade germinativa de sementes de *Tibouchina mutabilis* (Vell.) Cogn. (Melastomataceae).** Biota Neotropica, 7(1). 2007.

TAKAKI, M.; KENDRIK, R.E. & DIETRICH, S.M.C. 1981. **Interaction of light and temperature on germination of *Rumex obtusifolius* L.** Planta 152(1): 209-214.

VIEIRA, M. F.; MEIRA, R. M. S. A.; QUEIROZ, L. P.; MEIRA NETO, J. A. **A. Polinização e reprodução de *Jacaranda caroba* (Vell.) D. C. (Bignoniaceae) em áreas de cerrado do sudoeste brasileiro.** Anais do VIII Congresso da SBSP, São Paulo, Brasil, p.13-19. 1992.

WASER, N. M. **Competition for pollination and floral character differences among sympatric plant species: A review of evidence.** *In: Handbook of Experimental Pollination Biology*, eds. C. E. Jones and R. J. Little, Van Nostrand Reinhold, N.Y., pp. 277-293. 1983.

WEISS, M. R. **Floral color changes as cues for pollinator.** *Nature* 354:227-229. 1991.

WEISS, M. R. **Floral color changes: a windspread functional convergence.** *American Journal of Botany* 82: 167-185. 1995.

ZAIA, J.E. & TAKAKI, M. **Estudo da germinação de sementes de espécies arbóreas pioneiras: *Tibouchina pulchra* Cong. e *Tibouchina granulosa* Cong. (Melastomataceae).** Acta Botanica Brasílica, 12: 221-229. 199.

ARTIGO 2

ECOLOGIA REPRODUTIVA DE *Ocimum selloi* BENTH.: UMA ESPÉCIE DE INTERESSE MEDICINAL

Caroline Cambraia Furtado Campos^{1,3}, Rosângela Alves Tristão Borém¹,
Mariana Esteves Mansanares¹, Diogo Francisco Rossoni

¹ Universidade Federal de Lavras, Departamento de Biologia, CP 3037 -
CEP.37200000 - Lavras-MG.

² Universidade Federal de Lavras, Departamento de Exatas, CP 3037- CEP.
37200000 – Lavras-MG.

³ Autor para correspondência: carol.cambraia@yahoo.com.br

RESUMO

A espécie medicinal *Ocimum selloi*, pertencente a família Lamiaceae, é rica em óleos essenciais destinados para produção de fármacos, perfumes e cosméticos. O conhecimento do sistema reprodutivo é extremamente relevante, pois permite definir estratégias para conservação e melhoramento genético. Neste intuito, o presente trabalho teve como objetivo conhecer os mecanismos reprodutivos de *O. selloi* Benth.: sua morfologia floral, abertura das floras, receptividade estigmática, viabilidade polínica, o sistema reprodutivo, produção de frutos e sementes, germinação das sementes e principais polinizadores. A espécie foi caracterizada como uma planta típica anual. A antese foi observada entre o período de 10:30 e 11:00. A espécie apresentou receptividade estigmática desde a fase da pré-antese até a pós-antese. A viabilidade polínica apresentou elevada taxa obtendo uma média de 97%. O sistema reprodutivo foi classificado como misto, apresentando taxas de autopolinização maiores que a de polinização cruzada. A espécie também apresentou cleistogâmia e autocompatibilidade. As sementes apresentaram dormência após a maturação fisiológica. A análise de visitantes florais mostrou que os principais foram insetos da família Apidae. Os recursos alimentares oferecidos aos visitantes florais e polinizadores são o grão de pólen das anteras e néctar.

Palavras-chave: Reprodução. *Ocimum*. Alógama. Autógama. Polinização.

ABSTRACT

The medicinal plant *Ocimum selloi* belonging to family Lamiaceae is rich in essential oils designed to produce pharmaceuticals, perfumes and cosmetics. The knowledge of the reproductive system is extremely important because it allows to define strategies for conservation and breeding. With this in mind, this study aimed at understanding the mechanisms of reproductive *O. selloi* Benth.: floral morphology, opening of floras, stigmatic receptivity, pollen viability, breeding system, fruit and seed production, seed germination and the main pollinators. The species was characterized as a typical annual plant. Anthesis was observed between the period of 10:30 and 11:00. The species had stigmatic receptivity from the stage of pre-anthesis to post-anthesis. The pollen has a high rate obtained an average of 97%. The reproductive system was classified as mixed, with selfing rates greater than the cross-pollination. The species also has cleistogamy and self-compatibility. Seed dormancy after maturation. The analysis of floral visitors showed that insects were the main family Apidae. The food resources available to flower visitors are pollinators and the pollen from the anthers and néctar.

Keywords: Reproduction. *Ocimum*. Pollinating. Autogamous. Pollination.

1 INTRODUÇÃO

O Brasil possui uma das maiores biodiversidades da Terra, e pelo menos a metade de suas espécies vegetais pode ter alguma propriedade terapêutica útil à população. Entretanto, apenas uma pequena parte dessas plantas foi estudada principalmente no que se refere à sua variabilidade genética e ecologia (MARTINS et al., 1994).

O gênero *Ocimum*, pertencente a família Lamiaceae, compreende plantas ricas em óleos essenciais destinados às indústrias para produção de fármacos, perfumes e cosméticos (MORALES et al., 1996). Esta espécie apresenta hábito subarborescente e possui largo uso popular como antidiarreico, antiespasmódico e antiinflamatório (LORENZI; MATOS, 2003), além da ação comprovada como repelente de insetos (PAULA; GOMES-CARNEIRO; PAUMGARTTEN, 2003).

Entre as espécies deste gênero encontra-se a alfavaquinha (*Ocimum selloi* Benth.) também conhecida popularmente como Elixir-Paregórico ou Atroveran, planta da família Lamiaceae que ocorre frequentemente nas regiões Sudeste e Sul do Brasil (MARTINS, 1998).

Facanali (2004, 2008), estudando a caracterização genética e química de populações de *Ocimum selloi* oriundas dos estados de São Paulo, Paraná e Minas Gerais, encontrou divergência genética e variação na composição química dos óleos essenciais em função das regiões de origem. Sendo assim, um dos fatores importantes para auxiliar o conhecimento e traçar melhores estratégias para a conservação e manejo desta espécie é compreender os seus mecanismos reprodutivos.

Para o gênero *Ocimum*, estudos demonstram que este pode apresentar fecundação cruzada, apesar de se reproduzirem predominantemente por autofecundação, o que evidencia a ampla versatilidade reprodutiva deste gênero,

acentuando a variabilidade genética, a qual é essencial para sua evolução (ALMEIDA et al., 2004).

Gonçalves (2006) argumenta que flores de *Ocimum* apresentam atributos florais relacionados à síndrome floral de melitofilia, mas que nem sempre estas características são suficientes para definir o poder da espécie em atrair polinizadores. No entanto, sugere que o principal polinizador do gênero seja *Apis mellifera* seguidos de outros himenópteros. Porém, a presença de menor número de flores e maior produção de frutos em algumas espécies do gênero pode sugerir menor eficiência em atrair polinizadores, o que favorece a autogamia. Flores pequenas, androceu e gineceu próximos são características de plantas autógamas.

Pesquisas sobre interações planta-polinizador têm sido norteadas por enfoques diversos, tais como a ecologia de comunidades e genética de populações, ajudando ainda a elucidar questões em vários campos, como sistemática e filogenia vegetal, biologia evolutiva e adaptação, ecologia de populações, biologia reprodutiva e biologia da conservação. Estas informações ainda podem ser utilizadas em estudos de regeneração de áreas degradadas, sobrevivência e manutenção de populações fragmentadas, manejo de populações naturais e conservação ambiental (KAGEYAMA, 1992; MARTINS et al., 2008).

Sendo assim, o presente trabalho teve como objetivo estudar os aspectos reprodutivos de *Ocimum selloi* Benth., que são: a morfologia e biologia floral, o sistema reprodutivo, germinação de sementes e a identificação de seus principais polinizadores e visitantes florais.

2 MATERIAL E MÉTODOS

Local de estudo - O experimento foi conduzido no Horto de Plantas Medicinais “Ervas & Matos” da Universidade Federal de Lavras, localizado no município de Lavras, sul de Minas Gerais, entre as coordenadas de 21°14’ de latitude sul e 45°00’ de longitude oeste, em uma altitude média de 900 metros.

Os indivíduos de *O. selloi* são cultivados em canteiros oriundos de duas populações diferentes, um apresentando coletas de um cerrado na cidade de Lavras e outra em um cerrado da cidade de Luminárias. Em cada canteiro foram distribuídos 50 indivíduos, sendo utilizados dois canteiros para cada população. Os canteiros recebem irrigação uma vez ao dia.

Espécie estudada - *Ocimum selloi* é uma planta herbácea anual, muito ramificada, atingindo de 0,5 a 1 m de altura. Apresenta caule e ramos quadrangulares e pilosos, quando novos. Suas folhas são simples, opostas, elíptico-lanceoladas com margem serrilhada, ápice acuminado e base atenuada, medindo até 5 cm de comprimento por até 2,5 cm de largura e cor verde-brilhante.



Figura 1 Indivíduos de *Ocimum selloi* Benth

A inflorescência é do tipo cimeira espiciforme, e as flores com corola de cor roxa, labiadas, agrupadas três a três com nectário extrafloral na base de cada grupo, completas, hermafroditas, cíclicas e hipóginas. Cálice persistente, gamossépalo e pentâmero.



Figura 2 *Ocimum selloi* Benth.: ramos com inflorescência

Morfologia e biologia floral: Foram realizadas visitas mensais à área durante o período de estudo que ocorreu de junho de 2008 à junho de 2010, e visitas semanais ou diárias durante as fases de floração e frutificação da espécie. A caracterização morfológica da flor foi realizada com base em observações de campo, laboratório e consultas bibliográficas.

Foram selecionados cinco indivíduos e marcados, em cada um deles cinco botões em pré-antese, com fios coloridos. Os botões foram observados ao longo do dia para acompanhar a abertura floral.

A receptividade estigmática foi verificada em campo, pelo seu aspecto viscoso e umectante (ALMEIDA, 1986), e testada de acordo com técnica

utilizando peróxido de hidrogênio (H_2O_2) a 3% (KEARNS; INOUE, 1993) sendo observada com auxílio de lupa manual. Para esta avaliação, o teste foi feito em botões e flores, em diferentes fases de desenvolvimento, desde a pré-antese até a senescência, sendo a presença de catalase indicadora da receptividade.

Foram coletados grãos de pólen das anteras de dez indivíduos diferentes. Os grãos de cada indivíduo foram colocados em lâmina histológica e corados com carmim acético 1,2%, de acordo com metodologia descrita por Radford et al. (1974), para posterior observação sob microscópio de luz. Para cada lâmina foram contados os 100 primeiros grãos de pólen. A porcentagem de grãos viáveis foi calculada a partir da proporção entre grãos viáveis e não viáveis. Os grãos com citoplasma corado foram considerados viáveis e aqueles que não apresentaram citoplasma corado e morfologia regular foram considerados inviáveis (GOLDENBERG; VARASSIN, 2001). Para se calcular a média de grãos de pólen produzidos por antera, cinco destas foram coletadas de cinco indivíduos diferentes, o qual se fez a contagem geral de todas.

Sistema Reprodutivo: Para a determinação do sistema reprodutivo, foram realizados cinco testes, sendo que a autopolinização espontânea foi estimada pelo ensacamento de 150 botões florais de 25 inflorescências, tomadas aleatoriamente de 1000 indivíduos. Os botões foram ensacados com sacos de polietileno providos de poros, segundo a técnica de Ormond e Pinheiro (1974), 24 horas antes de sua abertura, a qual foi visualmente determinada. No segundo teste houve o ensacamento de 150 botões florais, que foram emasculados antes da deiscência das anteras e, posteriormente, polinizados manualmente com pólenes de flores de outras inflorescências no mesmo indivíduo, sendo logo após ensacados para não ocorrer contaminação, testando-se a autopolinização manual. No terceiro tratamento, 150 botões, os quais, depois de emasculados, ficaram expostos sem proteção alguma e, 24 horas após, foram ensacados, para evitar

interferências externas e observados, diariamente, até a obtenção dos frutos, verificando-se assim a polinização cruzada espontânea. Para o quarto teste, 150 botões florais, foram totalmente emasculados antes da deiscência das anteras. Tanto os botões artificialmente polinizados quanto aqueles dos quais o pólen foi retirado foram protegidos com sacos de polietileno, a fim de evitar a contaminação com o pólen de outras flores. Imediatamente após a emasculação, as flores foram polinizadas e o pólen de uma planta foi conduzido até o estigma da flor de outra planta pertencente à outra população, por meio de uma agulha de dissecação, flambada a cada vez que era usada; em seguida, os botões florais foram novamente ensacados, assim caracterizando a polinização cruzada manual. No último tratamento as flores foram marcadas, sem qualquer isolamento, ou seja, em condições naturais para o controle. Foram etiquetados 150 botões, com o objetivo de estimar o percentual de frutos produzidos em condições naturais.

O “índice de auto-incompatibilidade” (ISI) estabelecido por Zapata e Arroyo (1978), foi calculado com as modificações apresentadas por Freitas e Oliveira (2002). O ISI foi obtido pela divisão do percentual de frutificações resultantes de autopolinizações pelo percentual de frutos formados no teste de polinização cruzada.

Os frutos formados foram coletados e as sementes deles provenientes foram colocadas para germinar em câmaras de germinação do tipo B.O.D., com temperatura alternada de $20\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$ e $30\text{ }^{\circ}\text{C} \pm 1$, com fotoperíodo de 12 horas, condições estas, encontradas na “Regra de Análise de Sementes” (BRASIL, 1992) para outra espécie do gênero, o *Ocimum basilicum*. Os testes de germinação foram realizados no Laboratório de Fisiologia Vegetal, no Departamento de Biologia da UFLA.

A espécie, no entanto, apresenta dormência a qual foi quebrada utilizando a solução de nitrato de potássio a 0,2% na primeira embebição da

semente, conforme recomendada pela “Regra de Análise de Sementes” (BRASIL, 1992).

Inicialmente foi realizada a assepsia das sementes utilizando-se solução de hipoclorito de sódio a 1% por 1 min. Em seguida, as sementes foram lavadas em água destilada e colocadas para secar ao natural. Posteriormente, as sementes foram distribuídas em placas de Petri de 9 cm com dupla camada de papel filtro umedecido com 2,5 vezes a sua massa por água destilada. Os frutos e as respectivas sementes foram separados de acordo com o tratamento reprodutivo que os originou: T1 – autopolinização espontânea; T2 – autopolinização manual; T3 – polinização cruzada espontânea, T4- polinização cruzada manual e T5- controle.

Os testes de germinação foram conduzidos em delineamento inteiramente casualizado, com quatro repetições de 50 sementes para cada tratamento. As observações foram feitas a cada dois dias a olho nu e ao microscópio estereoscópico e os resultados registrados durante 30 dias. Foi indicado início da protrusão da primeira radícula e calculada a porcentagem de germinação.

Visitantes Florais: As observações relativas aos visitantes florais foram realizadas no campo em plantas previamente marcadas, no período entre 05h30min e 17 h durante quatro dias consecutivos a cada mês do ano, sendo verificados o comportamento de forrageamento, horário e frequência. Os espécimes-testemunho foram coletados com rede entomológica, e em alguns casos diretamente no vidro, e depositados em câmaras mortíferas para posterior determinação taxonômica por especialistas do Departamento de Entomologia da Universidade Federal de Lavras. Realizou-se uma documentação fotográfica dos polinizadores durante as visitas.

3 RESULTADOS E DISCUSSÃO

De acordo com a classificação de Newstrom, Frankie & Baker (1994), a espécie é uma típica anual, caracterizado por um único episódio de florescimento e frutificação durante o ano. O início da floração tendeu a ocorrer após as primeiras chuvas, durante os meses de outubro a março com um longo período de frutificação que ocorreu entre os meses de março a agosto.

O estudo do período de floração é considerado de interesse para o manejo das espécies, pois o número de frutos e sementes produzidos está muitas vezes correlacionado positivamente com o número de flores produzidas (BULLOCK; BEACH; BAWA, 1983). Bawa e Krugman (1991) constataram que, em muitos casos, a falha no manejo da vegetação ocorre pela falta de conhecimentos básicos relacionados à reprodução biológica das espécies.

Ocimum selloi possui flores agrupadas (Figura 3) em inflorescências do tipo verticilastro, onde esta se encontra contraída, com eixos curtos, ficando as flores muito aglomeradas na axila de duas brácteas opostas. O eixo principal apresenta crescimento indeterminado enquanto os laterais são cimosos compostos três a três, com nectário extrafloral na base de cada grupo de três flores, sendo estas completas, monóclinas, cíclicas e hipóginas (Figura 3).



Figura 3 Inflorescência de *Ocimum selloi* Benth

O cálice é pentâmeros, gamossépalos, persistentes e encobre parte do tubo da corola, apresenta coloração esverdeada. A corola é bilabiadas, gamopétalas, pentâmeras, zigomorfas de coloração do roxo ao róseo (Figura 3).

O androceu é dialistêmone, oligostêmone, didínamo e epipétalo; as anteras são livres, dorsifixas, ditecas com deiscência rimosa ou longitudinal. O gineceu é gamocapelar, com estigma bifido e estilete ginobásico e ovário súpero, tetralobado, com disco nectarífero na base (Figura 4). Os mericarpos são tetraquênios, amarronzados e ligeiramente alongados.



Figura 4 Cálice e Gineceu de *Ocimum selloi* Benth

Durante a pré-antese verificou-se que, embora a flor permaneça fechada, ocorre liberação de grãos de pólen sobre o estigma, que já se encontra receptivo, sugerindo cleistogamia em pré-antese como observado por Almeida et al., (2004) em *O. officinalis*, e por Silva et al., (2008) em *O. canum*. Portanto, este mecanismo favorece a reprodução autógama.

Durante as observações realizadas constatou-se que o maior número de flores em antese de *O. selloi* ocorre entre 12:00 e 13:00 horas, tendo seu início entre 10:30 e 11:00 e seu término a partir das 15:00 horas, diferente do que foi verificado para outras espécies do gênero (Tabela 1).

Tabela 1 Comparação entre períodos de antese e receptividade estigmática entre diferentes espécies de *Ocimum*

Espécies do Gênero <i>Ocimum</i>	Nome Popular	Antese	Receptividade Estigmática	Fonte
<i>O. selloi</i> Benth.	Atroveram	10:30 - 11:00	Pré-antese, antese e pós-antese	Presente estudo
<i>O. canum</i> Sims	Manjeriçãodoce	9:00 - 10:00	Pré-antese, antese e pós antese	Silva <i>et al.</i> 2008
<i>O. officinalis</i> L.	Alfavacão	9:30 - 10:30	Pré-antese, antese e pós-antese	Almeida <i>et al.</i> 2004
<i>O. sanctum</i> L.	Tulase	9:00 - 9:30	Pré-antese, antese e pós-antese	Almeida 2007

A receptividade do estigma iniciou-se na pré-antese e permaneceu mesmo após a abertura da flor, sendo possível nestas condições a ocorrência de um sistema misto de reprodução, o que condiz com estudos feitos por Khosla (1986) e Nation et al. (1992).

Após a antese a longevidade da flor foi em torno de 24 horas. Entretanto, as flores não se abrem sincronicamente nas inflorescências, sendo encontradas flores em diferentes fases de desenvolvimento na mesma planta, no decorrer de um dia.

A produtividade polínica média por flor foi de 1035, ocorrendo uma diminuição ao longo dos diferentes estádios florais (Tabela 2 e Figura 5). A alteração na cor da corola e das anteras, levemente amarronzadas com o passar do tempo, pode indicar a redução da disponibilidade do recurso, semelhante ao observado em *O. canum* por Silva et al. (2008).

Tabela 2 Produção e viabilidade do pólen de *O. selloi* em três estádios florais de desenvolvimento

Estádios Florais	I.C. para a média do número total de grãos de pólen	I.C. para a média (%)	CV (%)
Pré-antese	1360±199,5	97±1,96	11,79
Antese	1031±99	97±2,48	7,72
Pós-antese	715±79,5	98±1,24	8,95

C.V. – Coeficiente de variação

I.C. – Intervalo de confiança a 5% de significância.

Gráfico de Boxplot

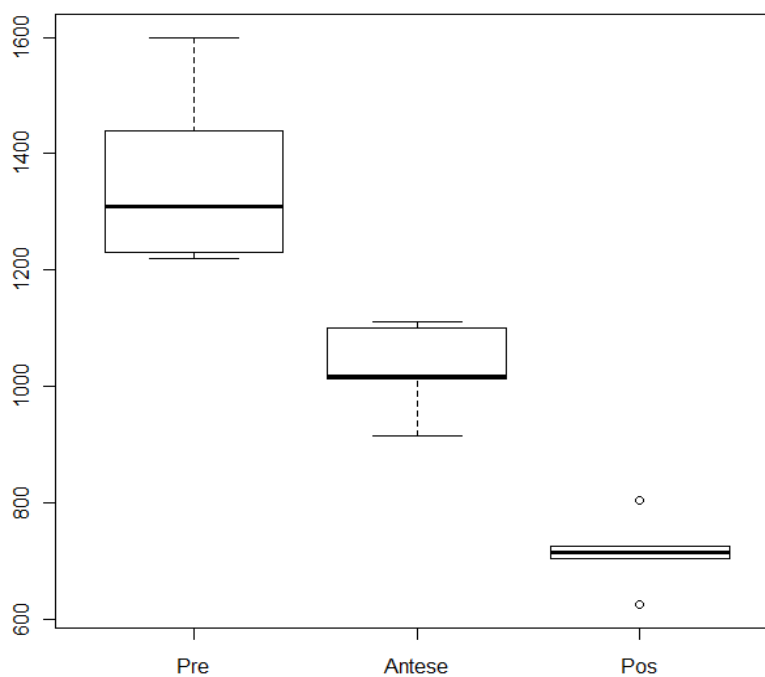


Gráfico 1 Comparação da produtividade de grãos de pólen entre os diferentes estádios florais

Estudos realizados por outros autores com diferentes espécies do gênero *Ocimum* obtiveram valores similares quanto à produtividade média de grãos de pólen por flor e viabilidade aos valores encontrados para a espécie *Ocimum selloi* (Tabela 3).

Tabela 3 Valores médios e viabilidade polínica média de espécies do gênero *Ocimum*

Espécies do Gênero <i>Ocimum</i>	Número Médio de Grãos de Pólen	Viabilidade Média de Grãos de Pólen (%)	Fonte
<i>O. selloi</i> Benth.	1035	97	Presente estudo
<i>O. canum</i> Sims	1015	97	Silva <i>et al.</i> 2008
<i>O. officinalis</i> L.	920/3828	96/97	Almeida <i>et al.</i> 2004
<i>O. sanctum</i> L.	590	98	Almeida 2007

Segundo Flanklin *et al.* (1995), a viabilidade polínica é fundamental para a análise da fertilidade do pólen, podendo auxiliar no desenvolvimento de programas de melhoramento genético. Sendo a viabilidade polínica de *O. selloi* considerada alta, este pode ser um fator importante para o melhoramento genético da espécie.

Em relação ao sistema reprodutivo, a espécie *Ocimum selloi* apresentou maiores taxas nos teste de autopolinização espontânea (75%), indicando geitonogamia (Tabela 4). A geitonogamia é a transferência do pólen da antera para o estigma de outra flor situada na mesma planta, sendo isso possível devido a ocorrência de diversas flores abertas ao mesmo tempo, no mesmo indivíduo.

Tabela 4 Resultados de cruzamentos espontâneos e manuais em *Ocimum selloi* obtidos no presente estudo

Sistemas Reprodutivos (modalidades)	N° Total de Flores Utilizadas	N° Total de Mericarpos Esperados	N° Total de Mericarpos Obtidos	Frutificação (%)
Autopolinização espontânea	150	600	450	75,00
Controle	150	600	310	51,66
Polinização Cruzada espontânea	150	600	220	36,66
Autopolinização Manual	150	600	175	29,16
Polinização Cruzada manual	150	600	53	8,83

Porém, os resultados demonstram que a espécie apresenta uma combinação dos sistemas reprodutivos, sendo possível ocorrer taxas de fecundação cruzada, já que foram obtidas sementes viáveis através deste tratamento e também por autofertilização, ou seja, apresenta um sistema de reprodução misto, podendo se reproduzir tanto por autogamia quanto por alogamia.

A autogamia permite a formação de linhagens puras para caracteres de importância econômica, o que é interessante para a realização de cruzamentos nas gerações posteriores de *Ocimum selloi*. Já a alogamia possibilita a manutenção ou aumento do vigor híbrido dos indivíduos pela ocorrência de novas combinações de genes codificadores de caracteres de interesse agrônomo (PATERNIANI, 1974) como, por exemplo, a produção de óleos essenciais que, por serem amplamente utilizados pelas indústrias farmacêuticas, têm alto valor no mercado nacional e internacional (NATION et al., 1992). Assim, devido à ocorrência de autogamia, pode-se inferir que a espécie *O. selloi* é autocompatível, sendo alta a viabilidade das sementes originadas por autopolinização.

O índice de autoincompatibilidade (ISI), que mede a relação entre o percentual de frutificação por autopolinização e o percentual de frutificação por polinização cruzada, foi de 0,80. De acordo com o critério adotado por Freitas e Oliveira (2002), este resultado atesta que *Ocimum selloi* é uma espécie autocompatível ($ISI < 0,25$).

Segundo Allard (1971) e Paterniani (1974), a autogamia permite à população adaptação às condições locais. Este sistema reprodutivo também exige menores investimentos em produção de flores, que são pequenas, pouco abundantes e pouco atraentes. Porém, a alogamia garante maior flexibilidade adaptativa à espécie, por proporcionar maior variabilidade genética.

Resultados semelhantes foram obtidos nos trabalhos realizados por Silva et al. (2008) com *Ocimum canum*, Almeida et al. (2004) com *O. officinalis* e Almeida (2007) com *O. sanctum*, os quais apresentaram sistema de reprodução misto podendo reproduzir-se tanto por polinização cruzada (alogamia) como por autopolinização (autogamia) (Tabela 5).

Tabela 5 Frutificação nos testes de polinização em algumas espécies de *Ocimum*

Frutificação (%)					
Espécies do Gênero <i>Ocimum</i>	Autopolinização Natural	Autopolinização Artificial	Polinização Cruzada Natural	Polinização Cruzada Artificial	Polinização Espontânea
<i>O. selloi</i> Benth. (presente estudo)	75,00	29,16	36,66	8,83	51,66
<i>O. canum</i> Sims (Silva et al. 2008)	13,83	27,00	66,67	7,17	63,00
<i>O. officinalis</i> L. (Almeida et al. 2004)	96	15	25	5	100,00
<i>O. sanctum</i> L. (Almeida 2007)	80,17	14,33	24,83	4,17	-

No entanto, sistema misto de cruzamento é comum em plantas com flores (INGVARSSON, 2002). Atualmente existem fortes evidências que a ocorrência simultânea da autofertilização e da fertilização cruzada seja gerada, principalmente, por forte depressão endogâmica (GOODWILLIE; KALISZ; ECKERT, 2005) influenciada pelo cultivo da espécie. O principal custo genético da endogamia é o efeito deletério da depressão, contudo ela não é constante e varia de acordo com o nível de autofertilização. Em uma condição em que depressão por endogamia não varia e sua flutuação ocorre de forma estocástica entre as gerações, com média aproximada de 0,5, a autofertilização não é necessariamente selecionada. Como resultado desta flutuação, a depressão por endogamia pode ser vista como um custo adicional da autofertilização que pode estabilizar-se no sistema misto de cruzamento (CHEPTOU; SCHOEN, 2002).

A substancial frequência de espécies com taxa de cruzamento intermediária oferece evidências de que o sistema misto de cruzamento possa ser uma estratégia estável; contudo não existe uma quantificação desta frequência de modo que não se pode afirmar ainda se este modo é estável ou apenas uma fase de transição. Para tanto, são necessários mais estudos teóricos com um maior número de táxons para uma maior precisão nas conclusões (GOODWILLIE; KALISZ; ECKERT, 2005).

Contudo, um sistema misto de reprodução pode ser considerado um fator de segurança contra distúrbio natural ou antrópico que afeta a densidade de plantas ou polinizadores, caso em que a sobrevivência é mais crítica que a qualidade da reprodução (DORNIER; MUNOZ; CHEPTOU, 2008).

Nos testes relacionados à germinação das sementes formadas pelos frutos produzidos após os tratamentos reprodutivos ocorreu a protrusão da radícula no 7º dia, estendendo-se até o 30º dia, com taxa média total de germinação de 66,6% (Figura 6). Porém, a germinação das sementes resultantes de autopolinização foi maior em relação ao controle e à polinização cruzada

(Tabela 6 e 7). Segundo Eckstein e Otte (2005) o modo de polinização (autofecundação, cruzamento) pode ter considerável efeito sobre as características das sementes e desempenho da prole e, portanto, na sua potencial viabilidade. Os mesmos autores, em um estudo com *Viola elatior*, *V. pumila*, *V. stagnina*, observaram que plantas que apresentam sistema misto de reprodução formam sementes com maior massa e com maior velocidade de germinação. Esta condição é possível por causa de um trade-off, onde este tipo de sistema reprodutivo realoca uma maior quantidade de recurso para a reprodução, reduzindo em quantidade de sementes e investindo em qualidade da mesma. Porém, Eckstein e Otte (2004), em um estudo comparativo entre autopolinização e polinização cruzada descrevem que sistemas autógamos produzem sementes com maior massa e melhor germinabilidade refletindo em melhor aptidão que sementes produzidas por sistemas alógamos. Isto sugere que seja uma outbreeding depressão entre populações distantes, resultado este que condiz com o estudo em *O. selloi*.



Figura 5 Germinação de sementes de *Ocimum selloi* Benth.

Tabela 6 Comparação de médias realizada pelo teste Tukey, SNK e Scott-Knott e porcentagem de sementes germinadas

Sistemas Reprodutivos (Modalidades)	Média de Sementes Germinadas (n=50)	Sementes Germinadas (%)	Tukey	SNK	Scott-Knott
Polinização Cruzada manual	16,5	8,83	a	a	a
Autopolinização manual	26,5	29,16	b	b	b
Polinização Cruzada espontânea	36	36,66	c	c	c
Controle	41,5	51,66	d	d	d
Autopolinização espontânea	46	75,00	d	e	e

Comparação de médias realizado pelo teste Tukey, SNK e Scott-Knott a 5% de significância.

Tabela 7 Análise de variância para a germinação de sementes de *Ocimum selloi* Benth

FV	GL	SQ	QM	Fc	Pr>Fc
Tratamento	4	2257,20	564,30	130,22	0,00 *
Erro	15	65,00	4,33		
Total corrigido	19	2322,20			
CV(%) =	6,25				
Média geral:	33,30				

*O tratamento foi significativo a 5% de significância pelo teste F, ou seja, existe diferença significativa entre as médias dos tratamentos.

No entanto, as flores de *Ocimum selloi* apresentam atributos florais relacionados à síndrome floral de melitofilia (FAEGRI; PIJL, 1980), tais como corola pouco tubulosa, odor doce, pequena distância entre a câmara nectarífera e

os órgãos sexuais e antese diurna (Figura 4). Por outro lado, essas características nem sempre são suficientes para definir o polinizador da espécie.

Neste estudo foi observada uma intensa presença de *Apis mellifera* L., considerado o polinizador mais comum do gênero *Ocimum* (DARRAH, 1974), durante todos os meses de floração no período de 10:00 as 15:00 horas pousando, em cada visita, em várias flores, permanecendo em cada uma de 5 a 10 segundos. Segundo Almeida et al. (2004), um bom polinizador visita grande número de plantas de uma mesma espécie, transportando, por sua vez, numerosos grãos de pólen em seus pêlos ramificados, requisito este que faz da *A. mellifera* um importante vetor de pólen para *O. selloi*, possibilitando a esta espécie produzir sementes por reprodução cruzada mediante possíveis falhas na autopolinização.

Em suas visitas o inseto, após o pouso na corola, agarra-se aos lacínios desta com o primeiro par de pernas; equilibra-se e então introduz a cabeça no interior do tubo floral, o que facilita o contato do aparelho bucal com as glândulas nectaríferas situadas na base do ovário. Ao fazer esse movimento em busca do néctar, a abelha pressiona as pétalas para baixo, balançando os estames de modo que o pólen se disperse, aderindo-se no dorso e abdômen do seu corpo.

Odum et al. (1988), analisando a ecologia de polinizadores, constatou que altas frequências de visitantes florais exóticos, como *Apis mellifera* L., representam uma simplificação de guilda, principalmente em fragmentos pequenos, sugerindo que a alteração de habitats prejudica o comportamento e o raio de abrangência dos polinizadores nativos da região, que ficam confinados às áreas contínuas de vegetação (AIZEN; FEINSINGER, 1994).

No entanto, como as abelhas polinizam grande parte das angiospermas, elas e outros polinizadores deveriam ser protegidos e manejados como um componente importante da biodiversidade (VINSON; FRANKIE; BARTHELL, 1993), uma vez que, o destino de muitas plantas nativas depende da preservação

de suas relações mutualísticas com os polinizadores, bem como da conservação de áreas naturais, habitat destes polinizadores (ALVES-DOS-SANTOS, 1998; O'TOOLE, 1993).

Outros visitantes também foram observados tais como insetos das famílias Sirphidae, Asilidae e Muscidae, porém em baixa quantidade.

Cabe salientar que, durante as observações, foi detectada a presença de formigas por todo o vegetal. Elas se deslocam aleatoriamente por todo o indivíduo, muito raramente chegam até as flores e, quando o fazem, limitam-se a percorrer as pétalas, sem causar-lhes danos, concentrando-se principalmente na região dos nectários extraflorais. A fauna de formigas associada com a planta é formada por cinco espécies, sendo *Solenopsis* sp. mais frequente no período diurno, e *Camponotus lespesi* no período vespertino e noturno.

Sendo assim, a partir dos dados analisados neste trabalho pode-se concluir que a espécie *Ocimum selloi* apresenta floração e frutificação anual, cleistogamia em pré-antese e antese entre o período de 10:30 até as 15:00 horas. A receptividade do estigma iniciou-se na pré-antese e permaneceu mesmo após a abertura da flor e a viabilidade polínica foi alta, apresentando uma taxa de 97%. A espécie apresentou um sistema misto de reprodução podendo formar frutos tanto por autopolinização quanto por fecundação cruzada, além de apresentar índice de autocompatibilidade. No teste de germinação o maior percentual foi obtido no teste de autopolinização. A análise de visitantes florais mostrou que os principais foram insetos da família Apidae. Os recursos alimentares oferecidos aos visitantes florais e polinizadores são o grão de pólen das anteras e o néctar.

REFERÊNCIAS

AIZEN, M. A.; FEINSINGER, P. Habitat fragmentation, native insect pollinators, and feral honey bees in Argentine "Chaco Serrano". **Ecological Applications**, Tempe, v. 4, n. 2, p. 378-392, Dec. 1994.

ALLARD, R. W. Sistemas reprodutivos e métodos de melhoramento de plantas. In: _____. **Princípios do melhoramento genético de plantas**. Rio de Janeiro: E. Blücher, 1971. cap. 4, p. 25-40.

ALMEIDA, E. C. de. Biologia floral e mecanismos de reprodução em *Crotaria mucrota*. **Revista Ceres**, Viçosa, MG, v. 33, n. 190, p. 528-540, 1986.

ALMEIDA, O. S. **Biologia floral**: tendências reprodutivas e efeito alelopático da tulase (*Ocimum sanctum* L.). 2007. 88 p. Dissertação (Mestrado em Fitotecnia) - Universidade Estadual do Sudoeste da Bahia, Vitória da Conquista, 2007.

ALMEIDA, O. S. et al. Estudo da biologia floral e mecanismos reprodutivos do alfavacão, *Ocimum officinalis* L. visando o melhoramento genético. **Acta Scientiarum - Biological Sciences**, Maringá, v. 26, n. 3, p. 343-348, 2004.

ALVES-DOS-SANTOS, I. A importância das abelhas na polinização e manutenção da diversidade dos recursos vegetais. In: ENCONTRO SOBRE ABELHAS, 3., 1998, Ribeirão Preto. **Anais...** Ribeirão Preto: USP, 1998. p. 101-106.

BAWA, K. S.; KRUGMAN, S. L. Reproductive biology and genetics of tropical trees in relation to conservation and management. In: GOMEZ-POMPA, A.; WHITMORE, T. C.; HADLEY, M. (Ed.). **Rain forest regeneration and management**. London: UNESCO, 1991. p. 119-136.

BRASIL. Ministério da Agricultura e Reforma Agrária. **Regras para análise de sementes**. Brasília: SNDA/DNDV/CLAV, 1992. 365 p.

BULLOCK, D.; BEACH, J. H.; BAWA, K. S. Episodic flowering and sexual dimorphism in *Guarea rhopalocarpa* in Costa Rican rain forest. **Ecology**, Durham, v. 64, n. 6, p. 851-861, Dec. 1983.

CHEPTOU, P. O.; SCHOEN, D. J. **Sistema misto de cruzamento**. Copenhagen: Oikos, 2002. 279 p.

DARRAH, H. H. Investigations of the cultivars of basils (*Ocimum*). **Economic Botany**, New York, v. 28, n. 1, p. 63-67, Jan. 2002.

DORNIER, A.; MUNOZ, F.; CHEPTOU, P. Allee effect and self-fertilization in hermaphrodites: reproductive assurance in a structure metapopulation. **Evolution**, New York, v. 62, n. 10, p. 2558-2569, Oct. 2008.

ECKSTEIN, R. L.; OTTE, A. Effects of cleistogamy and pollen source on seed production and offspring performance in three endangered violets. **Basic and Applied Ecology**, Jena, v. 6, n. 4, p. 339-350, Apr. 2005.

_____. Evidence for consistent trait-habitat relations in two closely related violets of contiguous habitat types from a fertiliser experiment. **Flora**, London, v. 199, n. 1, p. 234-246, Apr. 2004.

FACANALI, R. **Caracterização da diversidade genética e da composição química do óleo essencial de populações de *Ocimum selloi* Benth.** 2004. 93 p. Dissertação (Mestrado em Horticultura) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2004.

_____. **Estudo da biologia reprodutiva, diversidade genética e química de populações de *Ocimum selloi* Benth.** 2008. 129 p. Tese (Doutorado em Horticultura) - Universidade Estadual Paulista, Botucatu, 2008.

FAEGRI, K.; PIJL, L. van der. **The principles of pollination ecology**. Oxford: Pergamon, 1980. 244 p.

FLANKLIN, F. H. C.; LAWRENCE, M. J.; FLANKLIN-TONG, V. E. Cell and molecular biology of self-incompatibility in flowering plants. **International Review of Cytology**, New York, v. 158, n. 1, p. 1-62, Feb. 1995.

FREITAS, C. V.; OLIVEIRA, P. E. Biologia reprodutiva de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae, Caesalpinioideae). **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 25, n. 3, p. 311-321, maio/jun. 2002.

GOLDENBERG, R.; VARASSIN, I. G. Sistemas reprodutivos de espécies de Melastomataceae da Serra do Japi, São Paulo, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 24, n. 3, p. 283-288, maio/jun. 2001.

GONÇALVES, C. B. S. **Atividade de insetos nas flores de *Ocimum gratissimum* L. (Lamiaceae), e suas interações com fatores ambientais.** 2006. 151 p. Dissertação (Mestrado em Entomologia e Conservação da Biodiversidade) - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul, Campus Dourados, 2006.

GOODWILLIE, C.; KALISZ, S.; ECKERT, C. G. The evolutionary enigma of mixed mating systems in plants: occurrence, theoretical explanations, and empirical evidence. **Annual Review Ecology, Evolution and Systematic**, Palo Alto, v. 36, p. 47-79, Nov. 2005.

INGVARSSON, P. K. A metapopulation perspective on genetic diversity and differentiation in partially self-fertilizing plants. **Evolution**, Lancaster, v. 56, n. 12, p. 2368-2373, Dec. 2002.

KAGEYAMA, P. Y. Recomposição da vegetação com espécies arbóreas nativas em reservatórios de usinas hidrelétricas da CESP. **Instituto de Pesquisas e Estudos Florestais**, Piracicaba, v. 8, n. 25, p. 1-43, 1992.

KEARNS, C. A.; INOUE, D. W. **Techniques for pollination biologists.** Niwot: University of Colorado, 1993. 583 p.

KHOSLA, M. K. Inter-relationship studies of different species the genus *Ocimum*. **Journal of Plant Anatomy Morphology**, Jodhpur, v. 3, n. 2, p. 157-167, Aug. 1986.

LORENZI, H.; MATOS, F. J. A. **Plantas medicinais no Brasil: nativas e exóticas**. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2003. 254 p.

MARTINS, E. R. Estudos em *Ocimum selloi* Benth: isoenzimas, morfologia e óleo essencial. In: MING, L. C. **Plantas medicinais, aromáticas e condimentares: avanços na pesquisa agronômica**. Botucatu: UNESP, 1998. p. 97-126.

MARTINS, E. R. et al. **Plantas medicinais: outras plantas popularmente utilizadas**. 19. ed. Viçosa, MG: UFV, 1994. v. 1, 305 p.

MARTINS, K. et al. Estrutura genética populacional de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae - Caesalpinioideae) em fragmentos florestais no Pontal do Paranapanema, SP, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 31, n. 1, p. 61-69, jan./fev. 2008.

MORALES, R. M. et al. New basil selections with compact inflorescence of the ornamental market. In: JANICK, J. **New crops**. Alexandria: ASHS, 1996. p. 543-546.

NATION, G. R. et al. Estimation of outcrossing in basil. **HortScience**, Alexandria, v. 27, n. 11, p. 1221-1222, Nov. 1992.

NEWSTROM, L. E.; FRANKIE, G. W.; BAKER, H. G. A new classification for plant phenology based on flowering patterns in lowland tropical rain forest trees at La Selva, Costa Rica. **Biotropica**, Washington, v. 26, n. 2, p. 141-159, Apr. 1994.

ODUM, H. T. et al. **Environmental systems and public policies**. Davis: University of Florida, 1988. 178 p.

ORMOND, W. T.; PINHEIRO, M. C. B. Contribuição ao estudo biossintético e ecológico de *Petiveria alliaceae* L. **Revista Brasileira de Biologia**, Rio de Janeiro, v. 34, n. 1, p. 123-142, 1974.

O'TOOLE, C. Diversity of native bees and agroecosystems. In: LASALLE, J.; GAULD, I. D. (Ed.). **Hymenoptera and biodiversity**. Wallingford: CAB International, 1993. p. 169-196.

PATERNIANI, E. Evolução dos sistemas dos vegetais. **Ciência e Cultura**, São Paulo, v. 26, n. 5, p. 476-481, 1974.

PAULA, J. P.; GOMES-CARNEIRO, M. R.; PAUMGARTTEN, F. J. R. Chemical composition, toxicity and mosquito repellency of *Ocimum selloi* oil. **Journal of Ethnopharmacology**, Lausanne, v. 88, n. 1, p. 253-260, Mar. 2003.

RADFORD, A. E. et al. **Vascular plant systematics**. New York: Harper & Row, 1974. 891 p.

SILVA, A. B. et al. Biologia floral e mecanismos reprodutivos de *Ocimum canum* Sims (Lamiaceae). **Revista Biotemas**, Florianópolis, v. 21, n. 2, p. 33-40, 2008.

VINSON, S. B.; FRANKIE, G. W.; BARTHELL, J. Threats to the diversity of solitary bees in a Neotropical Dry forest in Central America. In: LASALLE, J.; GAULD, I. D. (Ed.). **Hymenoptera and biodiversity**. London: CAB International, 1993. p. 53-81.

ZAPATA, T. R.; ARROYO, M. T. K. Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest in Venezuela. **Biotropica**, Washington, v. 10, n. 3, p. 221-230, 1978.