

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
LETÍCIA MENEZES CAMURÇA

Mecanismo floral e reprodução em *Centrosema virginianum* (L.) Benth.

RECIFE

2019

UNIVERSIDADE FEDERAL RURAL DE PERNAMBUCO
LETÍCIA MENEZES CAMURÇA

Mecanismo floral e reprodução em *Centrosema virginianum* (L.) Benth.

Trabalho de conclusão de curso apresentado,
como exigência para obtenção do grau de
Bacharel em Ciências Biológicas, na
Universidade Federal Rural de Pernambuco,
sob orientação da Prof.^a Dra. Ana Virgínia de
Lima Leite.

RECIFE

2019

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas da UFRPE
Biblioteca Central, Recife-PE, Brasil

C211m Camurça, Leticia Menezes
Mecanismo floral e reprodução em *Centrosema virginianum*
(L.) Benth. / Leticia Menezes Camurça. – 2019.
24 f.: il.

Orientadora: Ana Virgínia de Lima Leite.
Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Ciências
Biológicas) – Universidade Federal Rural de Pernambuco,
Departamento de Biologia, Recife, BR-PE, 2019.
Inclui referências.

1. Fertilização de plantas 2. Fisiologia vegetal 3. Plantas –
Reprodução 4. Biologia I. Leite, Ana Virgínia de Lima, orient.
II. Título

CDD 574

LETÍCIA MENEZES CAMURÇA

MECANISMO FLORAL E REPRODUÇÃO EM *Centrosema virginianum* (L.) Benth.

Trabalho de conclusão de curso apresentado, como exigência para obtenção do grau de Bacharel em Ciências Biológicas, na Universidade Federal Rural de Pernambuco, apreciada pela Banca Examinadora composta pelos seguintes membros:

BANCA EXAMINADORA

Prof.^a Dra. Ana Virgínia de Lima Leite - Orientadora

Prof.^a Dra. Elisangela Lucia de Santana Bezerra (UFRPE)

MSc. Bruna Yvila Melo Santos (UFRPE)

Aprovada em ____ de _____ de _____.

NOTA

RECIFE

2019

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer primeiramente a Deus pela vida e por ter permitido que eu trilhasse essa jornada aqui, por todas as oportunidades e por me guiar em todos os momentos, alegre e difíceis.

Também gostaria de agradecer à minha orientadora, Ana Virgínia, que me orientou desde o início da graduação, contribuindo grandemente para minha formação, e por ter me guiado na redação desta monografia, além de toda a ajuda prestada no processo de seleção de mestrado.

À minha mãezinha, Katarine, por todo amor, apoio, e os abraços que nunca pedi, mas ela sempre soube quando eu estava precisando. Pela torcida e por ouvir minhas confissões sempre. Por ser meu exemplo, meu incentivo e, principalmente, por ser minha melhor amiga e companheira, estando sempre ao meu lado, torcendo por mim.

À minha querida avó, pelos abraços aconchegantes e pelo sorriso ao me receber sempre, por me apoiar em tudo e por sempre esperar o melhor de mim. Obrigada por ser o meu anjo da guarda, sempre orando e torcendo por mim.

Ao meu avô pelas velhas piadas e brincadeiras que tanto nos fazem rir. Pelas conversas sem hora e por sempre se oferecer para ajudar, sempre que for preciso.

Aos meus irmãos, Alice e Marconi, pelos momentos descontraídos e pelas distrações. Sabemos que implicamos um com o outro o tempo todo, mas nunca nos abandonamos. Vocês são meu maior tesouro e os que sei que vou poder contar pelo resto da vida.

Ao meu namorado, Allan, que ficou comigo sempre, durante todos os momentos, torcendo e fazendo companhia, me distraindo e roubando risos entre um estresse e outro. Obrigada por estar sempre ao meu lado e por esperar sempre pelas minhas conquistas.

Aos meus amigos e companheiros de faculdade, Ana, Brena, Rayane e Victor, por estarem em todos os momentos, bons e ruins, pelos grupos de estudo, pelas risadas, pelo apoio e por todo o resto, que vocês já sabem. Vocês tornaram os meu anos de graduação melhores.

Também gostaria de agradecer à Bruna e Karine por toda ajuda, além da torcida e pela força na seleção do mestrado. Vocês são incríveis.

No mais, ao meu padrinho Ulisses, à tia Sabrina e aos meus sogros, Luciana e Alexandre, que sempre estão acompanhando minha jornada e torcendo por mim. Obrigada.

RESUMO

As flores papilionáceas são descritas na literatura como sendo flores que possuem apresentação secundária do tipo *brush*, onde uma série de tricomas presentes do estilete são responsáveis pela coleta e deposição de pólen no corpo do polinizador para reprodução. Com isso, o objetivo do presente estudo foi analisar o mecanismo floral, a reflexão ultravioleta, morfologia polínica, antese floral, frequência de visitantes e sistema reprodutivo, de *Centrosema virginianum*, uma espécie com flores papilionáceas que possui coloração lilás e, menos comumente, branca. Para análise do mecanismo floral foram gravados vídeos com simulações de visitas a fim de visualizar a exposição das estruturas florais e o funcionamento da deposição do pólen, além de analisar o papel do *brush* nesse mecanismo de deposição. Foram realizados, em flores lilases e brancas, testes de reflexão ultravioleta com hidróxido de amônio, e análise da morfologia polínica através do método de acetólise. Para a antese floral, foram observados botões em pré-antese de flores lilases e brancas até o início da antese, para registrar o horário. Foram feitas 40 horas de observações para determinar os visitantes florais e classificá-los em polinizadores e pilhadores. Para o sistema reprodutivo, foram realizados testes de polinização cruzada e autopolinização manual e espontânea, além do grupo controle (polinização natural). O mecanismo *brush* consiste em tricomas presentes da extremidade do estilete e tem função de varrer o pólen das suas anteras para a região dorsal do inseto e trazer o pólen de outras flores para ser fecundada. Os testes de reflexão ultravioleta demonstraram que há diferenças na coloração das flores lilases e brancas, porém não há diferenças entre o guia de néctar de ambas, pois estes permanecem iguais. Os grãos de pólen das flores lilases e brancas diferiram apenas no tamanho. A antese floral inicia antes das 5h00 e dura aproximadamente treze horas. Os principais polinizadores de *C. virginianum* são as abelhas do gênero *Bombus* e *Xylocopa*, embora abelhas do gênero *Euglossa* possam ser polinizadoras ocasionais, dependendo do tamanho da flor. As flores também recebem visitas de lepidópteros da família HesperIIDae, que são pilhadores. Nenhum dos visitantes florais fez distinção entre as flores lilases e brancas. A espécie é autógama autocompatível e, pela baixa quantidade de frutos formados por autopolinização espontânea, necessita de um vetor para realizar a autofecundação. *Centrosema virginianum* é uma espécie trepadeira, herbácea, autógama, mas dependente de polinizadores que, embora as flores apresentem-se nas colorações lilás e branca, não demonstrou diferenças reprodutivas e ecológicas entre elas.

Palavras-chave: apresentação secundária. Biologia floral. Polinização.

ABSTRACT

The papilionaceous flowers are described in the literature as being flowers with secondary presentation of the brush type, where a series of trichomes on the stylet are responsible for the collection and deposition of pollen in the body of the pollinator for reproduction. The objective of the present study was to analyze the floral mechanism, ultraviolet reflection, pollen morphology, floral anthesis, frequency of visitors and breeding system of *Centrosema virginianum*, a papilionaceous species with flowers that has a purple and, less commonly, white coloration. For analysis of the floral mechanism, videos were recorded with simulations of visits to visualize the exposure of the floral structures and the pollen deposition, as well as to analyze the role of the brush in this mechanism of deposition. Tests of ultraviolet reflection with ammonium hydroxide were carried in purple and white flowers and analysis of pollen morphology through the acetolysis method. Floral buttons of purple and white flowers were collected for the accomplishment of the acetolysis and preparation of slides for analysis of the pollen morphology. For the floral anthesis, pre-anthesis buttons of purple and white flowers were observed until the beginning of the anthesis to record the time. 40 hours of observations were made to determine floral visitors and classify them as pollinators and plovers. For the breeding system, tests of cross-pollination and manual and spontaneous self-pollination, besides the control group (natural pollination) were performed. The brush mechanism consists of trichomes present from the tip of the stylet and has the function of sweeping the pollen from their anthers to the dorsal region of the insect and bringing the pollen from other flowers to be fertilized. The ultraviolet reflection tests showed that there are differences in the coloration of purple and white flowers, but there are no differences between the nectar guides of both, since they remain the same. The pollen grains of purple and white flowers differed only in size. The floral anthesis begins before 5:00 a.m. and lasts approximately thirteen hours. The main pollinators of *C. virginianum* are bees of the genus *Bombus* and *Xylocopa*, although bees of the genus *Euglossa* may be occasional pollinators, depending on the size of the flower. The flowers also receive visits of Lepidoptera of the family Hesperidae, that are plunderers. None of the flower visitors distinguished between purple and white flowers. The species is self-compatible autogamous and, due to the low amount of fruits formed by spontaneous self-pollination, requires a vector to perform self-fertilization. *Centrosema virginianum* is a climber, herbaceous, autogamous species, but dependent of pollinators, although the flowers presents in purple and white colors, did not show reproductive and ecological differences between them.

Key words: secondary presentation. Floral biology. Pollination.

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO	07
1.1	FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA	09
1.2	OBJETIVOS	11
1.2.1	Objetivo geral	11
1.2.2	Objetivos específicos	11
2	DESENVOLVIMENTO	12
1.1	MATERIAIS E MÉTODOS	12
1.2	RESULTADOS	14
1.3	DISCUSSÃO	19
3	CONSIDERAÇÕES FINAIS	21
	REFERÊNCIAS	22

INTRODUÇÃO

A polinização compreende o primeiro processo responsável pela reprodução do vegetal (MURCIA, 1995), constituindo um processo adaptativo e dinâmico entre flores e polinizadores para a contribuição do sucesso reprodutivo. Diversas estratégias reprodutivas florais são encontradas entre as angiospermas, bem como diferentes adaptações são relatadas entre as mesmas e os grupos de polinizadores, sobretudo entre as abelhas (ROCHA, 2015). Estratégias/adaptações essas que podem conduzir a uma maior produção de frutos e sementes que serão deixadas no ambiente. Entre as inúmeras estratégias florais, há as flores com quilha, as quais são características de espécies da Família Fabaceae, subfamília Papilionoideae (ALEMÁN *et al.*, 2013).

Flores que apresentam quilha comumente são zigomorfas, com corola fusionada, apresentando uma pétala dorsal (estandarte), duas pétalas laterais (alas) e duas ventrais (quilha) (OJEDA; FRANCISCO-ORTEGA; CRONK, 2009). A morfologia bem especializada envolve parte da corola, o androceu e o gineceu, resultando em um mecanismo de proteção, economia e deposição precisa dos grãos de pólen no corpo do polinizador, onde, nessas espécies, o estilete pode apresentar apresentação secundária de pólen do tipo *brush* (AZEVEDO *et al.*, 2011) em que os grãos de pólen ficam depositados em tricomas na região superior do estigma. Este tipo de apresentação secundária é responsável por varrer o pólen em pequenas porções e precisa de repetidas visitas de polinizadores (LEPPIK, 1966). Para que haja a polinização, é necessário um polinizador que seja capaz de acionar a quilha, fazendo com que uma pequena parte do pólen seja depositado em seu corpo. Em geral, os principais polinizadores são abelhas de médio a grande porte (WESTERKAMP; WEBER, 1999).

Em espécies de Papilionoideae, embora o mecanismo floral seja especializado, há registros de autopolinização entre as espécies, como observado nos gêneros *Cratylia* (QUEIROZ *et al.*, 1997), *Trifolium* (SPERONI; IZAGUIRRE, 2003) *Desmodium* (GARCIA; PINHEIRO, 2017) e *Pachecoa* (ORSINI; AGOSTINI, 1988). Há também espécies autocompatíveis, como as do gênero *Periandra* (COSTA; COSTA, 2006), *Erythrina* (COSTA; MORAIS, 2008) e *Desmodium* (GARCIA; PINHEIRO, 2017) e autoincompatíveis tardiamente, como o gênero *Dipteryx* (OLIVEIRA; SIGRIST, 2008), onde ambas necessitam da presença dos vetores bióticos.

O gênero *Centrosema* é nativo da América do Sul (AZEVEDO *et al.*, 2011) e tem seu centro de distribuição no Brasil (BARBOSA, 1977). Nesse gênero há espécies autógammas (BATTISTIN; LOVATTO, 1994), como *C. pubescens* Benth. (SOUZA, 2010), não

autógamas, mas autocompatíveis e que dependem de polinizadores (CARDEL; KOPTUR, 2010) para um maior sucesso reprodutivo. *Centrosema virginianum* é uma espécie herbácea perene (SPEARS JR, 1987) que apresenta flores hermafroditas (AZEVEDO *et al*, 2011), zigomorfas (LEPPIK, 1966), e autógamas (BATTISTIN; LOVATTO, 1994), sendo caracterizadas pela presença de cinco pétalas modificadas em estandarte, alas e quilha (CARDEL; KOPTUR, 2010), gerando um mecanismo que é ativado principalmente por insetos da ordem Hymenoptera (LEPPIK, 1966). A espécie apresenta coloração lilás e, menos comumente, branca (CORADIN; RAMOS, 2016). Visando detalhar o mecanismo de apresentação secundária do tipo *brush* e sua atuação na captação e deposição de pólen, observar os visitantes florais, além de fazer comparações sobre a eficiência reprodutiva entre as flores de coloração lilás e branca, foram realizadas observações do mecanismo floral, da polinização e do sistema reprodutivo de *Centrosema virginianum*.

FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

Fabaceae é uma das maiores famílias de Angiospermas do mundo, com cerca de 19.000 espécies. No Brasil, é a maior família (em número de espécies), com 3.200 espécies distribuídas em 176 gêneros (GIULIETTI *et al.*, 2005) e seis subfamílias: Caesalpinioideae (que engloba o clado Mimosoideae), Cercidoideae, Detarioideae, Dialioideae, Duparquetioideae e Papilionoideae (LWGP, 2017). Seu grande sucesso pode estar associado à grande plasticidade de hábitos de crescimento dessas espécies, que variam desde lianas e ervas à árvores (SOUZA, 2012).

A subfamília Papilionoideae é caracterizada pela exibição de flores com pétalas modificadas, chamadas flores com quilhas, que apresentam a pétala padrão na região superior e a quilha e as alas circunvizinhas formando uma plataforma de pouso para o visitante floral. Há ainda a quilha invertida, onde a pétala padrão forma a plataforma de aterrissagem (estandarte), enquanto que a quilha e as alas ficam na parte superior, sendo o pólen, dessa forma, depositado na região dorsal do visitante floral (transferência nototribica de pólen) (AMARAL-NETO; WESTERKAMP; MELO, 2015).

O gênero *Centrosema* é nativo da América do Sul (AZEVEDO *et al.*, 2011) e tem seu centro de distribuição no Brasil (BARBOSA, 1977), fazendo parte das leguminosas autógamas que sofreram modificações reprodutivas ao longo do tempo (BATTISTIN; LOVATTO, 1994). A espécie *Centrosema virginianum* (L.) Benth. é uma herbácea trepadeira, podendo atingir vários metros de comprimento, perene, com floração principalmente entre o início de agosto e o final de setembro e que cresce principalmente em locais antropizados e em uma grande variedade de solos (e.g. SPEARS JR, 1987; AZEVEDO *et al.*, 2011).

As flores de *Centrosema virginianum* são hermafroditas, zigomorfas, com pétalas modificadas em estandarte, onde se encontra o guia de néctar, quilha e alas, que protegem as estruturas reprodutivas (AZEVEDO *et al.*, 2011). Embora a floração ocorra principalmente entre agosto e setembro, as flores que possuem floração contínua ao longo do ano, tem grande investimento energético em reprodução, tendo alta taxa de produção de sementes, porém pouco investimento vegetativo. A grande quantidade de sementes ajuda a formar um banco de germoplasma, que se desenvolvem em novas plantas (BATTISTIN; LOVATTO, 1994).

As estruturas reprodutivas, protegidas pelas alas e quilha, ficam dispostas de forma curvada, onde nove dos dez estames ficam ao redor do pistilo e um estame fica livre, mais abaixo. Dessa forma, a deposição do pólen é nototribica (CARDEL; KOPTUR, 2010). As anteras apresentam deiscência rimosa, com apresentação secundária de pólen do tipo *brush*

(AZEVEDO *et al.*, 2011) em que os grãos de pólen ficam depositados em tricomas na região superior do estigma. Este tipo de apresentação secundária é responsável por varrer o pólen em pequenas porções e precisa de repetidas visitas de polinizadores (LEPPIK, 1966).

As modificações reprodutivas da flor indicam que a polinização é realizada principalmente por Hymenoptera, principalmente dos gêneros *Bombus* e *Xylocopa*. Em testes de autopolinização manual, constatou-se que, embora *C. virginianum* seja autocompatível, as flores necessitam da visita dos polinizadores para que ocorra a fecundação, ou seja, são incapazes de autopolinizar-se (CARDEL; KOPTUR, 2010).

O fruto é seco (legume), onde a vagem mede cerca de 8-12 centímetros de comprimento, contendo de 4 a 12 sementes (CORADIN; RAMOS, 2016). Apresenta deiscência longitudinal e alta taxa de sementes abortadas. As sementes são pequenas, lisas, com tegumento espesso, endosperma bem aderido ao embrião e de cor amarela. Esses caracteres podem ser usados para taxonomia da espécie (AZEVEDO *et al.*, 2011).

Diversos fatores influenciam na eficiência reprodutiva das plantas. Alguns deles incluem as formas de atração de polinizadores pelas pétalas, que podem apresentar sinais visuais, táteis ou olfativos, dependendo da síndrome de polinização. Algumas flores apresentam guias de néctar, que podem estar presentes nas pétalas ou serem formados por estruturas reprodutivas (CARDOSO; MOSSANEK; ACRA, 2007). Características presentes em *C. virginianum*, tais quais antese diurna, ornamentação da corola com guias de néctar visíveis e com ultravioleta contrastante, definem a espécie como melitófila (polinizadas por abelhas) (FAEGRI; PIJL, 1979). Vários autores relatam a importância dessa reflexão ultravioleta para as plantas melitófilas, uma vez que sinalizam o local de recompensa para a abelha (e.g. BEZERRA; MACHADO, 2003; STORTI; BRAGA; STORTI FILHO, 2011; AMARAL, 1992).

OBJETIVOS

Objetivo geral

Analisar a biologia floral, o mecanismo de polinização e o sistema reprodutivo de *Centrosema virginianum*.

Objetivos específicos

- Analisar a biologia floral (morfologia floral, antese, reflexão UV, tipo polínico);
- Analisar o mecanismo floral de *C. virginianum*.
- Determinar os visitantes florais e a frequência de visitas às flores de *Centrosema virginianum*;
- Determinar o sistema reprodutivo de *C. virginianum*.

MATERIAL E MÉTODOS

Área de estudo

O estudo foi desenvolvido no campus da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE), Recife-PE, em área ruderal, antropizada e com pouca vegetação rasteira, próxima ao Departamento de Zootecnia (8°01'17.1"S e 34°57'15.2"W), no período de dezembro de 2017 a dezembro de 2018. A cidade do Recife apresenta temperatura média de 26 °C e clima quente e úmido, com maior incidência de chuvas em junho, julho e agosto e sol constante no resto do ano. Segundo a classificação climática de Köppen, a cidade tem um clima megatérmico (tropical úmido). Na área de estudo, a espécie *Centrosema virginianum* apresentou flores lilases e brancas.

Biologia floral

Mecanismo floral

Para determinar o mecanismo floral, cinco botões em pré-antese foram ensacados e, no dia seguinte, com a flor já em antese, foi simulado uma visita de polinizador com o auxílio de uma caneta, onde o mecanismo de exposição das estruturas reprodutivas pôde observado e descrito. Com isso, foi possível analisar o mecanismo de deposição de pólen. Botões em diferentes fases também foram coletados para observação das estruturas reprodutivas no estereomicroscópio.

Reflexão ultravioleta

Foram realizadas comparações entre flores lilás e branca, quanto à reflexão ultravioleta, morfologia dos grãos de pólen, frequência de visitas e sistema reprodutivo. Afim de avaliar a reflexão ultra violeta, botões em pré-antese de flores lilases (10 flores) e brancas (10 flores) foram ensacados e, no dia posterior, já em antese, as flores foram submetidas ao teste com hidróxido de amônio durante cinco minutos, revelando o local de reflexão ultravioleta nessas flores, as quais foram fotografadas para posterior comparação.

Morfologia polínica

Para análise da morfologia polínica, os grãos de pólen foram extraídos dos botões florais em pré-antese. O material foi fixado em ácido acético PA e submetido ao procedimento padrão de acetólise descrito por Erdtman (1960), que consiste na retirada de todo o conteúdo citoplasmático dos grãos de pólen, permitindo uma melhor visualização e análise das estruturas da exina. Para cada cor de flor foram produzidas três lâminas, estas foram montadas com gelatina glicerizada, coradas com safranina, lutadas com parafina e posteriormente foram mensurados 25 grãos de pólen para cada cor de flor. Foi calculada a média aritmética baseada na medida do diâmetro polar (P) e do diâmetro equatorial (E).

Sempre que os grãos de pólen se apresentaram na vista equatorial, a partir do diâmetro polar na vista equatorial foi definido o tamanho do pólen, seguindo a escala proposta por Erdtman (1952). Os elementos de ornamentação e demais medidas, assim como o número de aberturas foram realizadas em três diferentes lâminas, na objetiva de 100 μm . A análise qualitativa consistiu primordialmente na análise dos elementos de ornamentação da exina, forma (critérios definidos por Erdtman, 1952), âmbito e tamanho dos grãos de pólen, que assim como as outras descrições tiveram como base a nomenclatura descrita no glossário de Punt *et al.* (2007).

Antese floral

A antese floral foi verificada em 10 botões em pré-antese de flores lilases e 10 de flores brancas, previamente ensacadas. No dia posterior, foi acompanhado o início de abertura dos botões até o final de antese.

Polinização

A antese floral foi verificada em 10 botões em pré-antese de flores lilases e 10 de flores brancas, previamente ensacadas. No dia posterior, foi acompanhado o início de abertura dos botões até o final de antese. A frequência de polinizadores foi realizada a partir de observações em campo, por 40 horas, entre 04h30 e 16h30. Foram feitas observações do número de visitas/polinizador/hora; número de flores visitadas e comportamento do polinizador durante a visita às flores. Os visitantes foram classificados em polinizadores e pilhadores.

Sistema reprodutivo

O tipo de sistema reprodutivo foi determinado a partir de cruzamentos realizados em flores lilases e brancas, tais como: a) Polinização cruzada manual: flores lilás (n=37) e branca (n=33) previamente ensacadas foram polinizadas manualmente com o pólen de indivíduos que estavam em populações distintas, distantes pelo menos 100 metros; b) Autopolinização espontânea: botões em pré-antese (35 lilás e 36 branca) foram ensacados, sem nenhum tratamento prévio e posteriormente foram contabilizados a produção de frutos e sementes e; c) Autopolinização manual: trinta e nove flores lilases e 35 brancas, previamente ensacadas, foram polinizadas manualmente com seu próprio pólen. Foi estimada também a polinização natural (controle), onde flores lilás (n=71) e branca (n=68) foram marcadas e mantidas em suas condições naturais para posteriormente contabilizar a formação de frutos e sementes.

RESULTADOS

A espécie *Centrosema virginianum* é uma trepadeira herbácea que apresenta flores nas colorações lilás (figura 1.a) e, menos comumente, branca (figura 1.c). As flores são caracterizadas pela presença da quilha, que protege as estruturas reprodutivas e necessitam de insetos específicos que ativem o mecanismo de exposição dessas estruturas. Ao ativar este mecanismo, as estruturas reprodutivas são expostas e os tricomas no pistilo são responsáveis por captar o pólen presente na região dorsal do inseto, proveniente de outras flores; ao voltar para dentro da quilha, o pólen presente no pistilo é depositado de forma nototribica no polinizador, que o transportará. Essas flores também apresentam um guia de néctar, responsável pela atração dos visitantes, sinalizando o recurso ofertado. Nos testes de reflexão ultravioleta, ambas as flores branca e lilás apresentaram o guia de néctar contrastado em relação às demais partes da corola (figura 1).



Figura 1. Reflexão ultravioleta demonstrando o antes (a e c) e o depois (b e d) das flores lilases e brancas, respectivamente.

Os grãos de pólen da flor lilás e branca apresentam algumas diferenças nas medidas e na forma. Os grãos de ambas as flores são caracterizador por serem mônades, grandes, suboblato (flores lilases, P/E = 0,87) ou subprolato (flores brancas, P/E = 1,18), de âmbito triangular, tricolpados, com colpos alongados e aperturados, com as aberturas localizadas nos ângulos e exina reticulada heterobrocada, apresentando as medidas (vista equatorial em μm) de área polar (44,81; 38,35, flores lilás e branca, respectivamente), diâmetro polar (67,90; 55,63), diâmetro equatorial (56,74; 63,61) e relação entre o diâmetro polar e equatorial (1,18; 0,87) (figura 2). Nas flores lilases, o tipo de abertura observada foi circular e isso não foi verificado nas flores brancas.

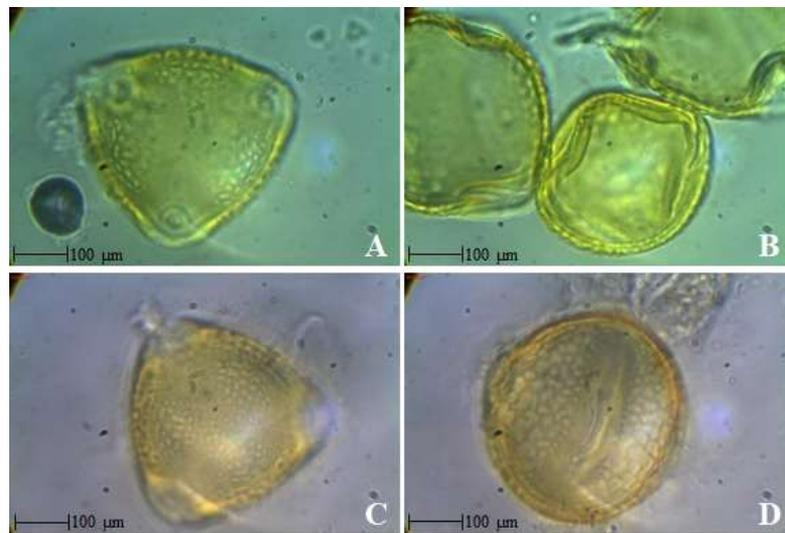


Figura 2. Grãos de pólen (microscópio óptico) da espécie *Centrosema virginianum*, Fabaceae-Papilionoideae, em área ruderal no campus da Universidade Federal Rural de Pernambuco. A, C – vista polar, flor lilás e branca, respectivamente; B, D – vista equatorial, flor lilás e branca, respectivamente. Escala: 100 μm .

As flores de *C. virginianum* abrem antes das 05h00 e duram aproximadamente treze horas. As flores que são bastante visitadas podem murchar mais cedo. A partir das observações de frequência de visitantes, foi possível constatar que os principais polinizadores são as abelhas dos gêneros *Bombus* e *Xylocopa*, mas também recebem visitas de abelhas *Euglossa* sp., que podem ser polinizadores ocasionais dependendo do tamanho da flor, e de lepidópteros da família Hesperidae, que pilhavam o néctar. Os visitantes florais não fizeram distinção entre as flores de colorações diferentes. As abelhas do gênero *Bombus* sp. passavam, aproximadamente, 9,2 segundos na flor, bebendo néctar. Os indivíduos de *Xylocopa* sp. levaram aproximadamente 7,4 segundos para beber o néctar. Em ambos os casos, o tempo é suficiente para o pólen ser depositado na região dorsal do polinizador. A maior frequência de visitas ocorreu principalmente pela manhã, até as 10h. Embora as flores permanecessem abertas até as 17h, uma vez que têm duração de 13 horas, não foram observadas visitas após

às 13h. Os resultados da frequência de visitantes florais podem ser observados nas Figuras 3 e 4. O baixo número de visitas pode ser devido ao ambiente antropizado, uma vez que o grande barulho poderia afastar os visitantes. Outro fator é que indivíduos de *Xylocopa*, na presença de flores do gênero *Cnidoscolus*, demonstraram preferência por ela, não realizando visitas nas flores de *C. virginianum*; já as abelhas *Bombus*, na presença da espécie *Centrosema brasilianum*, demonstrou preferência por ela.

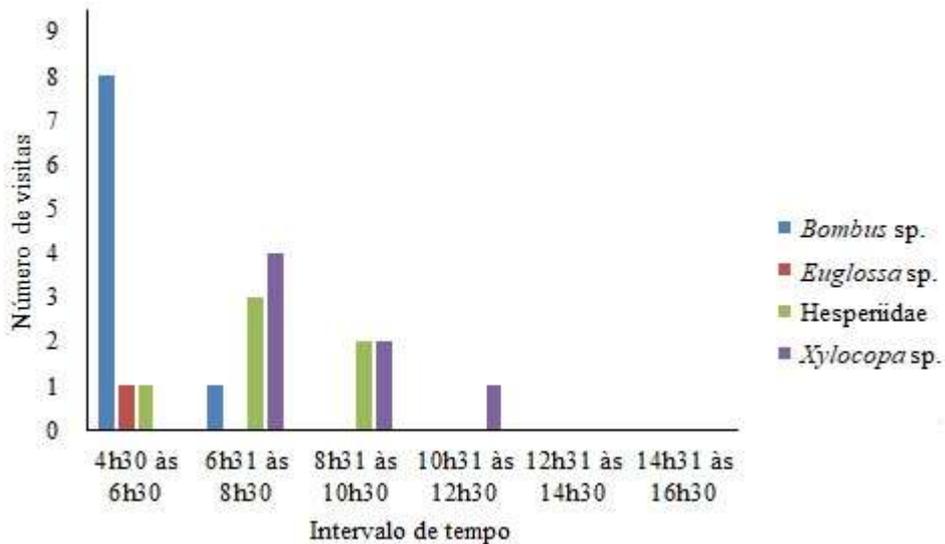


Figura 3. Frequência total de visitantes florais às flores de *Centrosema virginianum*.

Houve baixa produção de frutos nos testes de autopolinização espontânea, tanto nas flores lilases (5,7%) quanto nas flores brancas (16,67%), mas formou um número considerável de frutos nos testes de autopolinização manual nas flores lilases e brancas (46,1% e 60%, respectivamente), o que demonstra que a espécie é autocompatível, porém necessita de um vetor para realizar a autopolinização eficientemente. O grupo controle teve uma porcentagem de formação de frutos de 38% e 36,8% para as flores lilases e brancas, respectivamente. Os testes de polinização cruzada foram os que apresentaram maior porcentagem de formação de frutos, onde as flores lilases e brancas formaram 78,4% e 78,8% de frutos, respectivamente. Os frutos produzidos pelas flores lilases continham, em média, $10,3 \pm 3,5$ sementes por vagem no grupo controle, $10,4 \pm 1,52$ na polinização cruzada, $11 \pm 2,35$ na autopolinização manual e $9,5 \pm 3,53$ na autopolinização espontânea. As vagens das flores brancas continham, em média, $10,32 \pm 3,0$ sementes no grupo controle, $10,42 \pm 2,43$ na polinização cruzada, $10,6 \pm 2,1$ na autopolinização manual e $5,6 \pm 3,4$ na autopolinização espontânea. Os valores dos testes de sistema reprodutivo se encontram na Tabela 1.

Tabela 1. Testes de polinização; proporção entre flores e frutos formados; média e desvio padrão (dp) de sementes; sucesso reprodutivo baseado no número de flores por teste e taxa de frutificação (%).

Testes	Flor lilás			Flor branca		
	Fruto/Flor	Sementes (média ± dp)	Sucesso (%)	Fruto/Flor	Sementes (média ± dp)	Sucesso (%)
Controle	27 / 71	10,3 ± 3,5	38,03	25 / 68	10,32 ± 3,0	36,76
Polinização cruzada	29 / 37	10,4 ± 1,52	78,38	26 / 33	10,42 ± 2,43	78,79
Autopolinização manual	18 / 39	11 ± 2,35	46,15	21 / 35	10,6 ± 2,1	60
Autopolinização espontânea	2 / 35	9,5 ± 3,53	5,71	6 / 36	5,6 ± 3,4	16,67

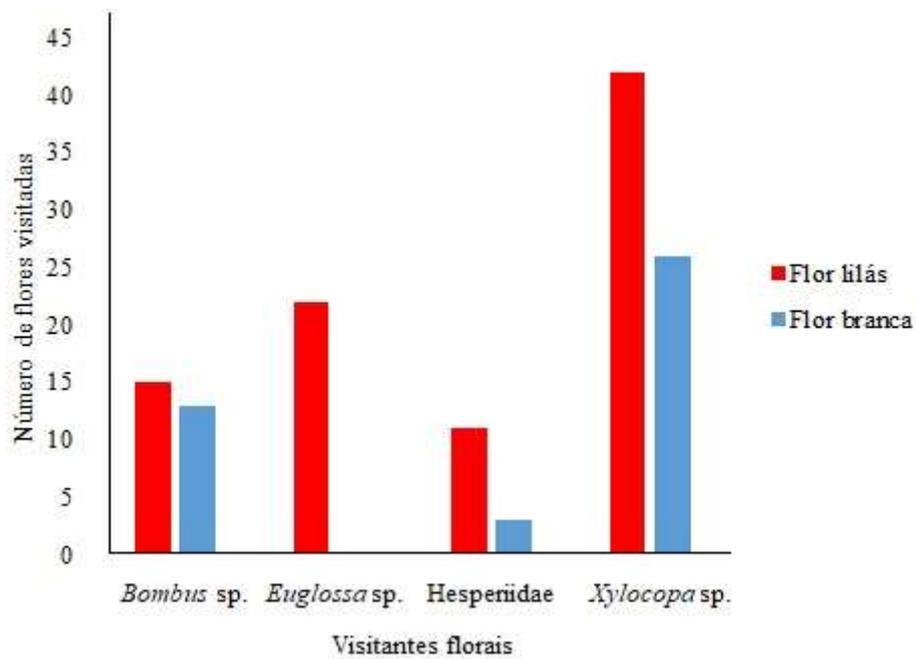


Figura 4. Número de flores lilases e brancas de *Centrosema virginianum* visitadas por cada visitante floral.

DISCUSSÃO

Embora não seja uma apresentação secundária comum, o fato do pólen sair da antera para ser depositado no pistilo é o que determina a apresentação secundária. Com o pólen no pistilo, a ativação do mecanismo da quilha faz com que o pólen seja depositado no corpo do animal e os tricomas auxiliam na captação de pólen do corpo do animal para fecundação. Essa função de “varrer” o pólen usado para reprodução já foi citada em outras espécies com apresentação secundária tipo *brush*, dando ênfase ao fato de que mais de uma visita é necessária para que a reprodução seja eficiente (e.g. LAVIN; DELGADO, 1990; LEPPIK, 1966; WESTERKAMP; WEBER, 1999).

As flores de *C. virginianum* apresentam guias de néctar compostas por linhas longitudinais que se estendem até a região apical da pétala (AZEVEDO *et al.*, 2011), e são a principal forma de atração de polinizadores (CARDOSO; MOSSANEK; ACRA, 2007), além de apresentar reflexão ultravioleta, que funciona como uma sinalização de recompensa (STORTI; BRAGA; STORTI FILHO, 2011). Uma vez que o teste de reflexão ultravioleta demonstrou diferenças na coloração das pétalas, porém sem alteração do guia de néctar, que permanecerem iguais, isso evidencia o motivo dos insetos visitarem ambas as flores, se distinção, uma vez que, para eles, elas são semelhantes.

Os grãos de pólen de *C. virginianum* são heteropolares, com protuberância em um dos polos, apresentando poros alongados na exina e alongados na intina (AZEVEDO *et al.*, 2011) sendo caracterizados por tamanho médio, formato triangular, ectoaberturas longas, endoabertura circular e exina reticulada heterobrocada (BURIL; ALVES; SANTOS, 2011). Moreti *et al.* (2006) comparou *C. virginianum* com outras espécies do gênero, constatando que esta diferia de todas as outras apenas na forma. Os resultados divergem em relação ao tamanho, uma vez que os grãos de pólen foram classificados como grandes, além de que as flores lilases e brancas apresentaram tamanhos polínicos diferentes. Outra divergência foi quanto a endoabertura, uma vez que apenas a flor lilás apresentou a endoabertura circular, que não foi observado na flor branca.

Centrosema virginianum é uma leguminosa autógama (BATTISTIN; LOVATTO, 1994) e autocompatível, mas que necessita da visita de polinizadores para realizar a autofecundação (CARDEL; KOPTUR, 2010). No presente estudou constatou-se que, mesmo a espécie sendo autocompatível, possui preferência pela reprodução sexuada, uma vez que apresentou alta formação de frutos nos testes de polinização cruzada, mas que também aceita a autofecundação, formando frutos por autopolinização manual. O baixo número de frutos formados nos testes de autopolinização espontânea evidenciam a necessidade da espécie de

um vetor para realizar a transferência de pólen de forma eficiente. Caso ocorra a fecundação, o ovário aumenta de tamanho para produzir os frutos, que amadurecem em aproximadamente duas semanas (SPEARS JR, 1987). Como é uma espécie perene, *C. virginianum* tem um grande investimento de energia na reprodução e pouco investimento em crescimento vegetativo (CLEMENTS, 1977), o que pode explicar o grande número de flores e sementes que produz. O fruto é seco, deiscente e alongado, com coloração marrom quando maduro, apresentando de dez a dezesseis sementes (AZEVEDO *et al.*, 2011).

A morfologia floral especializada de *Centrosema virginianum* indica uma polinização por himenópteros, mais especificamente as abelhas (LEPPIK, 1966). Os polinizadores capazes de ativar o mecanismo da quilha e realizar uma polinização eficiente são as abelhas dos gêneros *Xylocopa* e *Bombus* (e.g. CARDEL; KOPTUR, 2010; GARNER, 2010; SPEARS JR, 1987). Essas abelhas foram as mais frequentes e que visitam o maior número de flores, o que demonstra a grande eficiência desses polinizadores. As abelhas *Euglossa* sp. podem ser polinizadores ocasionais em flores de menor tamanho, uma vez que apenas nesses casos conseguem ativar o mecanismo da quilha. Nenhum dos visitantes florais fez distinção entre as flores lilases e brancas, visitando-as simultaneamente.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

A espécie *Centrosema virginianum* é autógama facultativa, de coloração lilás e, menos comumente, branca, que possui um eficiente sistema de deposição de pólen devido à presença de quilha e de tricomas na região do estilete (mecanismo tipo *brush*), evitando a perda de pólen e garantindo maior eficiência reprodutiva. Acerca da morfologia polínica, as flores brancas e lilases não apresentaram diferenças significativas, onde diferiram apenas na forma, uma vez que os grãos de pólen da flor lilás são suboblato e os da flor branca são subprolato. Há a presença de guias de néctar na pétala estandarte, que apresenta reflexão ultravioleta contrastante. É polinizada principalmente pelas abelhas dos gêneros *Bombus* e *Xylocopa*, que são os únicos visitantes que conseguem ativar o mecanismo da quilha de deposição nototribica de pólen. As abelhas do gênero *Euglossa* podem ser polinizadoras ocasionais dependendo do tamanho da flor. Nenhum dos visitantes florais fizeram distinção entre as flores de cor lilás e branca.

REFERÊNCIAS

- ALEMÁN, M., FIGUEROA-FLEMING, T., ETCHEVERRY, A., SÜHRING, S. The explosive pollination mechanism in Papilionoideae (Leguminosae): an analysis with three *Desmodium* species. **Plant Systematics and Evolution**, 2013.
- AMARAL, M. E. C. **Ecologia floral de dez espécies da tribo Bignoniae (Bignoniaceae), em uma floresta Semidecídua no município de Campinas, SP.** 1992. 189 f. Tese (Doutorado em Ecologia) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1992.
- AMARAL-NETO, L. P; WESTERKAMP, C; MELO, G. A. R. From keel to inverted keel flowers: functional morphology of “upside down” papilionoid flowers and the behavior of their bee visitors. **Plant Systematics and Evolution**, Viena, v. 301, p. 2161-2178, 2015.
- AZEVEDO, C. F; BRUNO, R. L. A; ALMEIDA, V. P; QUIRINO, Z. G. M; FELIX, L. P. Caracterização morfológica dos órgãos reprodutivos de duas espécies de *Centrosema* (Fabaceae). **Revista Eletrônica de Biologia**, São Paulo, v. 04, p. 42-52, 2011.
- BARBOSA, V. P. *Centrosema* (A. P. de Candolle) Benth. do Brasil – Leguminosae – Faboideae. **Rodriguésia**, Rio de Janeiro, v. 42, p. 159-209, 1977.
- BATTISTIN, A; LOVATTO, M. T. Biologia da reprodução em quatro espécies de *Centrosema* (DC.) BENTH. **Ciência Rural**, Santa Maria, v. 24, p. 307-310, 1994.
- BEZERRA, E. L. S.; MACHADO, I. C. Biologia floral e sistema de polinização de *Solanum stramonifolium* Jacq. (Solanaceae) em remanescente de Mata Atlântica, Pernambuco. **Acta Botanica Brasilica**, Brasília, v. 17, n. 2, p. 247-257, 2003.
- BURIL, M. T; ALVES, M; SANTOS, F. A. R. Tipificação polínica em Leguminosae de uma área prioritária para conservação da Caatinga: Caesalpinioideae e Papilionoideae. **Acta Botanica Brasilica** 25, 699-712, 2011.
- CARDEL, Y. J; KOPTUR, S. Effects of florivory on the pollination of flowers: an experimental field study with a perennial plant. **International Journal of Plant Sciences**, Chicago, v. 171, n. 3, p. 283-292, 2010.
- CARDOSO, F. S.; MOSSANEK, E. A. O.; ACRA, L. A. Biologia floral de *Calliandra tweediei* Benth. (Fabaceae Benth.). **Estudos de Biologia**, Curitiba, v. 29, n. 68/69, p. 283-289, 2007.
- CLEMENTS, R. J. Agronomic variation in *Centrosema virginianum* in relation to its use as a subtropical pasture plants. **Australian Journal of Experimental Agriculture and animal husbandry**, v. 17, n. 86, p. 435-444, 1977.
- CORADIN, L.; RAMOS, A. K. B. Forrageiras Fabaceae. In: **Espécies Nativas da Flora Brasileira de Valor Econômico Atual ou Potencial: Plantas para o futuro – Região Centro-Oeste.** [S.l.]: Ministério do Meio Ambiente, 2016. (Biodiversidade), cap. 5.
- COSTA, L. C. B; COSTA, C. B. N. **Biologia e ecologia da polinização: livro de campo.** Salvador: EDUFBA, 2006. 150 p.
- COSTA, R. A. C. V; MORAIS, A. B. B. Fenologia e visitantes florais de *Erythrina crista-galli* L. (Leguminosae: Faboideae) em Santa Maria, Rio Grande do Sul, Brasil. **Biotemas**, Florianópolis, v. 21, n. 2, p. 51-56, 2008.

- COSTA, V. B. S. **Micromorfologia de pétalas e sua relação com a polinização**. 2014. 83 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia) – Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 2014.
- ERDTMAN, G. **Pollen morphology and plant taxonomic – Angiosperms**. Estocolmo: Almqvist and Wiksell, 1952. 539 p.
- ERDTMAN, G. The acetolysis method: a revised description. **Svensk Botanisk Tidskrift**, v. 54, p. 561-564, 1960.
- FAEGRI, K.; VAN DER PIJL, L. **The principles of pollination ecology**. 3. ed. Londres: Pergamon Press, 1979. 256 p.
- GARCIA, P. B; PINHEIRO, M. Biologia da reprodução e da polinização de *Desmodium affine* Schldl., uma leguminosa nativa do Rio Grande do Sul, com potencial forrageiro. **Jornada de Iniciação Científica e Tecnológica**, [S.l.], v. 1, n. 7, 2017.
- GARNER, J. A. Pollinators of uncommon white flowered spurred butterfly pea (*Centrosoma virginiana*). **The American Entomological Society**, v. 121, n. 1, p. 106-107, 2010.
- GIULIETTI, A. M; HARLEY, R. M; QUEIROZ, L. P; WANDERLEY, M. G. L; BERG, C. V. D. Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil. **Megadiversidade**, Brasil, v. 01, p. 52-61, 2005.
- LAVIN, M.; DELGADO S., A. Pollen brush of Papilionoideae (Leguminosae): morphological variation and systematic utility. **American Journal of Botany**, St. Louis, v. 77, n. 10, p. 1294-1312, oct. 1990.
- LEPPIK, E. E. Floral evolution and pollination in the Leguminosae. **Annales Botanici Fennici**, v. 3, n. 3, p. 299-308, 1966.
- LWGP – Leguminosae Working Group Phylogeny. A new subfamily classification of the Leguminosae based on a taxonomically comprehensive phylogeny. **TAXON**, Bratislava, v. 66, p. 44-77, 2017.
- MANI, S. R; LAKSHMI, B. S. G1 arrest and Caspase-mediated apoptosis in HL-60 cells by dichloromethane extract of *Centrosema pubescens*. **The American Journal of Chinese Medicine**, Singapura, v. 38, n. 6, p. 1143-1159, 2010.
- MORETI, A. C. C. C; FONSECA, T. C; BARTH, O. M; RODRIGUEZ, A. P. M; HARA, A. C. B. A. M. **Plantas da família Fabaceae (Leguminosae) com aptidão forrageira e interesse apícola: aspectos botânicos e palinológicos**. Nova Odessa: [s.n.], 2006.
- OJEDA, I; FRANCISCO-ORTEGA, J; CRONK, Q. C. B. Evolution of petal epidermal micromorphology in Leguminosae and its use as a marker of petal identity. **Annals of Botany**, Oxford, v. 104, p. 1099-1110, 2009.
- OLIVEIRA, M. I. B; SIGRIST, M. R. Fenologia reprodutiva, polinização e reprodução de *Dipteryx alata* Vogel (Leguminosae-Papilionoideae) em Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, São Paulo, v. 31, n. 2, p. 195-207, 2008.
- ORSINI, D. V; AGOSTINI, G. Forma de reproducción en *Pachecoa venezuelensis* Burkart (Leguminosae-Papilionoideae). **Acta Botánica Venezuélica**, v. 15, n. 3/4, p. 157-164, 1988.
- PUNT, W., HOEN, P. P., BLACKMORE, S., NILSSON, S., THOMAS, A. L. Glossary of pollen and spore terminology. **Review of Palaeobotany and Palynology**, v. 143, p. 1-81, 2007.

- QUEIROZ, L. P.; SILVA, M. M.; RAMOS, A. K. B.; PIZARRO, E. A. Estudos reprodutivos em *Cratylia argentea* (Desv.) O. Kuntze e *Cratylia mollis* Mart. ex Benth. (Leguminosae-Papilionoideae). **Pasturas Tropicales**, Colômbia, v. 19, n. 3, 1977.
- RAMÍREZ-BAHENA, M.H.; CHAHBOUNE, R.; VELÁZQUEZ, E.; GÓMEZ-MORIANO, A.; MORA, E.; PEIX, A.; TORO, M. *Centrosema* is a promiscuous legume nodulated by several new putative species and symbiovars of *Bradyrhizobium* in various American countries. **Systematic and Applied Microbiology**, v. 36, n. 6, p. 392-400, 2013.
- ROCHA, D. I. Estudo dos caracteres florais associados à ornitofilia e quiropterofilia em espécies de *Passiflora* (Passifloraceae). 2015. 128 f. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2015.
- SOUZA, A. C. B. **Estudos genético moleculares em forrageiras tropicais**. 2010. 206 f. Tese (Doutorado em Genética e Biologia Molecular) – Universidade Estadual de Campinas, São Paulo, 2010.
- SOUZA, L. A. G. **Guia da biodiversidade de Fabaceae do Alto Rio Negro**. Manaus: [s.n.], 2012.
- SPEARS JR, E. E. Island and Mainland pollination ecology of *Centrosema virginianum* and *Opuntia stricta*. **Journal of Ecology**, Londres, v. 75, p. 351-362, 1987.
- SPERONI, G.; IZAGUIRRE, P. Características biológicas de la leguminosa nativa promisoría forrajera *Trifolium polymorphum* Poir. (Fabaceae, Faboideae). **Agrociencia**, v. 7, n. 1, p. 68-76, 2003.
- STORTI, E. F.; BRAGA, P. I. S.; STORTI FILHO, A. Biologia reprodutiva de *Cattleya eldorado*, uma espécie de Orchidaceae das campinas amazônicas. **Acta Amazonica**, Petrópolis, v. 41, n. 3, p. 361-368, 2011.
- WESTERKAMP, C., WEBER, A. Keel flowers of the Polygalaceae and Fabaceae: a functional comparison. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 129, p. 207-221, 1999.