

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS
CURSO DE MESTRADO

RAILSON ALVES CORREIA DE ALMEIDA JUNIOR

FENOLOGIA E BIOLOGIA FLORAL E REPRODUTIVA DE UMA
ESPÉCIE DE *DICHORISANDRA* (COMMELINACEAE) EM UM
FRAGMENTO DE MATA ATLÂNTICA EM CRUZ DAS ALMAS, BAHIA,
BRASIL

CRUZ DAS ALMAS - BA

FENOLOGIA E BIOLOGIA FLORAL E REPRODUTIVA DE UMA ESPÉCIE
DE *DICHORISANDRA* (COMMELINACEAE) EM UM FRAGMENTO DE
MATA ATLÂNTICA EM CRUZ DAS ALMAS, BAHIA

RAILSON ALVES CORREIA DE ALMEIDA JUNIOR

Bacharel em Ciências Biológicas

Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, 2020

Dissertação submetida ao Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia e Embrapa Mandioca e Fruticultura, como requisito parcial para obtenção do Grau de Mestre em Recursos Genéticos Vegetais

Orientadora: Profa. Dra. Lidyanne Yuriko Saleme Aona

Coorientador: Dr. Everton Hilo de Souza

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
MESTRADO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS
CRUZ DAS ALMAS - BAHIA - 2020

FICHA CATALOGRÁFICA

A447f

Almeida Junior, Railson Alves Correia de.

Fenologia e biologia floral e reprodutiva de uma espécie de *Dichorisandra* (Commelinaceae) em um fragmento de Mata Atlântica em Cruz das Almas, Bahia, Brasil / Railson Alves Correia de Almeida Junior. _ Cruz das Almas, Bahia, 2020.

53f.; il.

Orientadora: Lidyanne Yuriko Saleme Aona.

Coorientador: Everton Hilo de Souza.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas, Mestrado em Recursos Genéticos Vegetais.

1.Plantas – Commelinaceae. 2.Plantas – Biologia floral. 3.Reprodução – Análise. I.Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Centro de Ciências Agrárias, Ambientais e Biológicas. II.Título.

CDD: 581.16

Ficha elaborada pela Biblioteca Universitária de Cruz das Almas - UFRB.

Responsável pela Elaboração - Antonio Marcos Sarmiento das Chagas (Bibliotecário - CRB5 / 1615).

(os dados para catalogação foram enviados pelo usuário via formulário eletrônico).

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RECÔNCAVO DA BAHIA
CENTRO DE CIÊNCIAS AGRÁRIAS, AMBIENTAIS E BIOLÓGICAS
EMBRAPA MANDIOCA E FRUTICULTURA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM RECURSOS GENÉTICOS VEGETAIS
CURSO DE MESTRADO

Aprovada em 16 de setembro de 2020

Comissão Examinadora da Defesa de Dissertação de
Railson Alves Correia de Almeida Junior

Prof. Dra. Lidyanne Yuriko Saleme Aona
Universidade Federal do Recôncavo da Bahia - UFRB
Orientadora

Prof. Dra. Maria do Carmo E. do Amaral
Universidade Estadual de Campinas – UNICAMP
Membro externo

Prof. Dra. Kayna Agostini
Universidade Federal de São Carlos – UFSCar
Membro externo

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Railson e Marly e irmãos Ronney e Reynan que de forma digna se tornaram exemplos de como seguir de forma honesta e sem medo dos desafios

AGRADECIMENTOS

Primeiramente à Deus, meu pai eterno e que sempre me ampara nos momentos difíceis;

À Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, o Programa de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, a Embrapa Mandioca e Fruticultura por todos os ensinamentos durante a elaboração deste trabalho;

A CAPES por financiar e fomentar minha formação durante os anos em que estive na Pós-Graduação por meio da bolsa de estudo, sem a qual não seria possível finalizar esse trabalho;

Aos professores e meus orientadores e acima de tudo, amigos Lidyanne Yuriko Saleme Aona e Everton Hilo de Souza, por sempre caminharem comigo de mãos dadas, fazendo os momentos de dificuldade serem sempre resolvidos da melhor maneira;

Ao Grupo Insecta, o Professor Carlos Alfredo e Luís Fernando de Farias, pelo auxílio na confirmação e identificação dos insetos registrados;

Aos meus colegas do HURB, em especial a Grênivel Mota da Costa, que fizeram o melhor ambiente de trabalho do mundo e que me senti acolhido desde o primeiro dia;

À minha família, em especial minha mãe Marly Silveira de Almeida, meu irmão Ronney Silveira de Almeida, meu pai Railson Alves Correia de Almeida e minha tia Gilda Sampaio da Silveira, meus alicerces e exemplos do início ao fim da vida;

Às pessoas especiais que sempre me fizeram seguir em frente, Tairine, Diego, Lucas Bastos, Diego Pereira, Ana, Larissa, Hugo, Bia, Carol, Joanne, Suellen, Netinho, Luisy, pelo incentivo nos momentos bons e apoio nos difíceis e todos os ensinamentos de vida proporcionados;

Minha trupe e amigos até o fim da vida, Ronney (de novo), Paulinho, Fredi, Iran, Murilo, Geraldo e Bruno;

Aos colegas do curso de Pós-Graduação em Recursos Genéticos Vegetais, com um carinho e amizade especial a Rafa, Sandra, Wanderley, Luh, Amanda, Manu, Márcio, Taís, Ian, Lary Dias e Mateus por todo o caminho em conjunto até aqui;

Ao Movimento Escalada, meu Amor em Movimento. Que nos momentos mais difíceis me mostrou o significado de família em Cristo.

Ao Programa Nacional de Cooperação Acadêmica (PROCAD - 88887.124186/2014-00), pela concessão de auxílio financeiro, ao Laboratório de Microscopia Eletrônica (LME/ LFN/ Esalq/ USP) e ao Laboratório de Biologia do Desenvolvimento e Estrutura Vegetal, na pessoa da Profa. Adriana Pinheiro Martinelli, CENA/USP pela infraestrutura para realização dos trabalhos de microscopia eletrônica de varredura. À Mônica Lanzoni Rossi pelo auxílio e colaboração nas etapas da análise da microscopia eletrônica de varredura.

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1:

- Figura 1.** - Mapa de ocorrência de *Dichorisandra* sp. (Commelinaceae) 14
- Figura 2.** - Dados climatológicos e fenológicos de *Dichorisandra* sp. (Commelinaceae) na Mata da Cazuzinha em Cruz das Almas, Bahia, Brasil no período de novembro de 2018 a março de 2020 20
- Figura 3.** - Fenologia de *Dichorisandra* sp. (Commelinaceae) na Mata de Cazuzinha, município de Cruz das Almas, Bahia, Brasil 21
- Figura 4.** - Flor e fruto, morfoanatomia das estruturas reprodutoras e viabilidade polínica de *Dichorisandra* sp. 25
- Figura 5.** - Crescimento do tubo polínico no estigma nos diferentes sistemas reprodutivos em flores bissexuadas em *Dichorisandra* sp. (Commelinaceae) observado em microscopia de fluorescência em pistilos tratados com solução de azul de anilina 32
- Figura 6.** - Diferentes sistemas reprodutivos em flores estaminadas de *Dichorisandra* sp. (Commelinaceae) observado em microscopia de fluorescência em pistilos tratados com solução de azul de anilina 34
- Figura 7.** - Visitantes florais em *Dichorisandra* sp. (Commelinaceae) na Mata de Cazuzinha, município de Cruz das Almas, Bahia, Brasil 37

SUMÁRIO

	PÁGINA
1. RESUMO	2
2. ABSTRACT	3
3. INTRODUÇÃO GERAL	4
4. Capítulo 1	
FENOLOGIA, BIOLOGIA FLORAL E REPRODUTIVA DE UMA ESPÉCIE DE <i>DICHORISANDRA</i> (COMMELINACEAE) EM UM FRAGMENTO DE MATA ATLÂNTICA DE CRUZ DAS ALMAS, BAHIA, BRASIL	10
5. Introdução	11
6. Material e Métodos	13
7. Resultados e Discussão	19
8. Considerações Finais	37
9. Referências	39

FENOLOGIA, BIOLOGIA FLORAL E REPRODUTIVA DE UMA ESPÉCIE DE *DICHORISANDRA* (COMMELINACEAE) EM UM FRAGMENTO DE MATA ATLÂNTICA EM CRUZ DAS ALMAS, BAHIA, BRASIL

RESUMO: A família Commelinaceae, componente importante no domínio Mata Atlântica, traz uma importante relação com esse ecossistema, sendo viável seu estudo para fornecer informações sobre a conservação de suas espécies. Diante disso, o presente trabalho teve como objetivo estudar a fenologia e a biologia floral e reprodutiva de uma espécie de *Dichorisandra* presente em um fragmento de Mata Atlântica no município de Cruz das Almas (BA), a fim de contribuir com a obtenção de dados relacionados à forma de reprodução e ao mecanismo de polinização da espécie. Para este trabalho, foram realizados acompanhamentos das fenofases e estudo da biologia reprodutiva da espécie de *Dichorisandra* presente na área de estudo. Nossos resultados revelaram que o período de floração ocorre durante a estação seca, entre Novembro e Março. A espécie apresenta antese diurna (4h30 – 13h30), é andromonóica, apresenta flores zigomorfas, arroxeadas, anteras rimosas, mas funcionalmente poricidas. A viabilidade polínica foi de 97,6% e ambos os morfos florais apresentaram grande quantidade de grãos de pólen. A polinização cruzada foi o único sistema reprodutivo eficiente para a espécie, verificando-se autoincompatibilidade gametofítica com a paralisação dos tubos polínicos no terço mediano e inferior do pistilo. Observamos espécies dos gêneros *Xylocopa* e *Euglossa* visitando as flores e atuando como polinizadores eficazes. O fruto imaturo foi formado após ca. $3,25 \pm 1$ dias e foi observada a presença de formigas do gênero *Cephalotes* como dispersor. Embora o sistema reprodutivo espontâneo seja eficiente, essa espécie apresenta ameaças na área de estudo, principalmente, devido à fragmentação do habitat causada pelo desmatamento e a pressão antrópica causada pelo ambiente urbano.

Palavras-chave: Síndrome de Polinizadores, Sistema Reprodutivo, Conservação.

PHENOLOGY, FLORAL AND REPRODUCTIVE BIOLOGY OF A DICHORISANDRA SPECIES (COMMELINACEAE) ON AN ATLANTIC FOREST FRAGMENT IN CRUZ DAS ALMAS, BAHIA, BRAZIL

Abstract:

The family Commelinaceae is an important component in the Atlantic Forest domain, bringing an important relationship with this ecosystem. Its study is viable to provide information about conservation. Therefore, this work aimed to study the phenology and floral and reproductive biology of a *Dichorisandra* species present in a fragment of the Atlantic Forest in Cruz das Almas (BA), to contribute with information about the reproduction system and the pollination mechanism of the species. For this work, phenophase monitoring and study of the reproductive biology of the *Dichorisandra* species present in the study area were performed. Our results revealed that the flowering period occurs during the dry season, between November and March, the species presents daytime anthesis (4h30 - 13h30) and andromonoic, present zygomorphic, purplish, rhyming anthers, but functionally poricidal flowers. The high pollen viability was 97.6% and both floral morphs presents large amounts of pollen grains. Cross-pollination was the only efficient reproductive system for the species, and gametophytic autoincompatibility with the paralysis of the pollen tubes in the middle and lower third of the pistil was verified. We observed two bee species of the genus *Xylocopa* and *Euglossa* visiting the flowers and acting as effective pollinators. The fruit was formed after ca. $3,25 \pm 1$ days and the presence of ants of the genus *Cephalotes* was observed as a disperser. Although the spontaneous reproductive system is efficient, this species runs a risk of extinction in the study area, mainly due to habitat fragmentation caused by deforestation and anthropic pressure in urban places.

Keywords: Pollinator syndrome, reproductive system, conservation

INTRODUÇÃO GERAL

Estudos da biologia reprodutiva das angiospermas são uma importante maneira de compreender a interação ocorrente em ecossistemas e a relação entre a disponibilidade de recursos e a reprodução das espécies ali presentes (RECH; WESTERKAMP, 2014). As relações entre plantas e seus polinizadores são um processo resultante de uma dinâmica onde existe a visitação de determinados agentes em busca de recurso (em alguns casos até mesmo a ocorrência de predação), ou abrigo e efetivamente contribui para a fecundação daquela flor, sendo então um processo importante para compreender e preservar a variabilidade genética dessas espécies (SANTOS et al., 2009). Além disso, o entendimento da biologia floral como mecanismo de seleção da interação planta-polinizador traz informações interessantes sobre a coevolução dos agentes envolvidos nesse processo, sendo essas seleções tanto de natureza química ou física dentro das suas variações se faz necessário para compreender os fenômenos envolvidos em cada espécie presente no nosso planeta (TEIXEIRA et al., 2014).

Aliado a esse processo de sistema reprodutivo, a compreensão da fenologia auxilia a entender a complexidade das interações bióticas presentes, além de fornecer dados que permitiram estudar o comportamento dessas espécies e sua relação também com o meio abiótico, de forma a complementar o funcionamento dessas interações e o período onde elas ocorrem (SIGRIST; SAZIMA, 2015). Ao se quantificar o desenvolvimento vegetativo e reprodutivo, esses dados permitem compreender o ciclo de vida da planta e o seu período de floração, contribuindo, dessa forma, para o biomonitoração em escala temporal de como a espécie se comporta no ambiente (OTAROLA; ROCCA, 2014).

A Mata Atlântica é considerada um dos maiores *hotspots* do nosso planeta (MYERS, 2000; JOLY et al., 2014; PUGAS et al., 2019). Com essa considerável diversidade, entender as estratégias reprodutivas da flora megadiversa desse domínio trazem resultados interessantes e importantes para a conservação dessa diversidade e para a Ciência (PINTO et al., 2006). Além do grande processo de degradação presente nesse ecossistema ser uma problemática que traz como demanda estudos dessa ampla interação, uma vez que a Mata Atlântica conta, atualmente, em torno de 7% da sua área original (SANTOS et al., 2006; NEVES, 2007; PUGAS et al., 2018). Logo, estudos que envolvam a reprodução, a interação

e a coevolução das espécies ali presentes são uma importante ferramenta tanto para a compreensão dos seus processos ecológicos e a conservação dos componentes daquele ecossistema.

Inserido nesse domínio, a família Commelinaceae, pertencente à Ordem Commelinales e abrange cerca de 36 gêneros e ca. 740 espécies (GOVAERTS; FADEN 2011) com ampla distribuição geográfica. sendo que no Brasil compreende 14 gêneros e cerca de 65 espécies (Flora do Brasil, 2020). São herbáceas, apresentando caule quase sempre suculento, dividido em nós e entrenós de forma visível, suas folhas são dísticas ou espiraladas, paralelinérvias e sésseis ou de bainha fechadas (AONA et al., 2014). Suas inflorescências são cimosas e com morfologia das inflorescências bastante variável (FADEN; HUNT, 1991). Compreender seus mecanismos de reprodução trazem respostas sobre a correlação dos componentes daquele ecossistema e aliado a isso criar estratégias de conservação (RUBIM et al., 2010; SOUZA et al., 2012).

O gênero *Dichorisandra* J.C.Mikan pertencente à esta família, possui ampla distribuição neotropical e adaptável a uma grande diversidade de ambientes (FADEN; HUNT, 1991; AONA et al., 2014; SIGRIST; SAZIMA, 2015). É um gênero com uma variação morfológica notável e grande aplicabilidade como planta ornamental e algumas são medicinais (MORAIS; NETO, 2003), sua morfologia floral é a principal característica para classificação taxonômica o que traz uma relevância interessante em estudar seus mecanismos de biologia floral e suas interações dentro do ecossistema (AONA et al., 2011).

Estudos anteriores relacionados à biologia reprodutiva e fenologia de Commelinaceae trazem informações relacionadas às suas flores como, geralmente, efêmeras e deliquescentes (AONA et al., 2014; AONA et al., 2016), além de serem flores zigomorfas ou actinomorfas, podem ser bissexuadas ou estaminadas (FADEN; HUNT, 1991; BARRETO, 2005).

Sua estrutura floral e coloração sugere uma polinização por abelhas e, geralmente, o recurso floral disponibilizado é o pólen, fato que corrobora outros estudos relacionados à biologia floral em espécies dessa família, apesar de serem raros (SIGRIST; SAZIMA, 2015). Para *Dichorisandra*, essa informação persiste, sendo poucos os trabalhos de biologia floral presentes para trazer elucidções de como essas espécies funcionam.

Gêneros como *Dichorisandra* e *Commelina* L. possuem relevância tanto em nível de diversidade, a exemplo de *Commelina*, como econômico, sendo algumas espécies de interesse ornamental. Outra espécie importante é *Dichorisandra thyrsoiflora* J.C.Mikan, que tem sido utilizada também com interesse ornamental, além do gênero *Tradescantia* L. com algumas espécies de enorme potencial invasor em alguns ecossistemas. Já outros gêneros trazem características de bioacumulação de metais pesados e uso medicinal em espécies de *Tradescantia* (SEGHERI et al., 2009; MANTOANI et al., 2013; ESTEVAM et al., 2016), bem como na Mata Atlântica, o que sugere uma alteração na dinâmica e disponibilidade de recursos com espécies nativas, sendo relevante estudos da sua biologia floral e fatores de dispersão para compreender a forma que esses processos ocorrem.

Deste modo, se faz relevante estudar a biologia floral, bem como a fenologia da espécie e obter resultados que possam contribuir para a compreensão do fluxo gênico e de recursos presentes dentro desse ecossistema.

REFERÊNCIAS

- AONA, L.Y.S.; BITTRICH, V.; AMARAL, M.C.E. Taxonomic novelties in Brazilian *Dichorisandra* (Commelinaceae): *D. sagittata* sp. nov. and *D. glabrescens* stat. nov. **Brittonia**, Cham, v. 69, n. 2, p. 209-217, 2016.
- AONA, L.Y.S.; BITTRICH, V.; AMARAL, M.C.E. Two new species of *Dichorisandra* (Commelinaceae) from Rio de Janeiro and comments on the two species included in Vellozo's "Flora Fluminensis". **Phytotaxa**, Auckland, v. 184, n. 4, p. 223-234, 2014.
- AONA, L.Y.S.; COSTA, G.M.; AMARAL, M.C.E. Flora das Cangas da Serra dos Carajás, Pará, Brasil: Commelinaceae. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 67, n. 5. p. 1291-1300, 2016.
- AONA L.Y.S; FADEN, R.B; AMARAL, M.C.E. Five new species of *Dichorisandra* J.C. Mikan (Commelinaceae) from Bahia State Brazil. **Kew Bulletin**. London, v. 66, n. 4, p. 479–491. 2011.
- BARRETO, R.C. 2005. Commelinaceae In: WANDERLEY, M.G.L.; SHEPHERD, G.J.; MELHEM, T.S.; MARTINS, S.E.; KIRIZAWA, M.; GIULIETTI, A.M. (Eds.) **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. Instituto de Botânica, São Paulo, v. 4, pp. 195-210.
- ESTEVAM, E.B.B.; SILVA, E.M.; MIRANDA, M.L.D.; ALVES, J.M.; PEREIRA, P.S.; SILVA, F.G.; ESPERANDIM, V.R.; MARTINS, C.H.G.; AMBROSIO, M.A.L.V.; TÓFOLI, D.; JUNIOR, L.R.A.; ALVES, C.C.F. Avaliação das atividades antibacteriana, tripanocida e citotóxica do extrato hidroalcoólico de raízes de *Tradescantia sillamontana* Matuda (Veludo Branco) (Commelinaceae). **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, Campinas, v.18, n.2, p.415-422.2016.
- FADEN, R.B.; HUNT, D.H. The classification of the Commelinaceae. **Taxon**, Oldenburg, v, 40, n. 1, p. 19-31, 1991.
- GOVAERTS, R.; FADEN, R.B. **World checklist of Commelinaceae**. The Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew. 2011. Disponível em: <<http://apps.kew.org/wcsp/home.do>> Acesso em: 28 de março de 2020.
- JOLY, C.A.; METZGER, J.P.; TABARELLI, M. Experiences from the Brazilian Atlantic Forest: ecological findings and conservation initiatives. **New Phytologist**, Oxford, v. 204, n. 3, p. 459-473. 2014.
- MANTOANI, M.C.; DIAS, J.; ORSI, M.L.; TOREZAN, J.M.D. Efeitos da invasão por *Tradescantia zebrina* Heynh. Sobre regenerantes de plantas arbóreas em um fragmento de floresta estacional semidecidual em Londrina (PR). **Biotemas**, Florianópolis, v. 26, n. 3, p. 63-70, 2013.
- MORAIS, G.R.; NETO, G.G. Recursos medicinais de espécies do Cerrado de Mato Grosso: Um estudo bibliográfico. **Acta Botânica Brasilica**, Brasília, v.17, n.4, p.561-584. 2003.

MYERS, N., R.A.; MITTERMEIER, C.G.; MITTERMEIER, G.A.B.; FONSECA.; KENT, J. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, London, v. 403, n. 6772, p. 853-858, 2000.

NEVES, A.J. **Mapeamento e análise do estágio de conservação dos remanescentes de Mata Atlântica no Município de Cruz das Almas, Bahia**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Bahia. 51 p. 2007.

OTAROLA, M.F.; ROCCA, M.A. Flores no tempo: a floração como uma fase da fenologia reprodutiva. In: Rech, A.R.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRA, P.E.; MACHADO, I.C. **Biologia da Polinização**. 1 ed. Rio de Janeiro. Editora Projeto Cultura, 2014. pp. 113-126.

PINTO, L.P.; BEDÊ, L.; PAESE, A.; FONSECA, M.; PAGLIA, A.; LAMAS, A. Mata Atlântica Brasileira: Os desafios para conservação de um *hotspot* mundial. In: ROCHA, C.F.D.; BERGALLO, H.G.; VAN SLUYS, M.; ALVES, M.A.S. (Ed.). **Biologia da conservação: Essências**. 1 ed. Rima Editora, 2006, pp. 91-118.

PUGAS, R.M.; PAZ, J.R.L.; NEVES, E.L.; PIGOZZO, C.M. *Himathantus bracteatus* (A. DC.) Woodson (Apocynaceae): phenology, morphology and floral biology of a species endemic to the Atlantic Forest. **Hoehnea**, São Paulo, v. 45, n. 3, p. 405-412, 2018.

RECH, A.R.; WESTERKAMP, C. Biologia da Polinização: uma síntese histórica. In: RECH, A.R.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRA, P.E.; MACHADO, I.C. (Ed.). **Biologia da Polinização**. 1 ed. Rio de Janeiro. Editora Projeto Cultura, 2014, pp. 27-44.

RUBIM, P.; NASCIMENTO, H.E.M.; MORELLATO, L.P. Variações interanuais na fenologia de uma comunidade arbórea de floresta semidecídua no sudeste do Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, Brasília, v. 24, n. 3, p. 756-764, 2010

SANTOS, M.F.O.S.; QUEIROZ, E.P.; PIGOZZO, C.M. Síndrome de polinização em fragmento urbano de Mata Atlântica do 19º Batalhão de Caçadores, Cabula, Salvador, Bahia. **Candombá – Revista Virtual**, Salvador, v. 5, n. 1, p. 26-39. 2009

SANTOS, M.S.; LOUZADA, J.N.C; DIAS, N.; ZANETTI, R.; DELABIE, J.H.C; NASCIMENTO, I.C. Riqueza de formigas (Hymenoptera, Formicidae) da serapilheira em fragmentos de floresta semidecídua da Mata Atlântica na região do Alto do Rio Grande, MG, Brasil. **Iheringia, Série. Zoologia**, Porto Alegre, v. 96, n. 1, p. 95-101, 2006.

SEGHIERI, J.; VESCOVO, A.; PADEL, K.; SOUBIE, R.; ARJOUNIN, M.; BOULAIN, N.; ROSNAY, P.; GALLIE, S.; GOSSET, M.; MOUCTAR, A.H.; PEUGEOUT, C.; TIMOUK, F. Relationships between climate, soil moisture and phenology of the woody cover in two sites located along the West African latitudinal gradient. **Journal of Hydrology**, Amsterdam, v. 375, n. 2, p. 78-89, 2009.

SIGRIST, M.R; SAZIMA, M. Phenology, reproductive biology and diversity of buzzing bees of sympatric *Dichorisandra* species (Commelinaceae): breeding systems and performance of pollinators. **Plant Systematic and Evolution**, Wien, v. 301, n. 3, p.1005-1015, 2015.

SOUZA, I.M.; COUTINHO, K.; FUNCH, L.S. Estratégias fenológicas de *Senna cana* (Nees & Mart) H.S. Irwin & Barneby (Fabaceae: Caesalpinioideae) como mecanismo

eficiente para atração de polinizadores. **Acta Botanica Brasilica**, Brasília, v. 26, n. 2, p. 435-443, 2012.

TEIXEIRA, S.P.; MARINHO, C.R.; PAULINO, J.P. A flor, aspectos morfofuncionais e evolutivos. In: RECH, A.R.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRA, P.E.; MACHADO, I.C. **Biologia da Polinização**. 1 ed. Rio de Janeiro. Editora Projeto Cultura, 2014. pp. 45-69.

CAPÍTULO 1

**FENOLOGIA, BIOLOGIA FLORAL E REPRODUTIVA DE UMA ESPÉCIE DE
DICHORISANDRA (COMMELINACEAE) EM UM FRAGMENTO DE MATA
ATLÂNTICA DE CRUZ DAS ALMAS, BAHIA, BRASIL¹**

¹ Manuscrito a ser ajustado e submetido ao periódico "Nordic Journal of Botany".

INTRODUÇÃO

Commelinaceae Mirb. pertencente à ordem Commelinales, com aproximadamente 36 gêneros e 740 espécies e ampla distribuição neotropical (GOVAERTS; FADEN 2011). *Dichorisandra* J.C.Mikan pertencente à esta família e é o maior representante, sendo o Brasil o centro de diversidade (FADEN; HUNT, 1991). Aona (2008) e Aona & Amaral (2017) relatam que o centro de diversidade do gênero encontra-se na Mata Atlântica, com cerca de 45 espécies.

De acordo com Raub et al. (2014), a Mata Atlântica é um dos maiores hotspots em diversidade do mundo, mas também um dos que mais sofrem com a perda de área por pressão antrópica que ocorre há mais de 500 anos. Já Pugas et al. (2018) relatam que a Mata Atlântica, atualmente, possui menos de 7% da sua área original e seus remanescentes se encontram rodeados por centros urbanos, indústrias e áreas de agricultura.

O gênero *Dichorisandra* é caracterizado, principalmente, por serem plantas herbáceas e perenes, com flores trímeras, possuem sementes ariladas e anteras usualmente maior que os filetes e normalmente poricidas, mas podem ser rimosas e funcionalmente poricidas (Faden, 1985; AONA., 2008).

Os estudos fenológicos consistem nas interações entre fatores bióticos e abióticos criando padrões onde as plantas estão em processo de crescimento e reprodução, descrevendo os padrões temporais em que isso acontece e os componentes que participam ativamente nas fenofases (SIGRIST; SAZIMA, 2015; CHMURA et al., 2019). Os estudos de fenologia em plantas também compreendem a distribuição dos recursos disponibilizados pelas flores em um período de tempo no ecossistema, sendo uma ferramenta eficaz em trazer respostas sobre como esses mecanismos interagem com o polinizador (SOUZA et al., 2012; FREITAS et al., 2017).

Poucos são os estudos fenológicos realizados com espécies herbáceas na Mata Atlântica (DÓREA, 2011; SIGRIST; SAZIMA, 2015). Os estudos realizados em Marantaceae por Barreto & Freitas (2011) e Leite e Machado (2007) obtiveram resultados contrastantes nos padrões fenológicos das espécies, ambas polinizadas por insetos, em sub-bosque, sendo o pico de floração da espécie *Calathea cylindrica* (Roscoe) K.Schum. entre Novembro e Janeiro enquanto as outras duas espécies de Marantaceae observadas por Leite e Machado (2007) apresentaram floração

contínua. Outros estudos com fenologia de espécies arbóreas encontraram florações assíncronas ou floração contínua, com produção de frutos no inverno (MARIANO; CHRISTIANINI; FREITAS et al., 2017). Em relação às espécies de Commelinaceae, Sigrist e Sazima (2015) ao estudarem espécies de *Dichorisandra*, observaram picos de floração nos meses de menor precipitação pluviométrica. Em contrapartida, Kaul e Koul (2008) observaram em *Commelina caroliniana* Hort. Berol o pico de floração nos meses mais chuvosos. Pode-se observar que o fator genético é decisivo na fenologia de cada espécie e não possui um padrão dentro da família. Segundo Bruno et al. (2019), os padrões fenológicos encontrados em plantas presentes nas florestas tropicais possuem grande diversidade e que as interações bióticas e abióticas podem ser diferentes a depender da espécie inserido no ambiente.

Para os estudos de biologia floral e reprodutiva em Commelinaceae, pode-se observar uma variação na morfologia floral entre os gêneros (EVANS et al., 2003; KAUL; KOUL, 2008; AONA et al., 2011; 2014; 2016). De acordo com Faden (2000), pelo menos 97% das flores de Commelinaceae são bissexuadas ou estaminadas, sendo esta última, atuando apenas na atração do polinizador e fornecendo grãos de pólen durante a visitação.

O estudo realizado por Hardy et al. (2000) descreveu a organogênese floral e formação dos gametófitos de *D. thyrsiflora* J.C.Mikan com presença de uma parede mais espessa na antera apontando uma forte relação com a estratégia da polinização por vibração utilizada por abelhas. Luca e Marin (2013) relatam a polinização vibratória como uma medida de retenção de grãos de pólen utilizado por espécies que oferecem esse recurso aos polinizadores, prevenindo assim a perda desnecessária desses grãos para outros agentes, sendo este, acessado com o movimento de vibração característico em algumas espécies de abelhas. O conhecimento das estratégias reprodutivas das espécies e sua interação com seus polinizadores, vem sendo um importante aliado na compreensão do estabelecimento nos ecossistemas e sua diversidade (TEIXEIRA et al., 2014).

A compreensão da biologia floral e reprodutiva permite entender as interações entre as flores e seus componentes como grãos de pólen, estigma e os seus polinizadores, elucidando quais estratégias são utilizadas pela espécie e qual o sucesso reprodutivo (SOUZA et al., 2012; ADITHIYAA et al., 2020). Os mecanismos de atração das plantas pelos agentes polinizadores vem desde a

morfologia floral adaptada para atraí-los até uma fonte de recurso (néctar, óleos, grãos de pólen, etc), que varia entre as espécies com o objetivo de atender o sucesso reprodutivo (PANG et al., 2012; LUCA; MARIN, 2013; MORELLATO et al., 2016; REVANASSIDA; BELAVADI, 2019).

Diante do exposto, o presente trabalho teve como objetivo estudar a fenologia e a biologia floral e reprodutiva de uma espécie de *Dichorisandra* presente em um fragmento de Mata Atlântica no município de Cruz das Almas, a fim de contribuir com a obtenção de dados relacionados às formas de reprodução e aos mecanismos de polinização desta espécie.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

O trabalho foi realizado em um fragmento da Mata Atlântica com 11,7 ha, denominado Mata da Cazuzinha sob as coordenadas 12° 39' 59.30" S, 39° 06' 25.80" W no município de Cruz das Almas, situada no Recôncavo da Bahia, Brasil (Figura 1). Apesar da ação antrópica, a área resguarda atributos originais de Mata Atlântica com grande diversidade e alto grau de endemismo, mesmo exposta em meio à paisagem urbana (NEVES, 2007) (Figura 1).

O clima do município de Cruz das Almas, segundo classificação de Köppen, é uma transição entre as zonas Am e Aw, com precipitação pluviométrica média anual de 1.143 mm, temperatura média de 24,28 °C e umidade relativa de 60,47%. O solo da área é um Argissolo Amarelo Distrocoeso típico, com floresta subperenifólia sem declive.



Figura 1. Mapa de ocorrência de *Dichorisandra* sp. (Commelinaceae). A) Município de Cruz das Almas, Bahia, Brasil. B) Vista aérea da Mata da Cazuzinha em Cruz das Almas. C) Vista lateral da Mata da Cazuzinha. Fonte: SEI 2019 e Google 2020 (A-B).

Material Vegetal

Foram estudados indivíduos de *Dichorisandra* sp. (Commelinaceae) nas populações que ocupavam o sub-bosque da vegetação arbórea. A coleta dos dados ocorreu no período de novembro de 2018 a março de 2020. Os indivíduos amostrados foram escolhidos de maneira assistemática dentro da área amostral e identificados com números sequenciais com placas de alumínio. Um exemplar da espécie foi coletado e incorporado no Herbário do Recôncavo (HURB 25814).

Fenologia

Os estudos fenológicos ocorreram por meio de acompanhamentos quinzenais em 50 indivíduos marcados aleatoriamente dentro do fragmento florestal com distanciamento mínimo de um metro entre plantas. Os dados de temperatura

e precipitação foram obtidos na estação meteorológica da Embrapa Mandioca e Fruticultura no município de Cruz das Almas.

Os indivíduos foram avaliados desde o brotamento até a fase final de reprodução e senescência foliar, incluindo também o acompanhamento da rebrota dos indivíduos na próxima estação de crescimento. Foram quantificados o número de folhas, botões, flores em antese e frutos imaturos e maduros quinzenalmente em cada indivíduo, atribuindo as diferentes fenofases vegetativas e reprodutivas durante o período de estudo conforme Rubim et al. (2010).

Foram calculados o Índice de Sincronia do Indivíduo (ISI) com seu coespecífico e o Índice de Sincronia da População (IISP) conforme Augspurger (1983). Os valores do IISP variam de 0 a 1, onde 0 indicam que não apresenta sincronia dentro da população e 1 indica perfeita sincronia (BERNINI, 2015).

Para avaliar a correlação entre os fatores climáticos (precipitação e temperatura) nas diferentes fenofases foi realizada análise de Pearson ($p < 0,05$) após verificar a distribuição normal dos dados pelo teste de Shapiro-Wilk (1965). A análise de correlação foi realizada utilizando o programa PAST 3.23 (HAMMER, 2001).

Para o acompanhamento diário da inflorescência foram selecionados assistematicamente cinco plantas e anotados o número de flores abertas por morfotipo e o período até a frutificação para os estudos de biologia floral.

Morfologia e morfometria dos órgãos reprodutivos

Para caracterização morfológica, três flores bissexuadas e três flores estaminadas, foram fixadas em solução de Karnovsky (KARNOVSKY, 1965) modificada [glutaraldeído (2%), paraformaldeído (2%), CaCl_2 (0,001 M), tampão cacodilato de sódio (0,05 M), em pH 7,2], por 48 horas, em seguida desidratados em série etílica crescente (35-100%). As amostras foram secas ao ponto crítico (Leica EM CPD 300 – Balzers, Alemanha) por meio de CO_2 líquido e montadas sobre suportes metálicos e metalizadas com ouro por 180 segundos (Leica EM ACE 600, Vienna, Austria). As imagens digitais foram obtidas em microscópio eletrônico de varredura (MEV) JEOL JSM IT3000 LV (Tokyo, Japão) operando a 20 KV.

Para os dados morfométricos foram utilizadas outras três flores de cada morfo floral e as medidas foram obtidas com paquímetro digital ou pelas imagens de MEV com o auxílio do programa ImageJ 1.4.3.67 (RASBAND, 1997-2018).

Para a caracterização morfológica, os grãos de pólen foram fixados na mesma solução de Karnovsky, por 48 horas, em seguida desidratados em série etílica crescente (35-100%), 20 min cada. As amostras foram secas em HMDS (hexametildisilazano) e montadas sobre suportes metálicos e metalizadas com ouro conforme já descrito anteriormente. As imagens foram obtidas no mesmo microscópio descrito anteriormente.

A morfometria dos grãos de pólen foi realizada em grãos submetidos à acetólise láctica fraca (ACLAC 40), conforme Raynal e Raynal (1979) pelo programa ImageJ 1.4.3.67. Foram medidos aleatoriamente o diâmetro polar e equatorial de 25 grãos de pólen. Os grãos de pólen foram caracterizados conforme nomenclatura descrita por Punt et al. (2007) e Hesse et al. (2009).

A estimativa do número de grãos de pólen foi realizada por meio da contagem do número de grãos produzidos por flor em câmara de Neubauer, considerando a existência de cinco anteras nos diferentes morfos florais. Foram coletadas três flores de diferentes plantas e as anteras armazenadas individualmente em tubos eppendorf, seguindo metodologia descrita por Kearns e Inouye (1993).

Viabilidade dos grãos de pólen

Para os estudos da viabilidade polínica foram estudados a germinação *in vitro* e histoquímica. Três flores de diferentes plantas nos dois morfos florais foram coletadas na antese (6:00 h). Para a germinação *in vitro*, os grãos de pólen foram espalhados com pincel e distribuídos uniformemente em placas de Petri contendo 25 mL do meio de cultura BK (BREWBACHER; KWACK, 1963) com 20 % de sacarose e mantidos em câmara escura à temperatura de 27 ± 1 °C. Foram utilizadas 12 repetições, sendo cada repetição representada por três placas de Petri, cada uma subdividida em quatro quadrantes.

A contagem dos grãos de pólen germinados e a medida do comprimento do tubo polínico foram realizadas 24 horas após a inoculação em meio de cultura. Para a porcentagem de germinação foram contabilizados todos os grãos de pólen de cada quadrante, enquanto para o comprimento do tubo polínico foram mensurados aleatoriamente cinco tubos em cada quadrante, totalizando 60 tubos polínicos de cada tratamento. Foram considerados germinados os grãos de pólen que possuíam tubo polínico com tamanho igual ou superior ao diâmetro do próprio grão de pólen.

As microfotografias foram obtidas com auxílio de estereomicroscópio Leica EZ4 D (Leica, Wetzlar, Alemanha).

Para o teste histoquímico, os grãos de pólen foram coletados no mesmo período e distribuídos sobre lâminas de vidro com gotas de solução de Alexander 2 % em ácido láctico (ALEXANDER, 1980). A amostragem dos grãos de pólen corados foi realizada ao acaso por meio do método de varredura da lâmina em microscópio de luz Olympus BX51 acoplado com câmera digital Olympus DP175 (Olympus, Tokyo, Japão), contabilizando-se 100 grãos de pólen por lâmina com três repetições por tratamento, perfazendo um total de 300 grãos de pólen.

Receptividade do estigma

A receptividade do estigma foi realizada na antese (6:00 h) com peróxido de hidrogênio (3 %) (ZEISLER, 1933) nos dois morfos florais com cinco repetições, sendo cada repetição composta por um estigma de diferentes plantas. A receptividade do estigma foi estimada conferindo graus, conforme adaptação de Dafni e Maués (1998): (-) sem reação; (+) resposta positiva fraca; (++) resposta positiva forte; (+++) resposta muito forte.

Sistemas reprodutivos

Os sistemas reprodutivos de *Dichorisandra* sp. foram avaliados no campo em 50 indivíduos conforme metodologia de Kearns e Inouye (1993). Foram avaliados a) Agamospermia: flores foram emasculadas (anteras removidas) e ensacadas com “voil”, permanecendo assim até a frutificação ou senescência da flor; b) Autopolinização espontânea: flores em pré-antese foram isoladas com sacos de “voil” e permaneceram assim até a frutificação; c) Autopolinização manual: flores foram ensacadas com “voil” na pré-antese e na antese foram polinizadas com grãos de pólen da mesma flor; d) Polinização cruzada manual: flores foram ensacadas com “voil” na pré-antese e na antese foram polinizadas com grãos de pólen de outros indivíduos e; e) Polinização espontânea: botões florais foram apenas selecionados e identificados.

As polinizações foram realizadas nas primeiras horas da manhã (6:00 – 7:30h) sob as mesmas condições e para cada tratamento foram utilizadas quantidades de flores diferentes (Tabela 1). As flores foram etiquetadas, contendo as informações de cada tratamento. A frutificação foi acompanhada semanalmente

até a maturação dos frutos e coletados antes da deiscência. Foram avaliadas a porcentagem de frutificação e o número de sementes por fruto.

Foram calculados os Índices de Autogamia (IA) e Autoincompatibilidade (IAI) conforme Ramirez e Brito (1990) bem como a eficiência reprodutiva (ER) conforme Ruiz e Arroyo (1978).

A estimativa do número de grãos de pólen produzidos por flor foi realizada seguindo a metodologia descrita por Kearns e Inouye (1993), em três flores em estágio de balão. O número de óvulos foi contabilizado com auxílio de estereomicroscópio Leica EZ4 D (Leica, Wetzlar, Alemanha), utilizando três flores de diferentes plantas. A razão pólen/ óvulo foi determinada de acordo com Cruden (1977).

Desenvolvimento do tubo polínico no estigma

Dez pistilos de cada sistema reprodutivo foram coletados 24 horas após as polinizações, fixados em solução Carnoy [3 partes de etanol (95%) : 1 parte de ácido acético glacial], por 48 horas, clarificados em solução de sulfito de sódio (10%) onde o mesmo foi autoclavado por 20 minutos, a 120 °C, com o intuito de clarificar e amolecer os tecidos. A coloração foi feita com solução de azul de anilina (0,01%) em tampão de fosfato tribásico, overnight. Para se verificar a germinação dos grãos de pólen no estigma e o desenvolvimento dos tubos polínicos ao longo do pistilo utilizou-se microscopia de fluorescência com filtro ultravioleta (MARTIN, 1959; YI et al., 2006). As lâminas foram analisadas em microscópio de fluorescência Olympus BX51 acoplado com câmera digital Olympus DP175 (Olympus, Tokyo, Japão) com filtro ultravioleta que emite fluorescência para verificar a presença de calose.

Para avaliar o crescimento do tubo polínico no pistilo, foram consideradas regiões pré-determinadas segundo adaptação do trabalho de Souza et al. (2017): tubo polínico na superfície do estigma, sem crescimento no estilete; tubo polínico no estilete (independente do terço); tubo polínico no interior do ovário; tubo polínico próximo ao óvulo; tubo polínico penetrando na micrópila.

Visitantes florais

Os polinizadores e visitantes florais foram observados diretamente no campo nos meses de janeiro a março de 2019 (cinco dias espalhados nos três meses) das

4h30 às 14h30, totalizando 50 horas de observação diurna, uma vez que as flores não permanecem abertas durante a noite.

Foram contabilizados o comportamento dos polinizadores/visitantes, recursos florais, horário e duração da visita, frequência relativa das espécies polinizadoras na flor. Os visitantes foram fotografados com câmera digital e coletados com auxílio de rede entomológica e sacrificados em câmera mortífera (frasco com acetato de etila) e posteriormente foram enviados para identificação por especialista no Grupo Insecta da Universidade Federal do Recôncavo da Bahia.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Fenologia

Durante o período do estudo, pode-se observar que a fenofase de brotamento foliar de *Dichorisandra* sp. é sazonal e iniciou nos meses de março até o início de novembro, com pico na produção de folhas nos meses de maio a outubro, coincidindo com o final de outono ao inverno no hemisfério sul (Figuras 2A-B e 3A). O valor médio de folhas por indivíduo foi de 15. Vale destacar que dos 50 indivíduos avaliados, cerca de cinco ainda apresentaram poucas folhas (ca. 2 a 5) nos demais meses (Figura 2B). De acordo com Sigrist e Sazima (2015), a deficiência hídrica parece ser a principal causa da senescência foliar em espécies de *Dichorisandra*, bem como uma estratégia para evitar a perda de água por transpiração e auxiliar na formação dos brotos. Algumas espécies de *Dichorisandra* cultivadas em casa de vegetação mostram que diversas espécies são geófitas, independente da deficiência (M.C.E. Amaral, com.pess.).

Vita et al. (2019) ao estudarem a anatomia caulinar de espécies de Commelinaceae formulou uma rede de interações sobre as suas reservas nutricionais e a distribuição dos nutrientes pela planta. O entendimento anatômico dos complexos padrões presentes nos vasos condutores dessa família auxiliou na compreensão em como as espécies respondem a variações ambientais e até mesmo ao seu próprio ciclo de vida (VITA et al., 2019).

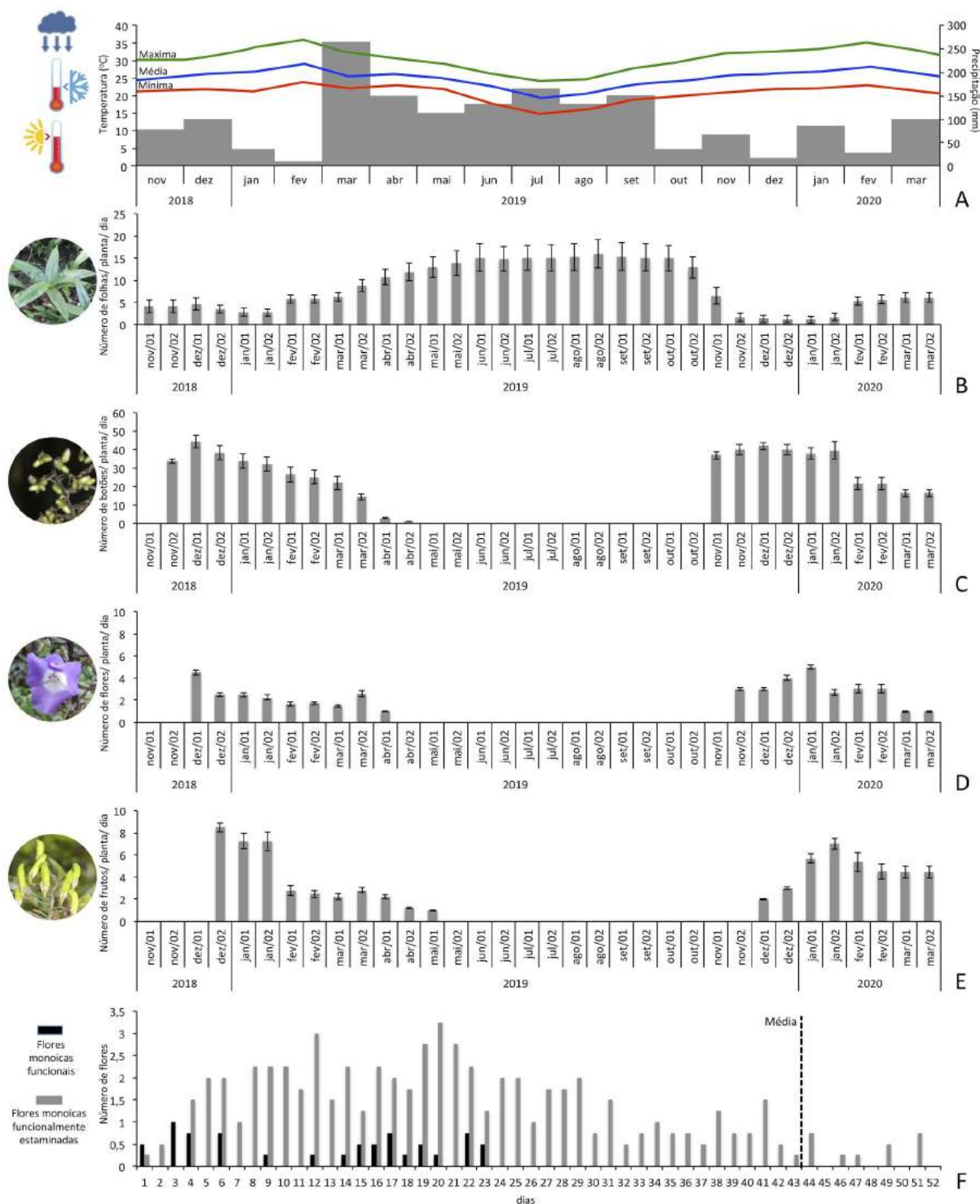


Figura 2. Dados climatológicos e fenológicos de *Dichorisandra* sp. (Commelinaceae) na Mata da Cazuzinha em Cruz das Almas, Bahia, Brasil no período de novembro de 2018 a março de 2020. A) Temperatura e Precipitação. B) Número de folhas/ planta/ dia. C) Número de botões/planta/dia. D) Número de flores/planta/dia. E) Número de frutos/planta/dia. F) Número de flores abertas por dia.



Figura 3. Fenologia de *Dichorisandra* sp. (Commelinaceae) na Mata de Cazuzinha, município de Cruz das Almas, Bahia, Brasil. A) Estádio vegetativo. B) Estádio inicial da emissão da inflorescência. C) Estádio reprodutivo com botões florais. D) Estádio reprodutivo com flores em antese. E) Estádio de frutificação. F) Estádio de senescência foliar (seta).

Nos últimos meses da fase vegetativa (outubro), foram observados que os indivíduos perdem todas as folhas e o caule torna-se pendente a depender do tamanho do indivíduo, chegando a senescer totalmente, desaparecendo na superfície do solo (Figura 3F). Nessa fase, pode-se observar uma relação de herbivoria nas últimas folhas, principalmente por insetos da ordem Lepidoptera em fase larval. Esse processo de abscisão foliar nos indivíduos mantém as reservas nutricionais nos rizomas e raízes que permanecem vivos. A emissão dos novos

ramos surgiu a partir de gemas axilares a partir do pedúnculo durante a estação vegetativa. O estudo de Pilon et al. (2015) considerou a senescência foliar como uma estratégia evolutiva encontrada em diversas espécies para diminuição do consumo energético da fase reprodutiva.

A diferenciação da fase vegetativa para a reprodutiva também é sazonal e inicia na estação com baixo índice pluviométrico e altas temperaturas, que no hemisfério sul é o verão (Figuras 2A, 2C, 3B e 3C). O início da formação de botões foi nos meses de novembro, mantendo relativamente estável e sincrônico até janeiro, com redução no número de folhas e surgimento da inflorescência (Figuras 2A, 2C, 3B e 3C). Essa característica foi observada nos dois anos de avaliação. Aona (2008) observou em cultivo que algumas espécies de *Dichorisandra* perdem a parte aérea durante o inverno, permanecendo em dormência, o que configura a utilização desta estratégia em Commelinaceae para redução do consumo de energia e investimento na formação das inflorescências. Sigrist e Sazima (2015) relatam que o período de floração para a maioria das espécies herbáceas presentes em florestas tropicais, como as espécies de *Dichorisandra*, são nas estações mais quentes e de menor precipitação pluviométrica, fato constatado para a espécie estudada.

A floração é sincrônica com índice de sincronia de Augspurger ($Z = 0,605$). O período de floração foi da última quinzena de novembro ao final de março nos dois anos de avaliação e início de abril de 2019, intensificando assim a perda das folhas (Figuras 2B, 2D e 3D). A inflorescência possui $74,2 \pm 17,8$ flores, sendo 10% de flores bissexuadas e as demais flores estaminadas com abertura diária de $1,8 \pm 0,7$ flores. Da abertura da primeira flor ao fechamento da última flor por inflorescência leva $43,0 \pm 9,4$ dias com um pico de produção do 5º ao 29º dia, sendo que as flores bissexuadas abrem até o 23º dia.

A considerável sincronia encontrada neste estudo indica produção de muito recurso e sua presença para os polinizadores num mesmo espaço temporal, o que caracteriza uma estratégia útil para a dispersão dos grãos de pólen no período. Essa mesma estratégia foi observada num estudo de Neves (2009), onde o display visual era fonte de atração para os polinizadores. A sincronia de uma espécie é uma estratégia importante para a sua reprodução, uma vez que confere um maior display visual característico no ecossistema que está inserido (SOUZA et al., 2012).

O período de frutificação ocorreu na última quinzena de dezembro até a última quinzena de março, com pico em dezembro e janeiro, também coincidindo na estação de baixa precipitação e altas temperaturas (Figuras 2A, 2E e 3E). Já o período de dispersão dos frutos iniciou entre março e abril. Da flor polinizada ao início da formação do fruto leva $3,25 \pm 1$ dias, sendo que seu amadurecimento é caracterizado com a mudança de coloração verde para amarronzado e sua deiscência é de $46,3 \pm 8,5$ dias. O índice de sincronia de Augspurger para a frutificação indicou essa fenofase como sincrônica ($Z = 0,612$).

A partir das análises de correlação entre os fatores abióticos com as fases fenológicas estudadas, pode-se observar que a precipitação não influenciou diretamente nas fenofases com valores inferiores a 0,462, mas a temperatura apresentou valores de correção altos de -0,912 para folhas, 0,829 para botões, 0,758 para flores e 0,674 para frutos. Foi também observado alta correlação entre as fenofases, a exemplo da presença de folhas e botões (-0,940), folhas e flores (-0,820) botões e flores (0,883) e flores e frutos (0,784).

Padrões fenológicos são características inerentes às espécies dentro das suas relações bióticas e abióticas presentes nos ecossistemas (PIRES et al., 2016). O padrão anual é comum para diversas espécies tropicais da Mata Atlântica (NEWSTROM et al., 1994; LEITE; MACHADO, 2007), embora Dórea (2018) tenha ressaltado a escassez de trabalhos com espécies herbáceas do sub-bosque.

De acordo com Ramos (2014), os fatores bióticos definem a intensidade de floração, chamados de causas últimas, determinam a concentração da intensidade da fenofase, já às causas próximas se relacionam com os eventos abióticos que interagem com a espécie vegetal e as respostas das mesmas e as suas estratégias dentro dos padrões fenológicos.

A partir do índice de correlação de Pearson foi possível verificar uma alta relação com a temperatura que ficou em torno de 28 graus no período de maior floração, indicando que esse é um fator decisivo para no ciclo de vida de *Dichorisandra* sp. De forma geral, esse resultado vem sendo observado para inúmeras espécies da Mata Atlântica (GOMES et al., 2008; SIGRIST; SAZIMA, 2015), inclusive em diferentes espécies de *Dichorisandra* spp. (SIGRIST; SAZIMA, 2015) onde o florescimento ocorre no verão do hemisfério sul e o estágio vegetativo nos meses mais frios coincidindo no inverno e outono. Essa relação também pode estar relacionada a um carácter adaptação das espécies, uma vez que a

abundância de polinizadores coincide com a época de florescimento e conseqüentemente garantindo uma maior eficiência reprodutiva (RAMOS et al., 2014, MORELLATO et al., 2016).

Área de estudo, morfologia e biologia floral

A espécie apresentou uma média de $55,5 \pm 36,3$ cm, com uma grande variabilidade quanto a altura da planta fértil. Foram observadas plantas variando de 5 cm a até 1 m de altura. *Dichorisandra* sp. é uma herbácea perene, com inflorescência emergindo de uma axila lateral próxima à gema apical, possuindo em média $74,2 \pm 17,8$ botões florais. As flores são predominantemente bissexuadas e estaminadas. A inflorescência é do tipo tirso composto com numerosos cincinos de ca. $7,29 \pm 1,48$ cm de comprimento.

As flores são andromonóicas, diurnas, inodoras e possuem três pétalas, sendo duas na porção superior e uma na porção inferior conferindo uma simetria zigomórfica (Figura 4A). As flores se abrem de forma aleatória na inflorescência, sem um padrão definido. O que difere das espécies estudadas por Sigrist & Sazima (2015) que apresentavam primeiramente flores hermafroditas. As sépalas são lanceoladas, verde-claras, com ápice verde-escuro. As pétalas são unguiculadas, de coloração de lilás claro a escuro e terço basal alvo. As flores possuem cinco estames epipétalos, um estaminódio vestigial, anteras basifixas, rimosas (Figura 4B-C), porém funcionalmente porcidas. Visualmente não existem diferenças entre as flores bissexuadas e flores estaminadas, com exceção do gineceu rudimentar. A razão das flores bissexuadas pelas flores estaminadas foi de 0,11 (9,6/ 90,4).

A morfologia floral de *Dichorisandra* sp. segue o padrão do gênero (FADEN, 2000; HARDY et al., 2000; AONA, 2008; AONA et al., 2014 AONA et al., 2016), com anteras rimosas e funcionalmente porcidas. Para espécies de Commelinaceae, as anteras com deiscência porcida apresentam uma associação forte com determinados gêneros de abelhas para garantir a polinização vibratória (SIGRIST; SAZIMA, 2015; ROSI-DENADAI, 2020), técnica essa, utilizada pelas abelhas solitárias para extrair grãos de pólen das flores que requerem vibração e assim realizar o processo de polinização (LUCA; MARIN, 2013; ROSI-DENADAI et al., 2020). O estudo de Sigrist e Sazima (2015) trouxe uma maior similaridade entre

essa espécie e *D. hexandra* quanto à morfologia floral, diferindo na coloração de *D. incurva*.

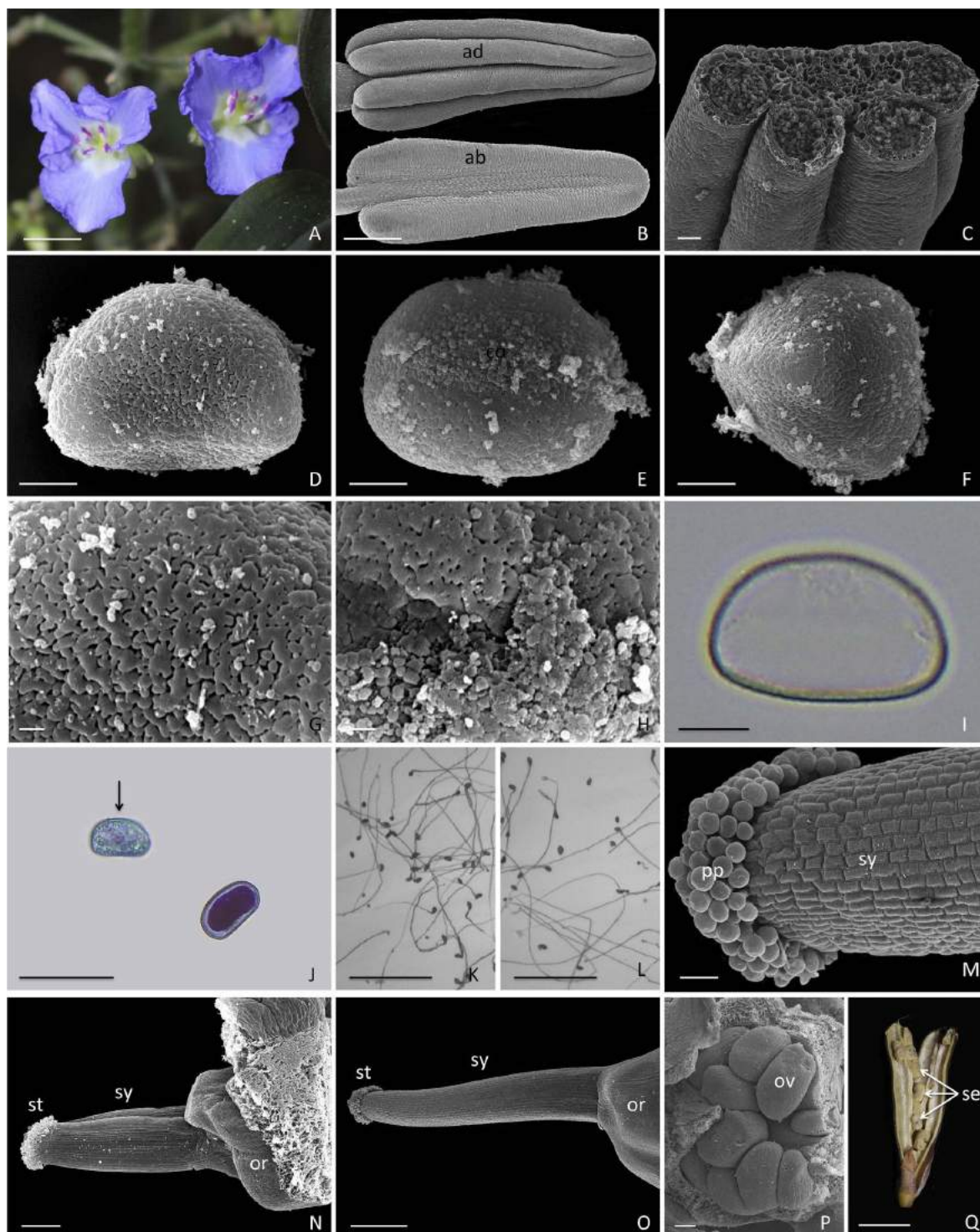


Figura 4. Flor e fruto, morfoanatomia das estruturas reprodutoras e viabilidade polínica de *Dichorisandra* sp. A) Flor de *Dichorisandra* sp. (Commelinaceae). B) Anteras em pré-antese em visão adaxial e abaxial. C) Secção transversal das anteras evidenciando os quatro microesporângios. D) Grão de pólen em vista equatorial. E) Grãos de pólen em vista equatorial evidenciando a região do colpo.

F) Grão de pólen em vista polar. G) Ornamentação dos grãos de pólen. H) Ornamentação da região do colpo. I) Grão de pólen acetolizado. J) Histoquímica dos grãos de pólen com solução de Alexander a 2% de ácido láctico (seta indica grão inviável). K) Germinação in vitro dos grãos de pólen em meio de cultura BK em flores estaminadas. L) Germinação in vitro dos grãos de pólen em meio de cultura BK em flores bissexuadas. M) Ápice do estilete e estigma na flor bissexuada. N) Estilete e Estigma da flor estaminada. N) Estigma da flor bissexuada. P) Ovário aberto de flor bissexuada evidenciando de óvulos. Q) Fruto com sementes. ad = adaxial; ab = abaxial, co = colpo, or = ovário, ov = óvulo, pp = papila estigmática, st = estigma, sy = estilete, vb = feixe vascular. Barras: A = 0,8 mm; B, N = 500 μ m; C, P = 100 μ m; D-F, I) 5 μ m; G-H) 1 μ m; J = 5000 μ m; K-L = 0,5 mm; M = 50 μ m; N = 200 μ m; Q = 1 cm.

Os grãos de pólen são de tamanho médio ($25,86 \pm 2,32 \mu\text{m} \times 19,26 \pm 1,21 \mu\text{m}$ em vista equatorial e $17,37 \pm 1,48 \mu\text{m} \times 16,97 \pm 1,67 \mu\text{m}$ em vista polar), hereropolar com âmbito elíptico, oblato, monade, monocolpado de superfície rugulada, com ínsulas intercaladas (Figura 4D-I). O colpo é estreito ($5,68 \pm 0,38 \mu\text{m}$) com comprimento de $19,40 \pm 1,08 \mu\text{m}$ com presença de verrugas (Figura 4E, H). A exina possui espessura de $1,48 \pm 0,06 \mu\text{m}$. O número médio de grãos de pólen produzidos por flor foi de 84.166.

De acordo com Souza et al. (2017), o entendimento da morfologia polínica é importante para a taxonomia de algumas espécies, sendo necessário trabalhos nessa área para ampliar o conhecimento acerca dessas estruturas e delinear possíveis parentescos. Além disso, os trabalhos relacionados à morfologia polínica têm também aplicabilidade em programas de melhoramento genético das espécies e para delinear estratégias de conservação de grãos de pólen (SOARES, 2011; BATISTA, 2016; SOUZA et al., 2015; 2017).

A viabilidade polínica foi superior a 98,5%, independente do método utilizado e quanto aos dois morfos florais (bissexuadas ou estaminadas). No método histoquímico com solução de Alexander a 2% de ácido láctico foi possível observar grãos de pólen corados de roxo (viáveis) a verde claro nos poucos grãos inviáveis (Figura 4J). Para a germinação in vitro dos grãos de pólen o meio de cultura BK independentes dos dois morfos florais não apresentaram diferença significativa com alta viabilidade (97,6% em flores bissexuadas e 98,5% nas flores funcionalmente

estaminadas) com comprimento dos tubos polínicos de $0,82 \pm 0,16$ mm em flores bissexuadas e $0,89 \pm 0,14$ mm em flores funcionalmente estaminadas (Figura 4K-L).

A superfície do estigma é úmida e composta por papilas de formato globoso e se apresentava receptivo durante todo o período em que a flor permanece aberta nas flores bissexuadas (Figura 4M). As flores estaminadas possuem um pistilo vestigial com $1,8 \pm 0,3$ mm de comprimento (Figura 4N), valor esse bem inferior ao pistilo da flor bissexuada com $4,8 \pm 0,3$ cm (Figura 4O). O pistilo de ambos os morfos florais possuem ovário de coloração esverdeada, estilete branco, às vezes, de coloração lilás no ápice.

A receptividade do estigma na antese em flores monóicas funcionais apresentou resposta positiva muito forte, coincidindo com a abertura e a alta viabilidade dos grãos de pólen. Foi possível observar a formação de bolhas de ar apenas na região das papilas, indicando uma atividade enzimática de peroxidase. Nas flores estaminadas a resposta foi ausente ou apresentou resposta positiva fraca.

A alta viabilidade polínica coincidindo com a receptividade do estigma na antese floral evidencia uma compatibilidade perfeita entre esses dois fatores, descartando uma possível barreira reprodutiva temporal.

Os óvulos são diminutos (ca. $21 \pm 1,5$), hemianátropos a ligeiramente campilótopos com placentação axilar e distribuídos de forma aleatória no ovário (Figura 4P). Nas flores funcionalmente estaminadas os óvulos são abortados. A relação grãos de pólen óvulo foi de 3.825, indicando mais uma vez a polinização cruzada (xenogamia) obrigatória como estratégia reprodutiva para a espécie (CRUDEN, 1977). Esses resultados são positivos para espécies de reprodução xenogâmica, uma vez que, necessitam de grande quantidade de grãos de pólen e polinizadores eficientes, para fertilização dos óvulos além da resposta positiva forte para receptividade do estigma consequentemente garantem a produção de sementes (BASTOS et al., 2017; PINHEIRO et al., 2018).

A antese floral ocorre às $4h30 \pm 30$ min e o fechamento das flores ocorrem às $13h30 \pm 30$ min, totalizando de 9 a 9h30 de duração. O período de abertura e fechamento das flores é sincrônico, não havendo muita variação entre os indivíduos. No início da antese, as flores começam a se abrir com o afastamento do cálice e da corola de forma progressiva. O processo de abertura floral começa com as duas

sépalas superiores se afastando brevemente e de forma progressiva, sendo seguida das pétalas e o mesmo processo na sépala e pétala posterior. Foi observado que poucas flores (ca. $5 \pm 2,6$ por inflorescência) não ocorrem a abertura completa, adquirindo um formato quase tubular e posterior deiscência. Após o fechamento das flores, as mesmas não reabrem e quando não são fertilizadas, elas senescem em três dias. O período de antese predominantemente diurna vem sendo relatados em síndromes de polinização por melitofilia (CRUZ et al., 2006; SIGRIST; SAZIMA, 2015; PINHEIRO et al., 2018; REVANASSIDA; BELAVADI, 2019).

O recurso atrativo para os polinizadores é o grão de pólen, que se apresenta pulverulento na porção apical da antera, dando a funcionalidade poricida. Não foi observada a presença de néctar nas flores.

O fruto é uma cápsula loculicida com $3,9 \pm 0,3$ cm na fase de maturação e possuem $14,3 \pm 2,1$ sementes. As sementes são ariladas de coloração amarelo acastanhado de formato elipsoide e possuem comprimento de $3,9 \times 0,2$ mm (Figura 4Q). A dispersão das sementes é feita por formigas da espécie *Cephalotes* sp. (LATREILE, 1802) que aparecem assim que as cápsulas se abrem, apresentando uma relação ecológica mutualística, as formigas levam o arilo presente e fazem a sua dispersão pela área.

A dispersão das sementes de *Dichorisandra* por formigas ainda não tinha sido relatada na literatura e é feita no início da estação chuvosa para garantir o sucesso germinativo. Possivelmente, essa dispersão esteja relacionada à presença de arilo nas sementes, uma vez que Costa et al. (2007) verificaram a presença de arilo como um atrativo para as espécies de formigas e atribuíram vantagens para a planta como diminuição da competição interspecífica e distanciamento da semente da planta-mãe. Matos et al. (2020) trouxeram diferentes interações entre o arilo, tamanho da semente e espécies de formigas envolvidas, indicando que os lipídios e carboidratos presentes no arilo formam uma interação mutualística entre inseto e planta.

Sistema reprodutivo

Foram observadas diferenças entre os sistemas reprodutivos e entre os dois morfos florais (Tabela 1). Nas flores funcionalmente estaminadas não houve a formação de frutos em nenhum sistema reprodutivo. Nas flores bissexuadas, a formação de fruto só foi observada na polinização cruzada espontânea com 90,9% e na polinização cruzada manual com 60,6%, com produção média de sementes de

14,3 (Tabela 1). *Dichorisandra* sp. apresentou índice de autogamia e índice de autoincompatibilidade zero. Com base nesses resultados, é possível afirmar que a espécie é alógama e auto incompatível, necessitando assim de agentes polinizadores para manter a produção de frutos e sementes. A eficiência reprodutiva foi de 1,5, indicando uma alta eficácia dos polinizadores em espécies auto incompatíveis.

Tabela 1. Produção de frutos e sementes *Dichorisandra* sp. (Commelinaceae), sob diferentes sistemas de polinização

Sistema de polinização	Frutos produzidos*		Sementes produzidas**	
	Flores estaminadas	Flores bissexuais	Flores estaminadas	Flores bissexuadas
Agamospermia	0 (0/30)	0 (0/30)	0	0
Autopolinização espontânea	0 (0/30)	0 (0/30)	0	0
Autopolinização manual	0 (0/66)	0 (0/38)	0	0
Polinização cruzada manual	0 (0/36)	60,6 (20/33)	0	13,9
Polinização espontânea	0 (0/307)	90,9 (30/33)	0	14,7
Índice de Autogamia	0,00		0	
Índice de Autoincompatibilidade	0,00		0	
Eficiência reprodutiva	1,5		0	

* Porcentagem de frutos obtidos. ** Média de sementes obtidas por flor. O número de frutos produzidos/ número de flores utilizadas são apresentados entre parêntesis. Os sistemas reprodutivos são determinados através de dois índices: Índice de autogamia (IA = polinização espontânea/ polinização cruzada) e Índice de autoincompatibilidade (IAI = autopolinização manual/ polinização cruzada). IAI é determinado como auto incompatível quando o IAI é inferior a 0,30, e auto compatíveis ou parcialmente auto compatível (AC)

quando os índices do IAI foram superior a 0,30. A letra (A) entre parênteses indica um índice autogamia superior a 0,30. A eficiência reprodutiva (ER) foi calculada com a porcentagem de frutos decorrentes de polinização espontânea pela porcentagem de frutos da polinização cruzada manual.

Trabalhos envolvendo diferentes espécies de *Dichorisandra*, como Hardy et al. (2000) e Sigrist e Sazima (2015) relataram a polinização cruzada como a mais efetiva, o que pode indicar um padrão para o gênero. Em contrapartida, Sigrist e Sazima (2015) estudando *D. incurva*, encontraram sucesso reprodutivo em autopolinização manual, mesmo em baixa porcentagem (11,5%).

Diferentes eventos no desenvolvimento do tubo polínico no pistilo foram observados nos sistemas reprodutivos de ambos os morfos florais (Figuras 5 e 6). Não foi observada deposição de grãos de pólen no pistilo (Figura 5A) nem tubos polínicos na região do ovário (Figura 5B) no sistema de agamospermia, confirmando assim a eficiência da emasculação das flores no estágio de botão.

No sistema de autopolinização espontânea poucos grãos de pólen foram observados na superfície do pistilo e nenhum com crescimento do tubo polínico no estilete (Figura 5C) nem na região do ovário (Figura 5D). Vale destacar que as anteras e o pistilo estão no mesmo nível. Quanto a autopolinização manual foi observada uma grande deposição de grãos de pólen na superfície do pistilo, evidenciando a eficiência da polinização, com germinação e desenvolvimento dos tubos polínicos no primeiro terço do estilete (Figura 5E) com crescimento desordenado e paralisação do crescimento no terço mediano (Figura 5F). Em alguns pistilos foi também observada a deposição reticulada de calose na extremidade inferior dos tubos polínicos no terço mediano e final do estilete (Figura 5G) e também o enovelamento dos tubos polínicos no terço inferior do pistilo (Figura 5H). Não foram observados tubos polínicos na região do ovário (Figura 5I) evidenciando assim uma autoincompatibilidade. A partir dessas observações sugere-se uma autoincompatibilidade gametofítica, uma vez que, os grãos de pólen germinaram na superfície do estigma com interrupção do crescimento do tubo polínico no terço mediano e inferior do estilete.

A barreira gametofítica consiste na paralisação do desenvolvimento do tubo polínico no estilete e nesse tipo de barreira, a especificidade do grão de pólen é definida pelo alelo S do genoma haploide do gametófito (SCHIFINO-WITTMANN; DALL'AGNOL, 2002). A autoincompatibilidade em Commelinaceae é considerada

comum para a maioria das espécies, sendo necessária a presença dos polinizadores para que ocorra a transferência dos grãos de pólen e consequentemente a fertilização (HARDY et al., 2009; SIGRIST; SAZIMA, 2015). A barreira gametofítica em espécies de *Dichorisandra* já havia sido relatada anteriormente por Sigrist & Sazima (2015), indicando uma tendência a esse tipo de autoincompatibilidade para o gênero. De acordo com Pang et al. (2012), o sistema reprodutivo de uma espécie definirá a sua produção de sementes e o grau de dependência da espécie com o seu polinizador. A espécie em questão é considerada alógama com associada específica com os seus polinizadores. Essa alogamia é descrita também para *D. hexandra* (Aubl.) C.B. Clarke e *D. incurva* Mart. ex Schult.f. (SIGRIST; SAZIMA, 2015).

Em relação aos sistemas de polinização cruzada, manual ou espontânea, ambos apresentaram grande deposição de grãos de pólen na superfície do estigma (Figura 5J, N) e crescimento dos tubos polínicos com distribuição de calose de forma regular (Figura 5K). Em todas as repetições foram observados a penetração do tubo polínico na micrópila resultando na fertilização (Figura 5I, M, O).

O sistema reprodutivo intrinsecamente ligado a alogamia colabora para um investimento bem intenso na produção de flores que atuarão na grande produção de grãos de pólen, garantindo que este esteja disponível para os polinizadores e por consequência, garantir a sua dispersão e produção de sementes, além da reduzida existência de clones uma vez que a reprodução assexuada é baixa (CAETANO; CORTEZ, 2014).

A polinização cruzada por abelhas é apontada como um sistema reprodutivo preferencial na maioria das espécies de Commelinaceae e indicam os grãos de pólen como único recurso floral disponibilizado aos polinizadores (HARDY et al., 2000; KAUL; KOUL, 2008; HARDY et al., 2009; SIGRIST; SAZIMA, 2015). Morellato et al. (2016) apontam a perda de área florestal e diversidade como um fator que reduz o fluxo gênico de espécies vegetais e disponibilidade de nutrientes para os polinizadores, influenciando diretamente na reprodução de espécies predominantemente alógamas.

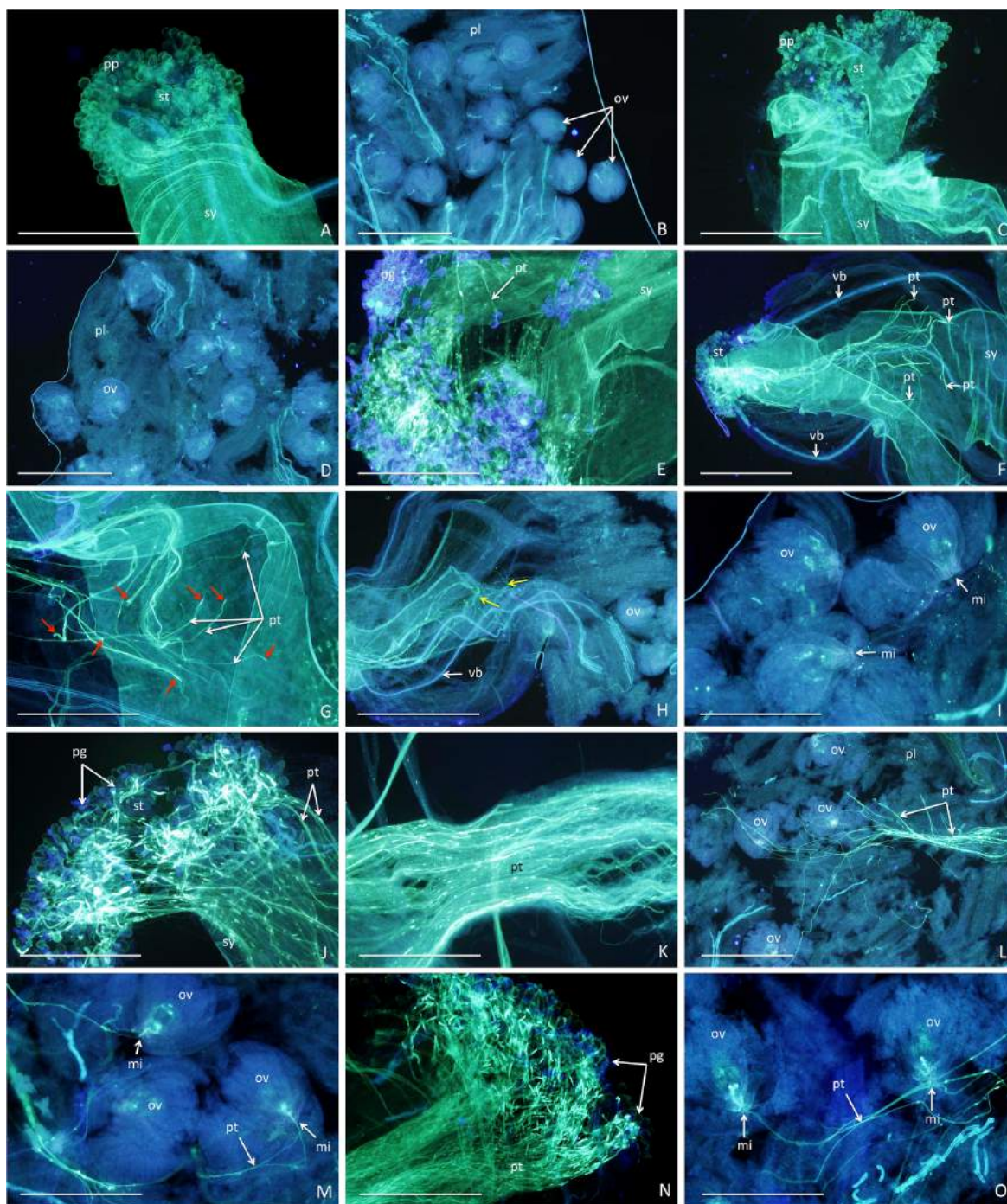


Figura 5. Crescimento do tubo polínico no estigma nos diferentes sistemas reprodutivos em flores bissexuadas em *Dichorisandra* sp. (Commelinaceae) observado em microscopia de fluorescência em pistilos tratados com solução de azul de anilina. A) Ausência de deposição de grãos de pólen na superfície do estigma em agamospermia. B) Ausência de tubos polínicos na região do ovário em agamospermia. C) Pouca deposição e germinação de grãos de pólen em autopolinização natural. D) Ausência de tubos polínicos na região do ovário em autopolinização natural. E) Grande deposição e crescimento de tubos polínicos na superfície do estigma em autopolinização artificial. F) Paralisação do crescimento

dos tubos polínicos no terço mediano do estilete evidenciando incompatibilidade em autopolinização manual. G) Deposição reticulada de calose na extremidade inferior dos tubos polínicos (seta vermelha) no terço mediano do estilete evidenciando incompatibilidade em autopolinização manual. H) Enovelamento dos tubos polínicos (seta amarela) no terço inferior do pistilo evidenciando incompatibilidade em autopolinização manual. I) Ausência de tubos polínicos na região do ovário em autopolinização manual. J) Grande deposição e crescimento de tubos polínicos na superfície do estigma em polinização cruzada manual. K) Inúmeros tubos polínicos com distribuição regular de calose no estilete em polinização cruzada manual. L-M) Penetração do tubo polínico na micrópila resultando na fertilização em polinização cruzada manual. N) Grande deposição e crescimento de tubos polínicos na superfície do estigma em polinização cruzada natural. O) Penetração do tubo polínico na micrópila resultando na fertilização em polinização cruzada natural. mi = micrópila. or = ovário, ov = óvulo, pg = grãos de pólen, pl = placenta, pp = papila estigmática, pt = tubo polínico, st = estigma, sy = estilete, vb = feixe vascular. Barras = A, C, E, G-K, M-O, 500 μ m; B, D, F, L = 1 mm.

Em relação às flores funcionalmente estaminadas, não houve fertilização nem crescimento do tubo polínico em nenhum sistema reprodutivo (Figura 6). Os poucos grãos de pólen aderidos na superfície do estigma nas polinizações manuais, tanto na autopolinização como na cruzada, não apresentaram germinação e conseqüentemente crescimento do tubo polínico (Figura 6D-E). Pode-se verificar também a deformação dos óvulos e ausência de tubos polínicos na região do ovário (Figura 6F).

Nos estudos envolvendo a biologia floral em espécies andromonoicas de Commelinaceae, as flores funcionalmente estaminadas não foram avaliadas quanto ao sistema reprodutivo, sendo apenas citada como parte das variações da morfologia floral com aborto de óvulos e estrutura vestigial do pistilo (HARDY et al., 2000; 2009; OZIEGBE et al., 2013; SIGRIST; SAZIMA, 2015). Podemos verificar com os nossos resultados óvulos deformados principalmente nas camadas dos integumentos, além do tamanho reduzido do pistilo o que pode ter inviabilizado o processo de fertilização.

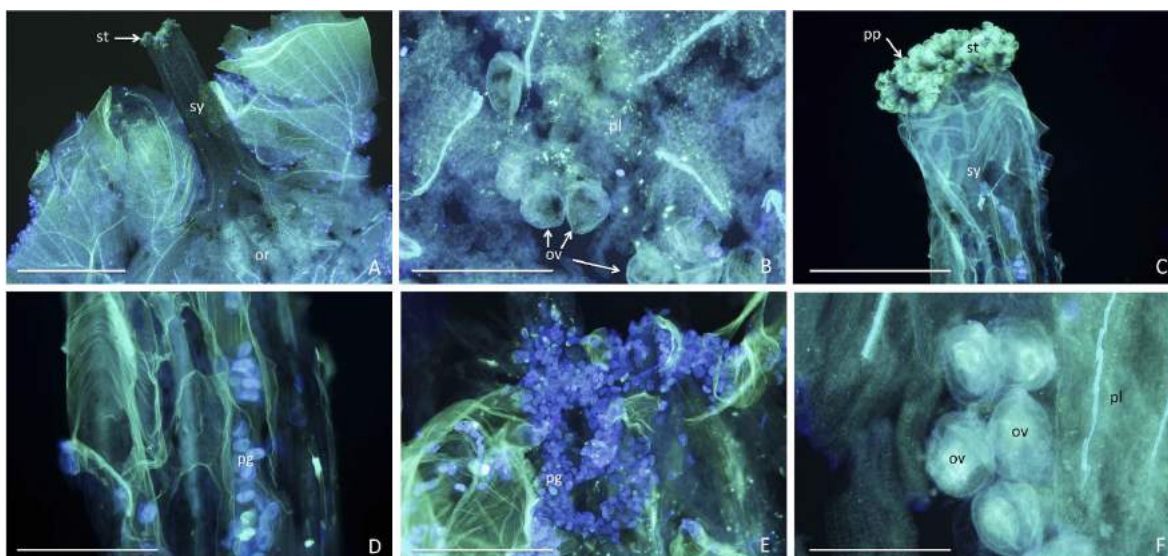


Figura 6. Diferentes sistemas reprodutivos em flores estaminadas de *Dichorisandra* sp. (Commelinaceae) observado em microscopia de fluorescência em pistilos tratados com solução de azul de anilina. A) Ausência de deposição de grãos de pólen na superfície do estigma em autopolinização natural. B) Ausência de tubos polínicos na região do ovário em autopolinização natural. C) Ausência de deposição de grãos de pólen na superfície do estigma em autopolinização manual. D) Grãos de pólen depositados no estigma com ausência de germinação em autopolinização manual. E) Grande deposição e ausência de germinação dos grãos de pólen na superfície do estigma em polinização cruzada manual. F) Ausência de tubos polínicos na região do ovário em polinização cruzada natural. mi = micrópila. or = ovário, ov = óvulo, pg = grãos de pólen, pl = placenta, pp = papila estigmática, st = estigma, sy = estilete, Barras = A = 1 mm; B-D = 200 μ m; C, E-F = 500 μ m.

Visitantes florais

Um total de 50 horas de observação foi registrado 143 visitas em flores de *Dichorisandra* sp., sendo 94,4% pelas duas espécies de abelhas coletoras de grãos de pólen. *Euglossa* sp. (LATREILLE, 1802) e *Xylocopa frontalis* (OLIVER, 1789) apresentaram um número de visitas de 79 e 56 e frequência relativa de 78,6% e 21,4%, respectivamente (Tabela 2 e Figura 7).

As visitas às flores de *Dichorisandra* sp. começaram às 5h56 por *Euglossa* sp. e 7h42 por *X. frontalis*. Mesmo a antese começando às 4h30 as visitas só ocorreram nos primeiros raios solares e as visitas encerram por volta das 10h (Tabela 2). Ao visitar as flores, as abelhas agarravam os estames com as patas e mandíbula, zumbiam e ordenhavam o fluxo de grãos de pólen e armazenavam nas

partes ventrais do corpo e corbículas, fazendo com que parte dos grãos mantivessem contato também com o estigma (Figura 7A-B).

De acordo com Agostini e Machado (2014), os grãos de pólen são recursos ricos em lipídios e proteínas as quais as abelhas utilizam na alimentação na fase larval, sendo então componente essencial para o desenvolvimento desses insetos.

As duas espécies de Apidae visitaram as flores de diferentes inflorescências e plantas com intervalos irregulares. *Euglossa* sp. permanecia por muito mais tempo na flor em comparação a *X. frontalis*, com uma média de 2,1 min (10 seg. a 3 min.), enquanto *X. frontalis* raramente permanecia por mais de um minuto. Ambas as espécies utilizavam a técnica de polinização vibratória (*buzz pollination*) com retirada dos grãos de pólen. Esse procedimento pôde ter sido percebido tanto no som produzido pela abelha ao visitar a planta, como na movimentação realizada nessas visitas (*loud buzzing sound*). Luca e Marin (2013) em um estudo sobre a estratégia da polinização vibratória em angiospermas afirmam que entre 15.000 a 20.000 espécies de plantas, inclusive espécies de Commelinaceae utilizam essa síndrome de polinização específica e relatam a importância da retenção dos grãos de pólen para evitar a perda de gametas para não polinizadores em espécies que não possuem néctar como atrativo.

De acordo com Sigrist e Sazima (2015), *Xylocopa* é conhecido por polinizar várias famílias, dentre elas Commelinaceae, o que faz com que várias espécies possam ser conservadas na área como forma de manutenção do gênero em questão, estabelecendo assim um elo inseto-planta como garantia da manutenção em ambiente com pouco recurso floral. Esse mesmo estudo relatou uma grande variedade de abelhas polinizando *D. hexandra* e *D. incurva*, porém com eficiência menor que a encontrada para a espécie avaliada nesse estudo (RE = 1.39 e 1.25, respectivamente). Verçozza et al. (2010), define *Xylocopa* como abelhas poliléticas, sendo consideradas polinizadoras de uma ampla diversidade de espécies de Angiospermas.

Segundo Darrault et al. (2010), o gênero *Euglossa* é conhecido como abelhas das orquídeas e possui ampla distribuição neotropical. Essas abelhas se associam à reprodução de várias espécies encontradas nesse nicho. Além disso, Apidae vem sendo considerado como o grupo principal relacionado à polinização no mundo (SILVA et al., 2010).

Dichorisandra sp. apresentou polinizadores bastante específicos, com síndrome de polinização melitófila do tipo vibratória. Esse resultado mostra uma necessidade de preservação também desses insetos, uma vez que a família Apidae vem sofrendo uma severa redução populacional nos últimos anos (SILVEIRA et al., 2002; RECH et al., 2014; MORELLATO et al., 2016).

Foram observadas mais três espécies, sendo dois visitantes e um que rouba algum recurso floral (Tabela 2). As espécies *Crematogaster* sp. e Pyrrhochoridae (Hemiptera) foram consideradas visitantes, sem retirada de nenhum recurso floral, já a *Ectatomma edentatum* (ROGER, 1863) causava danos nas estruturas reprodutivas, com a retirada inclusive do estigma e estilete, considerando então a possibilidade do roubo ou herbivoria de fato. Esses insetos começavam às visitas por volta das 7h da manhã e encerraram suas atividades em torno das 11h, porém, de forma esporádica.

Espécies de formigas presentes em flores são comuns e a grande maioria dos estudos os reconhecem como pilhadores ou visitantes ocasionais, com pouca aptidão para polinização devido a ausência de estruturas para aderência dos grãos de pólen (GONÇALVES et al., 2010; GALITZKI et al., 2013). Em espécies de *Dichorisandra* spp. Sigrist e Sazima (2015) não registraram interação de formigas na flor, sendo relatadas apenas espécies da família Apidae, Halictidae e Anthophoridae, todas consideradas abelhas.

Tabela 2. Espécies encontradas nas flores de *Dichorisandra* sp. (Commelinaceae) na Mata de Cazuzinha, município de Cruz das Almas, Bahia, Brasil.

Espécie	Função	Número de visitas	Frequência Relativa (%)	Horário de Visita
Apidae				
<i>Euglossa</i> sp.	Po	79	78,6	5h56 – 10h18
<i>Xylocopa frontalis</i>	Po	56	21,4	7h42 – 10h05
Formicidae				
<i>Ectatomma edentatum</i>	Ro	2		7h - 11h
<i>Crematogaster</i> sp.	Vi	6		7h - 11h
Pyrrhochoridae				
	Vi	1		9h10

Po = Polinizador, Ro = Roubo, Vi = Visitante.

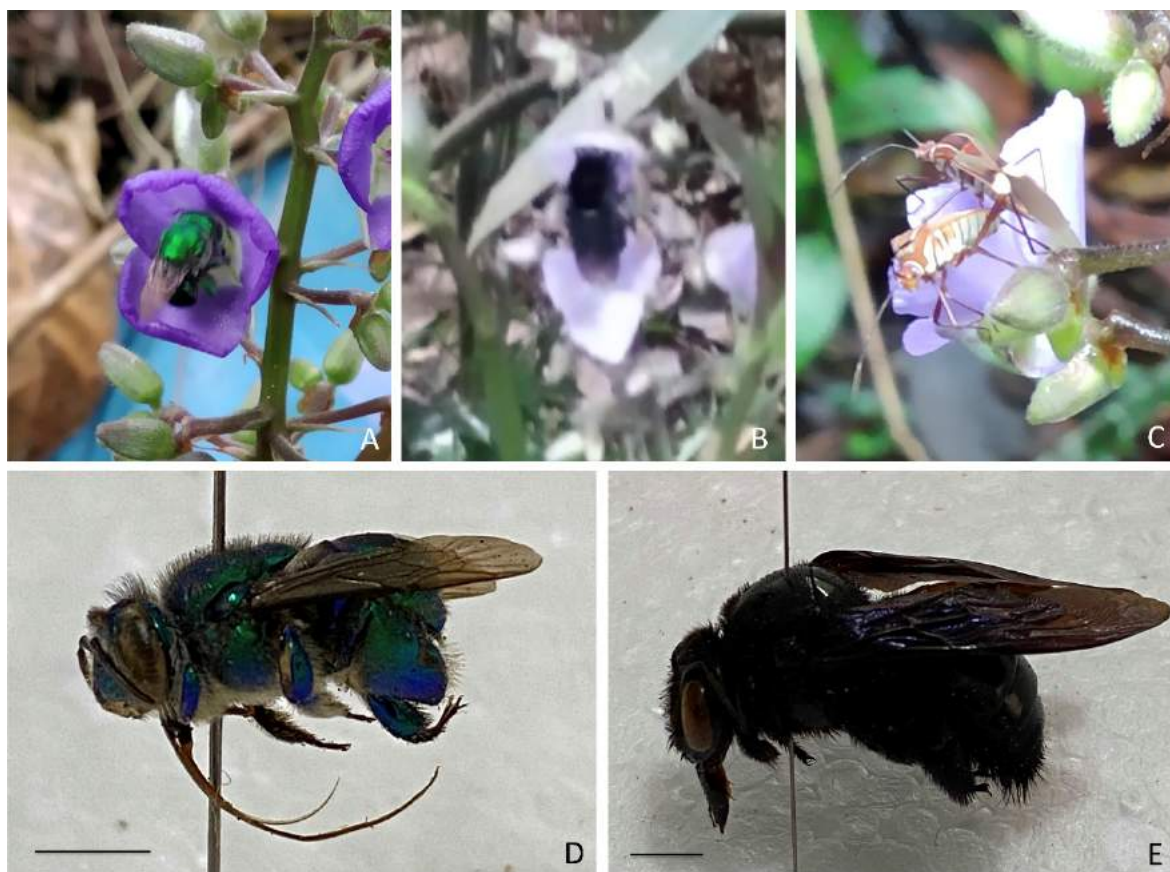


Figura 7. Visitantes florais em *Dichorisandra* sp. (Commelinaceae) na Mata de Cazuzinha, município de Cruz das Almas, Bahia, Brasil. A, D) *Euglossa* sp. B, E) *Xylocopa frontalis*. C) Pyrrhocoridae. Barras: 0,5 cm.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

O estudo da biologia floral, fenologia e sistema reprodutivo aqui apresentados ampliam o conhecimento acerca da espécie de *Dichorisandra* presente na Mata de Cazuzinha. Não obstante disso, conhecer a forma como esses mecanismos se comportam e interagem dentro do ecossistema trazem respostas positivas sobre o funcionamento das interações presentes em um fragmento de Mata Atlântica e a necessidade da sua conservação.

A fenologia indica floração nos períodos de maior temperatura e baixa precipitação, trazendo respostas e informações sobre quando a espécie se reproduz.

A biologia floral e reprodutiva permitiu inferir que *Dichorisandra* sp. realiza apenas polinização cruzada nas flores bissexuadas e que necessita de

polinizadores específicos (melitofilia) para o sucesso reprodutivo. Entender a estrutura polínica e viabilidade de uma espécie confere dados importantes tanto para a taxonomia bem como para a reprodução e conservação. A espécie apresenta uma autoincompatibilidade gametofítica com paralisação do crescimento do tubo polínico no terço médio e inferior do pistilo, observação esta, feita pela microscopia de fluorescência.

A Mata de Cazuzinha, fragmento florestal da Mata Atlântica, abriga várias espécies ameaçadas nesse restrito ecossistema. Recentemente, foram descritas novas espécies de diferentes famílias, como Euphorbiaceae e Bromeliaceae (*Cryptanthus cruzalmensis* Leme & E.H. Souza) para a mata. Nesse contexto, *Dichorisandra* sp. possui características relevantes que possam mediar a conservação desse ambiente, uma vez que, seu forte endemismo e sucesso reprodutivo são pontos de discussão interessantes que abrigam um alicerce para conservar essas áreas.

REFERÊNCIAS

- ADITHIYAA, T.; CHANDRAMOHAN, D.; SATHISH, T. Flower pollination algorithm for the optimization of stair casting parameter for the preparation of AMC. **Materials Today**, Kidlington, v. 21, n. 4, p. 882-886, 2020.
- AGOSTINI, K; LOPES, A.V; MACHADO, I.C. Recursos Florais. In: RECH, A.R.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRA, P.E.; MACHADO, I.C. **Biologia da Polinização**. 1ª ed. Rio de Janeiro. Editora Projeto Cultura, 2014. pp. 130-168.
- ALEXANDER, M.P. Aversatile stain for pollen fungi, yeast and bactéria. **Stain Technology**, Baltimore, v. 55, n. 1, p.13-18,1980.
- AONA, L.Y.S. **Revisão Taxonômica e análise cladística do gênero *Dichorisandra* J.C. Mikan (Commelinaceae)**. Tese de doutorado. Universidade Estadual de Campinas, São Paulo. 310 p. 2008.
- AONA, L. Y. S.; AMARAL, M. C. E. Endemism and the importance of intensive collections efforts for a taxonomic revision of *Dichorisandra* J.C. Mikan, Commelinaceae (Commelinales). In: **The Fifth International Conference on the Comparative Biology of Monocotyledons**, New York. New York: NYBG Press, 2013. v. 118. p. 147-156, 2017.
- AONA, L.Y.S.; BITTRICH, V.; AMARAL, M.C.E. Taxonomic novelties in Brazilian *Dichorisandra* (Commelinaceae): *D. sagittata* sp. nov. and *D. glabrescens* stat. nov. **Brittonia**, New York, v. 69, n. 2, p. 209-217, 2016.
- AONA, L.Y.S.; BITTRICH, V.; AMARAL, M.C.E. Two new species of *Dichorisandra* (Commelinaceae) from Rio de Janeiro and comments on the two species included in Vellozo's "Flora Fluminensis". **Phytotaxa**, Auckland, v. 184, n. 4, p. 223-234, 2014.
- AONA. Y. S. L.; FADEN, R. B.; BITTRICH, V.; AMARAL, M. C. E. Four new species of *Dichorisandra* (Commelinaceae) endemic from Bahia State, Brazil. **Brittonia**, New York, v. 68, n. 1, p. 61-73, 2015.
- AONA L.Y.S; FADEN, R.B; AMARAL, M.C.E. Five new species of *Dichorisandra* J. C. Mikan (Commelinaceae) from Bahia State Brazil. **Kew Bulletin**. London, v. 66, n. 4, p. 479–491. 2011.
- AUGSPURGER, C.K. Phenology, flowering synchrony, and fruit set of six neotropical shrubs. **Biotropica**, Oxford, v. 15, n. 4, p. 257-267, 1983.
- BASTOS, M.J.S.M.; BASTOS, L.P.; SOUZA, E.H.; SOARES, T.L.; MORAIS, D.V.; SOUZA, F.V.D.; COSTA, M.A.P.C. Floral and Reproductive biology of *Alcantarea nahoumii* (Bromeliaceae), a vulnerable endemic species of the Atlantic forest. **Acta Botanica Brasilica**, Brasília, v. 31, n. 4, p.665-676, 2017.
- BARRETO, A.A.; FREITAS, L. Atributos florais em um sistema de polinização especializado: *Calathea cylindrica* (Roscoe) K.Schum. (Marantaceae) e abelhas Euglossini. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.30, n.3, p.421-431, 2007.

BATISTA, I.C.M. **Morfologia polínica do gênero *Dichorisandra* J.C. Mikan (Commelinaceae): Contribuição para sua taxonomia.** Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Bahia, 2016. 54 p.

BERNINI, E. Monitoramento do ecossistema manguezal: fenologia reprodutiva. In: TURRA, A.; DENADAI, M.R. (Orgs.). **Protocolos para o monitoramento de habitats bentônicos costeiros – Rede de Monitoramento de Habitat Bentônicos Costeiros – ReBentos.** São Paulo: Instituto Oceanográfico da Universidade de São Paulo, 2015, pp. 81-86.

BREWBACKER, J.L.; KWACK, B.H. The essential role of calcium ion in pollen germination and pollen tube growth. **American Journal of Botany**, New York, v. 50, n. 9, p. 869-86, 1963.

BRUNO, M.M.A.; MASSI, K.G.; VIDAL, M.M.; VALL HAY, J. Reproductive phenology of three *Syagrus* species (Arecaceae) in a tropical savanna in Brazil, **Flora**, Amsterdam, v.252, n. Fevereiro, p.18-25, 2019.

CAETANO, A.P.S.; CORTEZ, P.A. Reprodução assexuada. In: RECH, A.R.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRA, P.E.; MACHADO, I.C. (Ed.). **Biologia da Polinização.** 1ª ed. Rio de Janeiro. Editora Projeto Cultura, 2014. pp. 113-126.

CHMURA, H.E.; KHAROUBA, H.M.; ASHANDER, J.; EHLMAN, S.M.; RIVEST, E.B.; YANG, L.H. The mechanisms of phenology: the patterns and processes of phenological shifts. **Ecological Monographs**, Hoboken, v. 89, n. 1, p.1-22, 2019.

COSTA, U.A.S.; OLIVEIRA, M.; TABARELLI, M.; LEAL, I.R. Dispersão de Sementes por formigas em remanescentes de Floresta Atlântica Nordeste, **Revista Brasileira de Biociências**, Porto Alegre, v.5, n.1, p.231-233, 2007.

CRUDEN, R.W. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants, **Evolution**, Iowa, v.31, n.1, p.32-46, 1977.

CRUZ, D.D.; MELLO, M.A.R.; VAN SLUYS, M. Phenology and floral visitors of two sympatric *Heliconia* species in the Brazilian Atlantic forest. **Flora**, Amsterdam, v. 201, n. 7, p.519-527, 2006.

DARRAULT, R.O; MEDEIROS, P.C.R; LOCATELLI, E; LOPES, A.V; MACHADO, I.C; SCHLINDWEIN, C. Abelhas Euglossini. In: PORTO, K.C; ALMEIDA-CORTEZ, J.S; TABARELLI, M. **Diversidade biológica e conservação da floresta Atlântica ao norte do rio São Francisco.** 14ª edição. Biodiversidade, Ministério do Meio Ambiente, 2010, pp. 239-252.

DÓREA, M.C. **Morfologia polínica, Fenologia Reprodutiva e Biologia Floral de espécies florestais de Poaceae.** Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia, 177 p. 2011.

DÓREA, M.C.; SANTOS, D.W.J.; OLIVEIRA, R.P.; FUNCH, L.S.; SANTOS, F.A.R. Reproductive traits related to anemophily and insects visitors in two species of Poaceae from the Brazilian Atlantic rainforest, **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.41, n.2, p.425-434, 2018.

EVANS T.M.; SYSTMA, K.J.; FADEN, R.B.; GIVNISH, T.J. Phylogenetic Relationships in the Commelinaceae: II. A Cladistic Analysis of rbcL Sequences and Morphology. **Systematic Botany**, Washington, v. 28, n. 2, p. 270-292, 2003.

FADEN, R.B. Commelinaceae. In: DAHLGREN, R.M.T., CLIFFORD, H.T. & YEO, P.F. (Eds.) **The families of the Monocotyledons. Structure, evolution, and taxonomy**. Springer Verlag, Berlin, pp. 381–387, 1985

FADEN, R.B. Floral biology of Commelinaceae. In: WILSON, K.L.; MORRISON, D.A. **Monocots: Sistematic and evolution**. Collingwood, Australia: CSIRO. 2.ed. 2000. pp. 309-324.

FADEN, R.B.; HUNT, D.H. The classification of the Commelinaceae. **Taxon**, Oldenburg, v, 40, n. X, p. 19-31, 1991.

FREITAS, L.S.; MOREIRA, L.M.; AVILA JR, R.S.A.; FELESTRINO, E.B.; DEMARCO, D.; SOUSA, H.C.; RIBEIRO, S.P. Reproductive phenology and floral visitors of a *Langsdorffia hypogaea* (Balanophoraceae) population in Brazil. **Flora**, Amsterdam, v. 233, n. 2, p. 51-57, 2017.

GALITZKI, E.L.; CERETO, C.E.; SCHERER, K.Z.; LOPES, B.C.; CASTELLANI, T.T. Formigas visitantes de *Actinocephalus polyanthus* (Bong.) Sano (Eriocaulaceae). **Biotemas**, Florianópolis, v. 26, n. 4, p.75-83, 2013.

GOMES, R.; PINHEIRO, M.C.B.; LIMA, H.A. Fenologia reprodutiva de quatro espécies de Sapotaceae na Restinga de Maricá, RJ. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 31, n. 4, p. 679-687, 2008.

GONÇALVES, C.B.S.; SILVA, C.B.; CÂNDIDO, A.C.S. Visitantes florais de *Inga edulis* (Fabaceae - Mimosoideae), na região do Pantanal - Passo do Lontra, **Visão Acadêmica**, Curitiba, v. 11, n. 1, p. 15-22, 2010.

GOVAERTS, R.; FADEN, R.B. **World checklist of Commelinaceae**. The Board of Trustees of the Royal Botanic Gardens, Kew. 2011. Disponível em: <<http://apps.kew.org/wcsp/home>> Acesso em: 28 de Março de 2020.

HAMMER, O.; HARPER, D.A.T.; RYAN, P.D. Past: Paleontological Statistics software package for education and data Analysis. **Palaeontologia Electronica**, Califórnia, v. 4, n. 1, p. 1-9, 2001.

HARDY, C.R.; SLOAT, L.L.; FADEN, R.B. Floral organogenesis and the developmental basis for pollinator deception in the asiatic dayflower *Commelina communis* (Commelinaceae). **American Journal of Botany**, Philadelphia, v. 96, n.7, p.1236-1244, 2009.

HARDY, C.R.; STEVENSON, D.W; KISS, H.G. Development of the gametophytes, flower and vasculature in *Dichorisandra thyrsiflora* (Commelinaceae). **American Journal of Botany**, Philadelphia, v. 87, n. 9, p. 1228-1239, 2000.

HESSE, M.; HALBRITTER, H.; WEBER, M.; BUCHNER, R.; FROCHRADIVO, A.; ULRICH, S. **Pollen terminology**. An illustrated handbook. Wien: Springer, 2009, 259 p.

KARNOVSKY, M. J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative in high osmolality for use in electron microscopy. **Journal of Cell Biology**, New York, v. 27, n. 2, p. 137-138A, 1965.

KAUL, V.; KOUL, A.K. Floral phenology in relation to pollination and reproductive output in *Commelina caroliniana* (Commelinaceae). **Australian Journal of Botany**, Melbourne, v. 56, n. 1, p. 59-66, 2008.

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

LEITE, A.V.; MACHADO, I.C. Fenologia reprodutiva, biologia floral e polinizadores de duas espécies simpátricas de Marantaceae em um fragmento de Floresta Atlântica, Nordeste de Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 20, n. 2, p. 221-231, 2007.

LUCA, P.A.; MARIN, M.V. What's the "buzz" about? The ecology and evolutionary significance of buzz-pollination. **Plant Biology**, West Sussex, v. 16, n. 4, p. 429-435, 2013.

MARIANO, V.; CHRISTIANINI, A.V. Reproductive phenology, seed removal and early regeneration in relation to distance from parental plants of a native palm in small Atlantic forest fragments, **Acta Botânica Brasilica**, Brasília, v.30, n.2, p.176-182, 2016.

MARTIN, F. W. Staining and Observing Pollen Tubes in the Style by Means of Fluorescence. **Stain Technology**, Baltimore, v. 34, n. 3, p. 125–128, 1959.

MATOS, L.C.N.; SANTANA, F.D.; BACCARO, F.B. Relações alométricas entre os tamanhos de sementes artificiais removidas e de formigas em um fragmento florestal na Amazônia Central, **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi - Ciências Naturais**, Belém, v.15, n.1, p.155-164, 2020.

MORELLATO, L.P.C, ALBERTON, B.; ALVARADO, S.T.; BORGES, B.; BUISSON, E.; CAMARGO, M.G.G.; CANCIAN, L.F.; CARSTENSEN, D.W.; ESCOBAR, D.F.E.; LEITE, P.T.P.; MENDOZA, I.; ROCHA, N.M.W.B.; SOARES, N.C.; SILVA, T.S.F.; STAGGEMEIER, V.G.; STREHER, A.S.; VARGAS, B.C.; PERES, C.A. Linking plant phenology to conservation biology. **Biological Conservation**, Amsterdam, v. 195, n. 1, p. 60-72, 2016.

NEVES, A.J. **Mapeamento e análise do estágio de conservação dos remanescentes de Mata Atlântica no Município de Cruz das Almas, Bahia**. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal do Recôncavo da Bahia, Cruz das Almas, 51 p. 2007.

NEVES, S.P.S. **Fenologia, Biologia Floral e polinização de espécies de Velloziaceae em área de campo rupestre na Chapada Diamantina, Bahia, Brasil**. Dissertação de Mestrado. Universidade Estadual de Feira de Santana, Bahia, 67 p. 2009.

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**, Oxford, v. 26, n. 2, p. 141-159, 1994.

- OTAROLA, M.F.; ROCCA, M.A. Flores no tempo: a floração como uma fase da fenologia reprodutiva. In: RECH, A.R.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRA, P.E.; MACHADO, I.C. **Biologia da Polinização**. 1 ed. Rio de Janeiro. Editora Projeto Cultura, pp. 113-126.2014
- OZIEGBE, M.; AKINLUA, I.O.; OLALEKAN, A.A. Comparative pollination role of stamens and breeding system in three species of *Commelina* (Commelinaceae) in Ile-Ife, Nigeria, **Acta Botânica Brasilica**, Brasília, v.27, n.3, p.543-550.2013.
- PANG, S; PAN, K; WANG, Y; Li,W; ZHANG, L; CHEN,Q. Floral morphology and reproductive biology of *Dendrobium jiajiangense* (Orchidaceae) in Mt Fotang, southwestern China. **Flora**. Amsterdam, v. 207, n. 6, p.469-374.2012.
- PILON, N.A.L.; UDULUTSCH, R.G.; DURIGAN, G. Padrões fenológicos de 111 espécies de Cerrado em condições de cultivo. **Hoehnea**, São Paulo, v. 42, n. 3, p. 425-443, 2015.
- PINHEIRO, M.; BRITO, V.L.G.; SAZIMA, M. Pollination biology of mellitophilous legume tree species in the Atlantic Forest in Southeast, Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, Brasília, v. 32, n. 3, p .410-425, 2018.
- PIRES, H.C.G.; ROSA, L.S.; CABRAL, B.S.; SILVA, V.M.; NOGUEIRA, G.A.; FERREIRA, P.R.N. Padrão Fenológico de *Attalea maripa* (Aubl.) Mart. em Áreas de pastagens na Amazônia Oriental. **Floresta e Ambiente**, Rio de Janeiro, v. 23, n. 2, p. 170-179, 2016.
- PUGAS, R.M.; DA PAZ, J.R.L.; NEVES, E.L.; PIGOZZO, C.M. *Himathantus bracteatus* (A.DC.) Woodson (Apocynaceae): phenology, morphology and floral biology of a species endemic to the Atlantic Forest, **Hoehnea**, São Paulo, v. 45, n. 3, p. 405-412, 2018.
- PUNT, W.; HOEN, P. P.; BLACKMORE, S.; NILSSON, S.; LE THOMAS, A. Glossary of pollen and spore terminology. **Review of Palaeobotany and Palynology**, Amsterdam, v. 143, n. 1-2, p.1-81, 2007.
- RAMIREZ, N.G.C.; HOCHÉ, O; SERES, A. & BRITO, V. Biologia floral do una comunidad arbustiva tropical en la Guayana Venezoelana. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, St. Louis, v. 7, n. 2, p. 383-397, 1990.
- RAMOS, D.M.; DINIZ, P.; VALLS, J.F.M. Habitat filtering and intespecific competition influence phenological diversity in an assemblage of Neotropical savanna grasses, **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v.37, n.1, p.29-36, 2014.
- RASBAND, W. S. **ImageJ**, 1997-2018. U. S. National Institutes of Health, Bethesda, Maryland, USA, Disponível em: <<http://imagej.nih.gov/ij/>> Acesso em: 20 de março de 2020.
- RAUB, F.; HÖFER, H.; SCHEUERMANN, L.; BRANDL, R. The conservation value of secondary forests in the southern Brazilian Mata Atlântica from a spider perspective, **Journal of Arachnology**, Middletown, v. 42, n. 1, p. 52-73, 2014.
- RAYNAL, A.; RAYNAL, J. Une technique de preparation des grains de pollen fragiles. **Adansonia**, Paris, v. 2, n. 11, p. 77-79, 1979.

RECH, A.R.; AVILA JR, R.S.; SCHLINDWEIN, C. Síndromes de polinização: especialização e generalização. In: RECH, A.R.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRA, P.E.; MACHADO, I.C. **Biologia da Polinização**. 1a. Ed., Rio de Janeiro. Editora Projeto Cultura, 2014, pp. 171-204.

REVANASSIDA.; BELAVADI, V.V. Floral biology and pollination in *Cucumis melo* L., a tropical andromonoecious cucurbit. **Journal of Asia-Pacific Entomology**, Amsterdam, v. 22, n. 1, p.215-225, 2019.

ROSI-DENADAI.; ARAÚJO, P.; CAMPOS, L. Buzz-pollination in Neotropical bees: genus-dependent frequencies and lack of optimal frequency for pollen release, Oxford, **Insect Science**, v.27, n.1, p.133-142, 2020.

RUBIM, P., NASCIMENTO, H.E.M., MORELLATO, L.P. Variações interanuais na fenologia de uma comunidade arbórea de floresta semidecídua no sudeste do Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, Brasília, v. 24, n. 3, p.756-764.2010.

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

SCHIFINO-WITTMAN, M.T; DALL'AGNOL, M. Auto-incompatibilidade em plantas. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 32, n. 6, p. 1083-1090, 2002.

SIGRIST, M.R; SAZIMA, M. Phenology, reproductive biology and diversity of buzzing bees of sympatric *Dichorisandra* species (Commelinaceae): breeding systems and performance of pollinators. **Plant Systematic and Evolution**, Wien, v. 301, n. 3, p.1005-1015, 2015.

SILVA, P.N.; HRNCIR, FONSECA, V.L.I. A polinização por vibração. **Oecologia Australis**, Rio de Janeiro, v. 14, n. 1, p.140-151, 2010.

SILVEIRA, F.A; MELO, G.A.R; ALMEIDA.E.A.B. Origem, filogenia e biogeografia. In: SILVEIRA, F.A; MELO, G.A.R; ALMEIDA.E.A.B. **Abelhas Brasileiras: Sistemática e identificação**. 1a. Ed., 2002, pp. 29-40.

SOARES, T.L; SOUZA, E.H; ROSSI, M.L; SOUZA, F.V.D. Morfologia e viabilidade de grãos de pólen de acessos silvestres de abacaxi. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 41, n. 10. p. 1744-1749, 2011.

SOUZA, E.H.; SOUZA, F.V.D.; ROSSI, M.L.; BRANCALLEÃO, N.; LEDO, C.A.S.; MARTINELLI, A.P. Viability, storage and ultrastructure analysis of *Aechmea bicolor* (Bromeliaceae) pollen grains, an endemic species to the Atlantic Forest, **Euphytica**, Heidelberg, v.204, n.1, p.13-28, 2015.

SOUZA, E.H.; SOUZA, F.V.D.; ROSSI, M.L.; PACKER, R.M.; CRUZ-BARROS, M.A.V.; MARTINELLI, A.P. Pollen morphology and viability in Bromeliaceae, **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, Rio de Janeiro, v. 89, n.4, p.3067-3072, 2017.

SOUZA, E.H.; VERSIEUX, L.M.; SOUZA, F.V.D.; ROSSI, M.L.; COSTA, M.A.P.C.; MARTINELLI, A.P. Interspecific and intergeneric hybridization in Bromeliaceae and their relationships to breeding systems, **Scientia Horticulturae**, Netherlands, v.223, p.53-61, 2017.

SOUZA, I.M.; COUTINHO, K.; FUNCH, L.S. Estratégias fenológicas de *Senna cana* (Nees & Mart) H.S. Irwin & Barneby (Fabaceae: Caesalpinioideae) como mecanismo eficiente para atração de polinizadores. **Acta Botanica Brasilica**. Brasília, v. 26, n. 2, p. 435-443, 2012.

TEIXEIRA, S.P.; MARINHO, C.R.; PAULINO, J.P. A flor, aspectos morfofuncionais e evolutivos. In: RECH, A.R.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRA, P.E.; MACHADO, I.C. **Biologia da Polinização**. 1a. Ed. Rio de Janeiro. Editora Projeto Cultura, 2014. pp. 45-69.

VERÇOZA, F.C.; NASCIMENTO, E.C.; CORTÊS, I.M.R. Melitofilia em *Canavalia rosea* (Sw.) DC. (Leguminosae - Papilionoidae). **Entomobrasilis**, Rio de Janeiro, v. 3, n. 3, p. 73-76, 2010.

VITA, R.S.B.; MENEZES, N.L.; PELEGRINI, M.O.O.; MELO-DE-PINA, G.F.A. A new interpretation of the cauline systems in Commelinaceae (Commelinales). **Plos One**, San Francisco, v. 14, n. 6, p. 1-24, 2019.

YI, W.; LAW, E.; MCCOY, D.; WETZSTEIN, H.Y. Stigma development and receptivity in Almond (*Prunus dulcis*). **Annals of Botany**, Oxford, v. 97, n. 1, p. 57-63, 2006.

ZEISLER, M. Über die Abgrenzung des eigentlichen Narbenfläche mit Hilfe von Reaktionen. **Beihefte zum Botanischen Centralblatt**, Jena, v. 58, p. 308-318, 1933.