



ISSN: 2525-815X

Journal of Environmental Analysis and Progress

Journal homepage: www.ufrpe.br/jeap
<http://dx.doi.org/10.24221/jeap.1.1.2016.993.84-95>



Biologia floral e reprodutiva de *Cenostigma macrophyllum* Tul. (Fabaceae)

Floral and reproductive biology of *Cenostigma Macrophyllum* Tul. (Fabaceae)

Bruno Ayron de Souza Aguiar^a, Elda Simone dos Santos Soares^a, Mariana Lenara de Andrade Masrua^b, Maria da Conceição Padro de Oliveira^b, Ariadna Valentina de Freitas Lopes^c, Gardene Maria de Sousa^b

^a Universidade Federal Rural de Pernambuco, Rua Manoel de Medeiros s/n, Dois Irmãos, Recife, Pernambuco, Brasil.
CEP: 52171-900. E-mail: bruno_ayron@hotmail.com.

^b Universidade Federal do Piauí, Campus Universitário Ministro Petrônio Portella, s/n, Teresina, Piauí, Brasil.

^c Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, Cidade Universitária, Recife, Pernambuco, Brasil.

ARTICLE INFO

Recebido 30 Sep 2016
Aceito 11 Oct 2016
Publicado 13 Oct 2016

ABSTRACT

Cenostigma macrophyllum Tul. is popularly known as caneleiro, has an arboreal habit, stem ridged, considered plant symbol of the capital Teresina (PI). The objective of this study was to investigate the floral and reproductive biology of *Cenostigma macrophyllum* the Zoobotanical Park of Teresina, Piauí. We selected 15 individuals and analyzed for morphology and floral morphometry, anthesis period, stigmatic receptivity, anther dehiscence, nectar volume behavior of floral visitors in the effectiveness of pollination and reproductive system. The flowers are hermaphrodite, have about 81.28 ± 25.74 flowers per racemose inflorescence. Nectar produced and stored in hypanthium with an average production of $1.75 \mu\text{L}$. The floral anthesis lasted two days, with fully distended petals at 6 AM, receptive stigma 7 AM and dehiscence-starting 9 AM, opening in groups throughout the day. The pollinators and thief began visits around 6 AM until 17 PM flowers the first day of anthesis foraging in search of nectar. The effective pollinators were bees, more frequently (64%), *Xylocopa* spp., *Apis mellifera* and *Centris* sp., which used the standard petal to access the nectar. Occasional pollinators were Lepidoptera with no touch always the reproductive parts. The thief, *Trigona spinipes* bees and hummingbird *Amazilia fimbriata* that did not touch the reproductive organs to collect nectar. The species is xenogamic and presents reproductive dichogamy and protogynic system because occurs the temporal separation of maturation of the reproductive structures. Treatment of mechanical scarification is a higher potential for a rapid seed germination.

Keywords: Pollination, anthesis, dichogamy.

RESUMO

Cenostigma macrophyllum Tul. é conhecido, popularmente, como caneleiro, possui hábito arbóreo, caule sulcado, sendo considerada planta símbolo da capital Teresina (PI). O objetivo deste trabalho foi investigar a biologia floral e Reprodutiva de *Cenostigma macrophyllum* no Parque Zoobotânico de Teresina, Piauí. Foram selecionados 15 indivíduos e analisados quanto à morfologia e morfometria floral, período de antese, receptividade estigmática, deiscência das anteras, volume de néctar, comportamento dos visitantes florais na eficácia da polinização e o sistema reprodutivo. As flores são monóclinas, dispõem-se em cerca de $81,28 \pm 25,74$ flores por inflorescência racemosa. Néctar produzido e armazenado no hipanto com produção média de $1,75 \mu\text{L}$. A antese floral teve duração de dois dias, com pétalas totalmente distendidas às 6h, estigma receptivo às 7h e deiscência iniciando às 9h,

abrindo em grupos no decorrer do dia. Os polinizadores e pilhadores iniciaram as visitas por volta das 6h até às 17h em flores do primeiro dia de antese forrageando em busca de néctar. Os polinizadores efetivos foram abelhas, com maior frequência (64%), *Xylocopa* spp., *Apis mellifera* e *Centris* sp., que utilizavam a pétala estandarte para acessar o néctar. Os polinizadores ocasionais foram lepidópteros, pois nem sempre contactavam as partes reprodutivas. Como pilhadoras, abelhas *Trigona spinipes* e o beija-flor *Amazilia fimbriata* que não tocavam os órgãos reprodutivos ao coletarem néctar. A espécie é xenogâmica e apresenta sistema reprodutivo dicogâmico protogínico, uma vez que ocorre a separação temporal de maturação dos verticilos reprodutivos. O Tratamento de esscarificação mecânica apresentou maior potencial para uma rápida germinação das sementes.

Palavras-Chave: Polinização, antese, dicogâmico.

Introdução

O gênero *Cenostigma* Tul. pertence à família Fabaceae e compreende, atualmente, as espécies *C. macrophyllum* Tul. e *C. tocatinum* Ducke, sendo considerado um gênero endêmico do Brasil (Warwick & Lewis, 2009). *Cenostigma macrophyllum* é conhecida, popularmente, como caneleiro, possui hábito arbóreo ou arbustivo, distribuída em ecossistemas de Caatinga e Cerrado, nas regiões de Minas Gerais, oeste da Bahia, leste de Goiás, Tocantins, sendo relativamente comum do centro-sul do Piauí (Queiroz, 2009). A espécie é símbolo da capital do Piauí, Teresina, através do Decreto Municipal nº 2.407, de 13 de agosto de 1993 (Soares, 2001), sendo utilizada na arborização e paisagismo da cidade (Machado, 2006). Estudos realizados com esta espécie foram mais explorados com relação às propriedades farmacológicas, tendo sido usada como espasmolítica, antiulcerogênica, anti-inflamatória, hepatoprotetora e antibacteriana (Alves et al., 2012).

Existem vários estudos compreendendo as espécies da Família Fabaceae que abordam os aspectos da biologia da polinização, estes enfatizam um elevado nível de especialização e interação existente entre o grupo taxonômico das abelhas, proporcionando uma polinização de forma eficiente e contribuindo para o sucesso reprodutivo destas espécies vegetais (Arroyo, 1981; Aguiar et al., 2003; Nascimento & Del-Claro, 2007; Leite & Machado, 2009, Borges et al., 2009, 2012; Almeida et al., 2013; Rech et al., 2014, Almeida et al., 2015; Carleial, et al. 2015). Apesar disso, para o gênero *Cenostigma* Tul. não existem trabalhos publicados quanto aos estudos propostos. Já que os estudos sobre a biologia da polinização são importantes, pois podem contribuir para o conhecimento da biodiversidade, bem como para o entendimento da evolução das interações planta-polinizador (Price, 2002; Rodart et al., 2008; Rech et al., 2014; Pyke, 2016). Além disso, o entendimento da biologia reprodutiva destas espécies vegetais é de fundamental importância para o manejo “*in situ*” da conservação, para a implantação de sistemas

agroflorestais e base para o desenvolvimento de programas de melhoramento genético (Wendt et al., 2001; Pyke, 2016).

Portanto, visando compreender as relações existentes entre planta-polinizador, bem como o sistema reprodutivo da espécie, este trabalho teve por objetivo investigar a Biologia Floral e Reprodutiva de *Cenostigma macrophyllum* Tul. no parque Zoobotânico de Teresina, Piauí.

Material e Métodos

Área de estudo

O estudo foi realizado em áreas de remanescente de floresta estacional semidecídua do Parque Zoobotânico de Teresina-PI (5°02'40.3"S; 42°46'42.5"W) no período de agosto de 2011 a agosto de 2013. A área possui 137 hectares de área verde destinada à proteção e está situada no setor nordeste do perímetro urbano da cidade de Teresina, entre o rio Poti, e a PI-112. Teresina está localizada em uma zona de transição entre o Nordeste e a Amazônia (Meio-Norte), cercada pela mata de cocais, cerrados e cerradões. De acordo com a classificação climática de Köppen, a precipitação média anual da cidade é de 1.339 mm. Nos meses de janeiro a maio concentra-se cerca de 60% do volume das chuvas. O Parque apresenta alguns elementos com gêneros amazônicos de distribuição brasileira, além de espécies das formações vegetacionais contíguas ou próximas como espécies do cerrado, da caatinga, além de espécies próprias do ecossistema (Teresina, 2005).

Biologia floral e sistema de polinização

Foram selecionados 15 indivíduos, aleatoriamente, na área preservada do Parque Zoobotânico de Teresina (PI) para as coletadas de flores e botões em pré-antese. O material foi fixado em álcool 70%, para análise morfológica em laboratório. Através do auxílio de um estereomicroscópio e paquímetro digital foi realizada a morfometria dos verticilos florais vegetativos e reprodutivos.

Os grãos de pólen por flor foram estimados a partir da contagem do número total de grãos de pólen de uma antera, sendo este procedimento repetido para 30 botões em pré-antese com concomitante verificação da viabilidade polínica utilizando carmim acético a 2% (Radford, 1974). O número de óvulos desses mesmos botões foram contabilizados para obter a razão pólen/óvulo (Cruden, 1977).

Em campo foram selecionadas 15 flores e botões para acompanhamento da duração e sequência de antese, registrando o horário de abertura e senescência das flores. A receptividade do estigma foi analisada mergulhando pistilos de dez flores previamente ensacadas em solução 0,25% de permanganato de potássio ($KMnO_4$), observando a ocorrência de coloração da área estigmática, procedimento este realizado a cada 2 horas (Dafni & Maués, 1998).

Para delimitar as áreas de emissão de odor e nectários, foram utilizadas 10 flores previamente ensacadas e mergulhadas em solução de vermelho neutro a 1%, sendo verificadas as partes coradas (Dafni, 2005; Vogel, 1990; Kearns & Ynonye, 1993). Foram feitas medições do volume do néctar com auxílio de microsseringas de 10 μ l a cada duas horas no período de antese (Microliter[®] Hamilton) (Inouye et al., 1980). A presença de pigmentos que absorvem os raios ultravioletas foi observada a partir de testes em hidróxido de amônio (Scogin et al., 1977).

Os visitantes florais foram analisados e registrados conforme a frequência total e comportamento das visitas, sendo classificados como polinizador efetivo, ocasional e pilhador, selecionando 10 inflorescências aleatoriamente e ensacando-as previamente para observações diretas (Kearns & Inouye, 1993). Alguns espécimes, dos visitantes florais, foram coletados com rede entomológica para registro do estudo (espécies-testemunho) e identificação por especialistas.

Sistema reprodutivo

Para determinar a estratégia reprodutiva da espécie, realizaram-se experimentos a partir de polinização controlada, onde 30 botões em pré-antese de espécimes diferentes foram previamente ensacados (TNT) para verificar a formação de frutos através de autopolinização manual e 30 flores para polinização cruzada manual. Realizou-se a avaliação da eficiência de polinização natural (controle), marcando-se 30 flores que ficaram expostas, sendo verificado o número de frutos formados (Radford et al., 1974). Da amostra de 30 flores na polinização natural, foi estimado a razão fruto/flor (Fr/FI). A razão semente/óvulo (S/O) foi

estimada através da contagem do número de óvulos de 30 flores em relação ao número de sementes produzidas por flores. A partir do produto das razões Fr/FI e S/O foi estimado o sucesso reprodutivo pré-emergente (PERS), que consiste no produto de ambas as razões (Wiens et al., 1987).

Foi calculado o “Índice de autoincompatibilidade” (Bullock, 1985), dado pela divisão do percentual de frutificações provenientes de autopolinizações pelo percentual de frutificações oriundas de polinizações cruzadas. Foi calculada a eficácia reprodutiva, sendo a razão entre o percentual de frutos formados por polinização aberta (controle) e o dos frutos formados por polinização cruzada manual (Zapata & Arroyo, 1978). A amplitude deste índice pode variar de 0 a 1, demonstrando que a proximidade do resultado desta razão ao valor máximo representa a uma alta eficácia reprodutiva da espécie em estudo. Este índice foi dividido em 3 categorias (<3 - baixa eficácia reprodutiva; >3<6 - média eficácia reprodutiva; >6 - alta eficácia reprodutiva).

Foram realizados testes de germinação adotando-se a temperatura alternada de 20-30°C e luz contínua. Uma amostra de 1000 sementes de *Cenostigma macrophyllum* Tul. foi coletada em área nativa do Parque Zoobotânico de Teresina (PI), depois homogeneizadas e separadas. Destas, foram selecionadas, aleatoriamente, 400 semente, sendo 100 sementes para cada tratamento, através de cinco repetições de 20 sementes. Estas foram distribuídas em caixa Gebox forrada com uma camada de papel filtro e algodão umedecido com água destilada. Os seguintes tratamentos pré-germinativos foram utilizados: escarificação química (H_2SO_4) a 2% (T1); escarificação mecânica com lixa nº 60 (T2); imersão das sementes por 24 horas em água destilada (T3) e grupo controle (T4). O dados foram coletadas a cada dois dias, sendo analisados a Porcentagem de Germinação (PG), o índice de velocidade de germinação (IVG).

Foi realizada estatística descritiva para os dados de biologia floral. Para germinação, foi constatado as diferenças entre os tratamentos pela ANOVA, com Tukey ao nível de 5% de probabilidade e ranqueamento de médias, utilizando BioEstat 5.3.

Resultados

Biologia floral e sistema de polinização

Cenostigma macrophyllum apresenta flores monóclinas dispostas em inflorescências racemosas com cerca de $81,28 \pm 25,74$ flores por inflorescência (amplitude 46-115), um número

considerado variável. A oferta de flores por dia foi em média de $4,0 \pm 1,63$. As sépalas são marrons, oblongas, desiguais, as superiores possuem cerca de $5,25 \pm 0,89$ mm, as laterais de $7,18 \pm 0,89$ mm, uma inferior de $9,03 \pm 0,78$ mm, todas constituídas por uma densa camada de tricomas simples estrelados de coloração marrom. As pétalas são zigomorfas, pentâmeras, amarelas, as superiores são aproximadamente de $10,68 \pm 0,57$ mm, as inferiores de $12,19 \pm 1,30$ mm e pétala vexilar ou estandarte, ereta, com máculas avermelhadas de $9,50 \pm 0,27$ mm (Figura 2.a; Tabela 1). Androceu com 10 estames, filetes heterodínamos ($9,87 \pm 1,02$

mm) com anteras de abertura rimosa ou longitudinal nas duas tecas ($2,01 \pm 0,23$ mm). O gineceu mede $11,86 \pm 0,22$ mm, possui pêlos glandulares ao longo do comprimento total, ginóforo curto, estigma do tipo crateriforme contorneado por uma franja de tricomas. O hipanto mede, aproximadamente, $1,53 \pm 0,15$ mm (Figura 2c; Tabela 1). Ovário súpero, unilocular, possui em média de 3 a 4 óvulos e apresenta placentação parietal. A razão pólen/óvulo foi de $3.378,56 \pm 415,67$ e a viabilidade polínica foi de 98,80% (Figura 2d,4,5).

Tabela 1. Média e medidas de variabilidade dos verticilos florais de *Cenostigma macrophyllum* do Parque Zoológico de Teresina (PI). (N= quantidade de estruturas presentes na flor; X= média; Av= amplitude de variação; DP= desvio padrão; CV= coeficiente de variação). (Aguiar et al., 2016).

Verticilos Florais	N (unid.)	X (mm)	AV (mm)	DP (mm)	CV (%)
Sépala inferior	1	9,03	1,57	0,78	8,63
Sépalas laterais	2	7,18	1,50	0,72	10,08
Sépalas superiores	2	5,25	1,62	0,89	16,95
Pétalas inferiores	2	12,19	3,53	1,30	10,66
Pétalas superiores	2	10,68	1,22	0,57	5,33
Pétala vexilar	1	9,50	0,53	0,27	2,84
Estames (filete)	10	9,87	1,67	1,02	10,33
Estames (antera)	10	2,01	0,28	0,23	11,44
Pistilo	1	11,86	0,43	0,22	1,85
Hipanto	1	1,53	0,34	0,15	9,80

As flores iniciam o processo de abertura por volta das 18h no dia anterior à antese propriamente dita, expondo parte das pétalas, porém, aproximadamente às 4h entram em processo acelerado de abertura e por fim completa-se por volta das 6h. A antese floral teve início às 6h com duração de dois dias. As flores não fecundadas ao final do terceiro dia entram em processo de senescência entre 17h e 18h. O estigma se torna receptivo a partir das 7h, com duração de dois dias, no entanto parte das anteras se tornam deiscidas às 9h. Foi verificado que grupos de duas ou três anteras abrem-se gradativamente no decorrer do dia, sendo que a deiscência se torna completa às 12h ou, em algumas flores, somente ao final da tarde. O nectário e glândulas de emissão de odor foram localizada no hipanto, onde o néctar é produzido e armazenado, esta região emite um forte odor adocicado (Figura 2c). A média do volume de néctar produzido no primeiro dia de antese foi de $1,75 \mu\text{L}$, havendo produção no segundo dia de $1,9 \mu\text{L}$, com pico de produção às 14h de $3,6 \mu\text{L}$. Testes com hidróxido de amônio constatou a ocorrência de guias de néctar, nas anteras e na pétala estandarte.

No processo de abertura, as flores distendem a pétala estandarte (Figura 2b2) e expõem o único acesso ao néctar, tornando-se disponível aos visitantes florais. Contudo, por volta das 18h retêm-se cobrindo parte dos verticilos reprodutivos. No segundo dia foi verificada a presença de néctar, porém sem acesso, pois o estandarte não retorna a distender (Figura 2b1). O estigma ainda se encontra receptivo até o final do dia e as anteras entram em processo de senescência, com poucos grãos de pólen.

Os polinizadores e pilhadores iniciaram as visitas por volta das 5h, antes mesmo do término da abertura floral e continuaram até às 17h, apenas em flores do primeiro dia de antese. Foram feitas observações noturnas, no horário de 19h as 23h, entretanto, não houve presença de visitantes florais.

De acordo com os testes de hidróxido de amônio as flores apresentavam guias de néctar na pétala estandarte e mecanismos de atração de polinizadores também nas anteras. Como no segundo dia de antese o estandarte se encontrava retido e anteras com aspectos envelhecidos (senescentes), não foram contabilizadas visitas significativas, visto que não havia acesso ao

néctar, recurso floral disponibilizado aos polinizadores. Foi constatado que todos os visitantes florais forrageavam somente em busca de néctar, não sendo constatada diretamente a coleta de pólen. Apenas coletas devidas ao contato do corpo do polinizador com as anteras.

Foram caracterizados como polinizadores efetivos abelhas de grande e médio porte, sendo com mais frequência *Xylocopa frontalis* Olivier (1789) (Figura 2e), *X. grisescens* Lepeletie (1841), *Apis mellifera* Linnaeus (1758) (Figura 2g) e *Centris* sp. (Tabela 2). A maioria das abelhas apresentavam uma elevada frequência (64%) de visitas às flores de *C. macrophyllum* Tul. e tinham um comportamento singular, onde as mesmas utilizavam a pétala estandarte como

“alavanca”, empurrando-a com a cabeça para cima, podendo desta forma inserir a probóscide no hipanto e acessar o néctar. Quando forrageavam as flores, em busca de néctar, tocavam nas anteras com as pernas e o abdômen, carregando o pólen, dado este observado pela deposição de pólen que havia no corpo dos visitantes coletados. Existe no estigma uma franja de tricomas que provavelmente possui importante função na remoção de pólen do corpo do polinizador. Deste modo, após terem realizado visitas, os polinizadores carregados de pólen no abdômen ou nas pernas, tocavam nestes tricomas da região estigmática, que direcionava o pólen para entrada do estigma.

Tabela 2. Visitantes florais e comportamento de visita à flores de *Cenostigma macrophyllum* Tul. no Parque Zoológico de Teresina (PI). (+ = contato; - = sem contato; PE = Polinizador Efetivo; PO = Polinizador Ocasional; PI = Pilhador). (Aguiar et al., 2016).

Grupo	Família	Espécie	Comportamento da Coleta	Contato com estigma	Resultado da visita
Himenópteros	Apidae	<i>Apis mellifera</i> L. (1758),	néctar	+	PE
		<i>Centris</i> sp.	néctar	+	PE
		<i>Trigona spinipes</i> Fab.(1793)	néctar	+	PO/PI
	Anthophoridae	<i>Xylocopa frontalis</i> Olivier (1789),	néctar	+	PE
		<i>Xylocopa grisescens</i> (1841)	néctar	+	PE
Lepidópteros	Hesperiidae	<i>Panoquina</i> sp.,	néctar	+	PO
		<i>Lycorea</i> sp.	néctar	+	PO
	Sphingidae	<i>Aellopos Titan</i> Cramer (1777)	néctar	-	PI
Beija-flor	Throchilidae	<i>Amazilia fimbriata</i> Gmelin (1788)	néctar	-	PI

Foram considerados polinizadores ocasionais espécies de lepidópteros, principalmente borboletas *Panoquina* sp., *Lycorea* sp. (Figura 2f; Tabela 2) e espécies de Vespidea, por apresentarem comportamento adequado à polinização, porém com baixa frequência, ou seja, tocavam os verticilos reprodutivos apenas em algumas visitas. Como pilhadoras de néctar, abelhas *Trigona spinipes* Fabricius (1793) (Figura 2h; Tabela 2), que perfuravam as flores na base do receptáculo, região que se conecta a câmara nectarífera das flores (Hipanto), esfingídeo *Aellopus titan* Cramer (1777), e uma espécie de beija-flor *Amazilia fimbriata* Gmelin (1788), uma

vez que não tocavam nos órgãos reprodutivos após coletarem néctar (Tabela 2).

Sistema reprodutivo

Das 30 flores que foram selecionadas e submetidas aos testes de polizações cruzadas, apenas 18 (60%) frutificaram. Na polinização espontânea ou natural (grupo controle), 30 flores foram deixadas expostas aos visitantes florais, porém, apenas 11 (36,6%) frutificaram, um número consideravelmente baixo, em relação à quantidade de flores produzidas por inflorescência, que são, aproximadamente, 81,28±25,74.

Verificou-se que nas autopolinizações manuais e espontânea não houve formação de frutos (0%), desta forma, a espécie em estudo é, predominantemente, por reprodução cruzada (xenogâmica) e autoincompatível ($ISI = 0$), necessitando de um vetor para coleta e transferência do pólen (Tabela 1). Verificaram-se baixas razões fruto/flor (0,13), uma vez que, uma quantidade significativa de flores são produzidas por inflorescência e poucos frutos são formados, porém a razão semente/óvulo mostrou-se alta (amplitude de 0,75 a 1,0), mostrando que quase 100% dos óvulos (3-4) são fecundados, para a mesma proporção de semente (3-4) formada. Entre os 30 frutos coletados aleatoriamente não havia óvulos abortados e todos apresentavam a quantidade de sementes morfologicamente viáveis em todos os espaços dos lóculos do legume. O índice de eficácia reprodutiva da espécie foi alto (0,61) e o sucesso reprodutivo pré-emergente foi de 0,13.

A análise estatística mostrou que houve diferença entre tratamentos pre-germinativos ($F=3,6537$; $p=0,0347$), entretanto o teste a posteriori constatou que apenas T2 e T3 são diferentes entre si ($Q=4,4825$; $p<0,05$). No teste de ranqueamento entre médias chegou a conclusão que, T2 teve um maior potencial, o T4 e T1 foram moderadas e o T3 teve um potencial baixo. As germinações iniciaram a partir do segundo dia após a semeadura com duração de 25 dias. As sementes submetidas ao T2 apresentaram um PG de 86% com IVG de 15,55, em seguida o T1 com PG de 82% e IVG de 11,90, as sementes acondicionadas em T3 tiveram um percentual menor que as demais de 66% com IVG de 7,87, por fim, T4 com PG de 80% e IVG de 11,77. Foi constatado que no quinto dia após o início das germinações, pico de maior atividade entre os tratamentos, 45% das sementes germinaram no T2, 38% no T1, sendo apenas 19% para T4 e 14% para T3, grupo este que apresentou germinações bastante tardias (Figura 1).

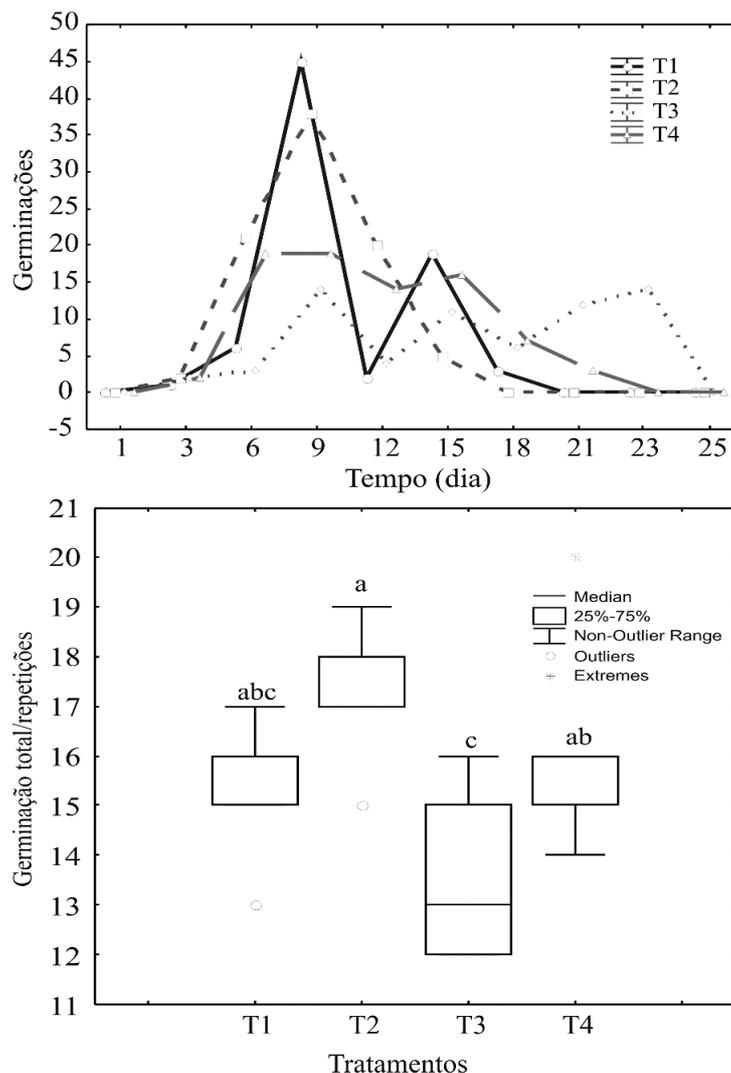


Figura 1. Diferenças no quantitativo total e diário germinativo de sementes de *Cenostigma macrophyllum* entre os seguintes tratamentos: Escarificação química- H_2SO_4 (T1) e mecânica (T2); Imersão em H_2O por 24h (T3) e controle (T4) (Aguiar et al., 2016).

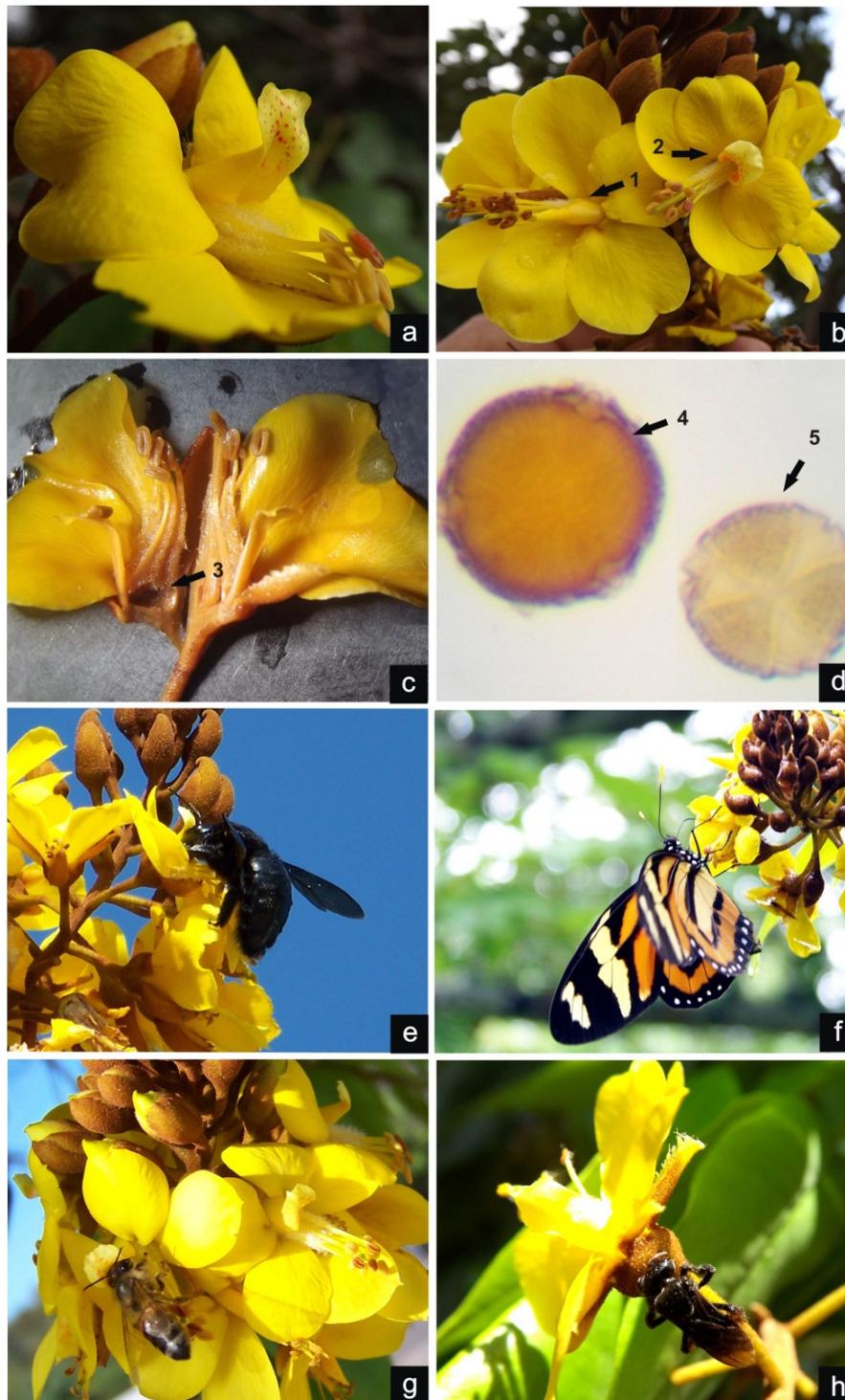


Figura 2. Aspectos da biologia floral e reprodutiva de *Cenostigma macrophyllum* Tul.: a. Detalhes da morfologia floral; b.1. Flor no segundo dia de antese com estandarte retido; b.2. Flor no primeiro dia de antese com estandarte distendido; c.3. Secção longitudinal e seta evidenciando o hipanto; d.4. Grão de pólen viável após métodos de coloração do citoplasma; d.5. Grão de pólen inviável; e. Polinizador *Xylocopa frontalis* Olivier (1789); f. *Lycorea* sp. visitando as flores em busca de néctar; g. Polinizador *Apis mellifera* Linnaeus (1758); h. Pilhador *Trigona spinipes* Fabricius (1793) perfurando a base do receptáculo floral em busca de néctar (Aguiar et al., 2016).

Discussão

Biologia floral e sistema de polinização

Cenostigma macrophyllum foi classificada como melitófila, mesmo não apresentando características florais especializadas e visitantes florais se restringindo a um grupo de

polinizadores (Faegri & Pijl, 1985; Endress, 1994; Fenster et al., 2004; Rech et al., 2014). Entretanto, a espécie tinha apenas o grupo taxonômico das abelhas que apresentam comportamentos eficientes na polinização, classificados como polinizadores efetivos.

Na literatura, espécies de vegetais da família Fabaceae, que apresentam flores grandes e vistosas, assim como o *C. macrophyllum*, são visitadas quase exclusivamente por abelhas solitárias e sociais dos gêneros *Xylocopa*, *Apis*, *Centris* e *Bombus* que atuam como polinizadores efetivos e tem um papel importante no sucesso reprodutivo destas plantas. Especificamente, os estudos com *Libidibia ferrea* Mart., *Caesalpinia echinata* Lam., *Caesalpinia microphylla* Mart., *Caesalpinia pyramidalis* Tul., *Centrosema* spp., *Canavalia* spp., *Vigna* spp. e *Aeschynomene* spp. demonstram que as mesmas possuem um sistema especialista ou recebem significativas visitas, principalmente de *Xylocopa* sp. (Van Der Pijl, 1954; Arroyo, 1981; Gottsberger & Silberbauer-Gottsberger, 1988; Aguiar et al., 2003; Leite & Machado, 2009; Borges et al., 2009; Borges et al., 2012; Raju et al., 2016). Em adição, estudos com espécies da subtribo Cassiinae no cerrado, que apresentavam barreiras morfológicas para autopolinização, necessitavam de um grupo de abelhas para realizar a polinização de forma eficiente, sendo estas distribuídas nos gêneros *Xylocopa*, *Centris* e *Bombus* (Nascimento & Del-Claro, 2007; Almeida et al., 2013; Almeida et al., 2015). De um modo geral, estes insetos são considerados os polinizadores mais frequentes e eficientes em quase todos os ecossistemas onde ocorrem as Angiospermas, devido a sua alta capacidade na transposição do pólen (Bawa et al., 1985, Rech et al., 2014).

As abelhas *Xylocopa frontalis* Olivier (1789), *X. grisescens* Lepeletie (1841), *Apis mellifera* Linnaeus (1758) e *Centris* sp. foram os polinizadores mais eficientes, tanto pelo seu número de visitas, quanto por sua adaptação às complexas estruturas florais. Dentre as abelhas, as *Xylocopas* se destacavam pela frequência e por serem generalistas, ou seja, visitam grande número de espécies vegetais concentrando-se, porém, em alguns recursos mais produtivos, como é o caso do néctar. Em adição, estas espécies não costumam visitar uma mesma flor imediatamente após uma visita prévia, tornando-se assim eficazes agentes polinizadores, característica esta, associada à marcação das flores por feromônios (Frankie & Vinson, 1977).

Foi constatado baixo volume de néctar em flores da espécie, isto pode gerar influências no fluxo dos visitantes florais em outros indivíduos da população em busca do recurso que é escasso, para suprimento de suas necessidades alimentares, proporcionando também um fluxo polínico entre os espécimes vegetais (Waddington, 1983). Este comportamento dos visitantes florais descrito e baixos níveis no volume de néctar foram aferidos

em espécies de Fabaceae, como *Caesalpinia pyramidalis* (Tul.) ($1,36 \mu\text{L}\cdot\text{dia}^{-1}$) (Leite & Machado, 2009), *Caesalpinia echinata* Lam. ($2,9 \pm 1,0 \mu\text{L}$) (Borges et al., 2009), *Vatairea macrocarpa* (Benth.) Ducke ($0,2 \mu\text{L} - 2,2 \mu\text{L}$) (Costa, 2014) e *Caesalpinia crista* L. ($2,0 \mu\text{L}\cdot\text{dia}^{-1}$) (Shi-Jin et al., 2004), evidenciando a relação de pouco volume de néctar produzido e a alta frequência de visitas as flores.

Algumas espécies da Família Fabaceae possui no estigma uma franja de tricomas que segundo Lewis & Gibbs (1999) possuem importante função na remoção de pólen do corpo do polinizador, uma vez que, após terem realizado visitas, os polinizadores carregados de pólen no abdômen ou nas pernas, tocavam nestes tricomas da região estigmática, que direcionava o pólen para entrada do estigma. Esta adaptação morfológica foi constatada em *C. macrophyllum* e descrita também em *Caesalpinia pyramidalis* Tul. (Leite & Machado, 2009), e para os gêneros *Senna* e *Chamaecrista* (Owens, 1986).

Sistema reprodutivo

De acordo com a classificação de Radford (1974), a viabilidade polínica foi consideravelmente alta. Seguindo a classificação de Cruden (1977), a razão pólen/óvulo constatada também é alta, classificada como uma espécie xenogâmica. Da mesma forma, verificou-se que nas autopolinizações manual e espontânea, não ocorreu a formação de frutos (0%), inferindo que a espécie é auto-incompatível, necessitando, obrigatoriamente, de um vetor para a coleta e a transferência do pólen.

Corroborando os dados apresentados, a literatura informa que 152 espécies (33,7%) da família Leguminosae, considerando o sistema reprodutivo, apresentavam autoincompatibilidade (Arroyo, 1981; Kill & Drumond, 2001; Freitas & Oliveira, 2002; Costa et al., 2003). Outro estudo de revisão realizado na Caatinga mostra que altos níveis de incompatibilidade parecem predominar em espécies da Caatinga independentes de afinidades taxonômicas, tornando os serviços de polinização cruzada de grande importância para este ecossistema (Machado et al., 2006). Um exemplo de autoincompatibilidade foi estudado em *C. Pyramidalis* por Leite & Machado (2009), em *Caesalpinia echinata* Lam. por Borges et al. (2009), em *Libidibia ferrea* por Borges et al. (2012) e em *Vatairea macrocarpa* (Benth.) por Costa (2014), os quais afirmam que na polinização cruzada manual e natural, a formação de frutos foi baixa em relação à quantidade de flores produzidas, porém a média da produção de

sementes está próxima à quantidade de óvulos produzidos.

Em espécies xenogâmicas de Faboideae é comum ocorrer baixa produção de frutos nas polinizações naturais, isto pode estar associado ao aborto seletivo de óvulos e sementes (Oliveira & Sigrist, 2008). Assim, como ocorre em *C. macrophyllum*, quase 100% dos óvulos (3-4) são fecundados, apresentando a mesma proporção na produção de sementes (3-4) formadas. Todavia, se compararmos o investimento do vegetal na quantidade de flores produzidas por inflorescência há uma baixa produção de frutos. O alto índice de eficácia reprodutiva da espécie demonstra que os frutos formados pela polinização natural são resultantes de serviços eficientes de polinização, provavelmente proporcionado pela alta frequência de visitas às flores desta espécie. Porém, em contraposição a esta constatação, espécies de Fabaceae costumam apresentar reduzida eficácia reprodutiva, devido à ineficiência dos serviços de polinizações (Sigrist et al., 2008; Barros et al., 2013).

A espécie em estudo apresenta um sistema reprodutivo dicogâmico protogínico, uma vez que, ocorre uma separação temporal na maturação do estigma e da antera. Esta característica está associada a espécies que apresentam autoincompatibilidade, pois estes mecanismos de separação temporal de maturação dos verticilos reprodutivos impedem a autofertilização (Lloyd, 1986).

Existe uma tendência nos processos germinativos de arbóreas da família Fabaceae de florestas secas, onde as mesmas apresentam dormência completa ou parcial, podendo ser superada pelas condições proporcionada pela escarificação mecânica. (Dutra, et al, 2007; Bezerra et al., 2012; Coelho et al, 2014; Arruda et al., 2015). Todavia, não foi constatada em *Cenostigma macrophyllum* a presença de dormência, evidenciado pelas altas taxas germinativas no tratamento controle. Porém, a germinação da espécie foi potencialmente acelerada pela escarificação mecânica, com maior percentual de germinação (PG) e maior média de germinação diária (IVG), sendo uma das técnicas mais eficientes para romper parte do tegumento e promover a germinação, por facilitar a entrada de recursos (Corte et al., 2006). Outro fator que evidencia a falta desta barreira física é o fato de que a dispersão de suas sementes ocorrem na estação seca, finalizando no início das chuvas (Aguilar et al., 2012), podendo ser um indicativo de uma rápida germinação pela maior disponibilidade de água presente no solo,

funcionando como uma estratégia de sobrevivência da espécie.

Conclusão

A espécie em estudo apresentou polinização predominante xenogâmica, sistema reprodutivo dicogâmico e protogínico. Apesar da espécie não sinalizar dormência, o tratamento mais adequado para potencializar e acelerar a germinação foi a escarificação mecânica. De acordo com as avaliações do sistema de polinização, a espécie é melitófila, pois apresentou as abelhas como polinizador efetivo, que estiveram presentes em todo o período de floração, com uma frequência significativa de visita às flores e com comportamento adequado à polinização da espécie. Dentre as abelhas, as *Xylocopa* spp. se destacaram pela frequência e por serem generalistas, mostrando-se eficazes como agentes polinizadores.

Agradecimentos

Agradecemos ao Parque Zoobotânico de Teresina/PI por ter cedido o local e apoiada referida pesquisa. À Universidade Federal do Piauí pela bolsa de pesquisa (PIBIC/UFPI). Ao laboratório de Morfotaxonomia Vegetal (UFPI) e ao Laboratório de Biologia Floral e Reprodutiva (POLINIZAR/UFPE) pelo apoio ao projeto.

Referências

- AGUIAR, B. A. S.; SOUSA, G. M.; LOPES, A. V. 2012. Biologia floral, fenologia reprodutiva e sistema de polinização de *Cenostigma macrophyllum* Tul. (Leguminosae) no Parque Zoobotânico de Teresina-PI. Anais XXI Seminário de Iniciação Científica, Teresina, Piauí, Brasil.
- AGUIAR, C.M.L.; ZANELLA, F.C.V.; MARTINS, C.F.; CARVALHO, C.A.L. 2003. Plantas visitadas por *Centris* spp. (Hymenoptera: Apidae) na caatinga para obtenção de recursos florais. Neotropical Entomology, v.32, p.247-259.
- ALMEIDA, N. M.; BEZERRA, T. T.; OLIVEIRA, C. R. S.; NOVO, R. R.; SIQUEIRA-FILHO, J. A.; OLIVEIRA, P. E.; CASTRO, C. C. 2015. Breeding systems of enantiostylous Cassiinae species (Fabaceae, Caesalpinioideae). Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants, v.215, p.9-15.
- ALMEIDA, N. M.; CASTRO, C. C.; LEITE, A. V. L.; NOVO, R. R.; MACHADO, I. C. 2013. Enantiostyly in *Chamaecrista ramosa* (Fabaceae-Caesalpinioideae): floral morphology, pollen

transfer dynamics and breeding system. *Plant Biology*, v.15, n.2, p.369-375.

ALVES, C. Q.; DAVID, J. M.; DAVID, J. P.; VILLAREAL, C. F.; SOARES, M. B. P.; Queiroz, L.P.; Aguiar, R. M. 2012. Flavonoids and other bioactive phenolics isolated from *Cenostigma macrophyllum* (Leguminosae). *Química Nova*, v.35, n.6, p.1137-1140.

ARROYO, M. T. K. 1981. Breeding systems and pollination biology in Leguminosae. In: POLHIL, R.M.; RAVEN, P.H. *Advances in legume systematics*. Kew: Royal Botanic Gardens, v.2, p.723-769.

ARRUDA, D. M.; BRANDÃO, D. O.; VELOSO, M. D. D. M.; NUNES, Y. R. F. 2015. Germinação de sementes de três espécies de Fabaceae típicas de floresta estacional decidual. *Pesq. Flor. Bras.*, v.35, n.82, p.135-142.

BARROS, E. C. O.; WEBBER, A. C.; MACHADO, I. C. 2013. Limitação de polinizadores e mecanismo de autoincompatibilidade de ação tardia como causas da baixa formação de frutos em duas espécies simpátricas de *Inga* (Fabaceae–Mimosoideae) na Amazônia Central. *Rodriguésia-Instituto de Pesquisas Jardim Botânico do Rio de Janeiro*, v.64, n.1, p.37-47.

BAWA, K. S.; BULLOCK, S. H.; PERRY, D. R.; CVILLE, R. E.; GRAYUM, M. H. 1985. Reproductive biology lowland rain Forest trees. II. Pollinations mechanism. *American Journal of Botany*, v.72, p.346-356.

BEZERRA, F. T. C.; ANDRADE, L. A.; BEZERRA, M. A. F.; PEREIRA, W. E.; FABRICANTE, J. R.; DE OLIVEIRA, L. S. B.; FEITOSA, R. C. 2012. Biometria de frutos e sementes e tratamentos pré-germinativos em *Cassia grandis* L. f. (Fabaceae). *Semina: Ciências Agrárias*, v.33, n.6, Supl.1, p.2863-2876.

BORGES, L. A.; SOBRINHO, M. S.; LOPES, A. V. 2009. Phenology, pollination, and breeding system of the threatened tree *Caesalpinia echinata* Lam. (Fabaceae), and a review of studies on the reproductive biology in the genus. *Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, v.204, n.2, p.111-130.

BORGES, L. A.; SOUZA, L. G. R.; GUERRA, M.; MACHADO, I. C.; LEWIS, G. P.; LOPES, A.

V. 2012. Reproductive isolation between diploid and tetraploid cytotypes of *Libidibia ferrea* (= *Caesalpinia ferrea*) (Leguminosae): ecological and taxonomic implications. *Plant Systematics and Evolution*, v.298, n.7, p.1371-1381.

BULLOCK, SH. 1985. Sistemas de criação na flora de uma floresta tropical decídua no México. *Biotropica*, v.17, p.287-301.

CARLEIAL, S.; DELGADO-SALINAS, A.; DOMÍNGUEZ, C. A.; TERRAZAS, T. 2015. Reflexed flowers in *Aeschynomene amorphoides* (Fabaceae: Faboideae): a mechanism promoting pollination specialization?. *Botanical Journal of the Linnean Society*, v.177, n.4, p.657-666.

COELHO, M. D. F. B.; SOUZA, J. W. N.; KÉSYA, A.; LIMA, B. 2014. Overcoming seed dormancy of *Albizia lebbek* (L.) Benth. *Journal of Global Biosciences*, v.3, n.2, p.488-493.

COSTA, F. O.; LIMA, D. C. R.; SILVA, L. G. 2014. Biologia reprodutiva de *Vatairea macrocarpa* (Benth.) Ducke (Fabaceae-Faboideae) em uma área de Cerrado no município de Chapadinha, MA, Brasil. *Brasília. Heringeriana*, v.8, p.1-19.

COSTA, R. B., CONTINI, A. Z.; MELO, E. S. P. 2003. Sistema reprodutivo de *Anadenanthera peregrina* (L.) Speg. e *Vochysia haenkiana* (Spreng.) Mart. em fragmento de cerrado na Chapada dos Guimarães – MT. *Ciência Rural*, v.33, p.305-310.

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

DAFNI, A., KEVAN, P. G.; HUSBAND, B. C. 2005. *Practical pollination biology*. Cambridge University Press, Cambridge, 590 p.

DAFNI, A.; MAUÉS, M. M. A. 1998. Rapid and simple procedure to determine stigma receptivity. *Sexual Plant Reproduction*, v.11, p.117-180.

DUTRA, A. S.; MEDEIROS FILHO, S.; DINIZ, F. O. 2007. Dormancy, substratum and temperature for germination of *Albizia lebbek* (L.) seeds. *Revista Ciência Agrônômica*, v.38, n.3, p.291, 2007.

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

- FAEGRI, K.; VAN DER PIJL, L. 2013. Principles of pollination ecology. Elsevier.
- FENNER, M. 1985. Seed ecology. Chapman and Hall, New York, USA, 151p.
- FENSTER, C. B.; ARMBRUSTER, W. S.; WILSON, P.; DUDASH, M. R.; THOMSON, J. D. 2004. Pollination syndromes and floral specialization. Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics, v.35, p.375-403.
- FRANKIE, G. W.; VINSON, S. B. 1977. Scent marking of passion flowers in Texas by females of *Xylocopa virginica texana* (Hymenoptera: Anthophoridae). J. Kans. Ent. Soc., v.50, p.613-625.
- GOTTSBERGER, G.; SILBERBAUER-GOTTSBERGER, I. 1988. Evolution of flower structures and pollination in Neotropical Cassiinae (Caesalpinaceae) species. Phytion, Horn, v.28, p.293-320.
- INOUE, D. W.; FAVRE, N. D.; LANUN, J. A.; LEVINE, D. M.; MEYERS, J. B.; ROBERTS, M. S.; TSAO, F. C.; WANG, Y. Y. 1980. The effect of non-sugar nectar constituents on estimates of nectar energy content. Ecology, v.61, p.992-995.
- KEARNS, C. A.; INOUE, D. W. 1993. Techniques for pollination biologists. University Press of Colorado, Niwot.
- KIILL, L. H. P.; DRUMOND, M. A. 2001. Biologia floral e sistema reprodutivo de *Gliricidia sepium* (Jacq.) Steud. (Fabaceae-Papilionoideae) na Região de Petrolina, Pernambuco. Ciência Rural, v.31, n.4, p.597-601.
- LEITE, A. V.; MACHADO, I. C. 2009. Biologia reprodutiva da “catingueira” (*Caesalpinia pyramidalis* Tul., Leguminosae-Caesalpinioideae), uma espécie endêmica da Caatinga. Revista Brasil. Bot., v.32, n.1, p.79-88.
- LEWIS, G.; GIBBS, P. 1999. Reproductive biology of *Caesalpinia calycina* and *C. pluviosa* (Leguminosae) of the caatinga of north-eastern Brazil. Plant Systematics and Evolution, v.217, p.43-53.
- LLOYD, D.G.; WEBB, C. J. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms I. Dichogamy, New Zealand Journal of Botany, vol. 24, n.1, p.135-162.
- MACHADO, I. C.; LOPES, A. V.; SAZIMA, M. 2006. Plant sexual systems and a review of the breeding system studies in the Caatinga, a Brazilian tropical dry forest. Annals of Botany, v.97, p.277-287.
- MACHADO, R. R. B.; MEUNIER, I. M. J.; SILVA, J. A. A.; CASTRO, A. A. J. F. 2006. Árvores nativas para a arborização de Teresina, Piauí. Revista da Sociedade Brasileira de Arborização Urbana, v.1, n.1, p.10-18.
- NASCIMENTO, E. A.; DEL-CLARO, K. 2007. Floral visitors of *Chamaecrista debilis* (Vogel) Irwin & Barneby (Fabaceae-Caesalpinioideae) at cerrado of Estação Ecológica de Jataí, São Paulo State, Brazil. Neotropical entomology, v.36, n.4, p.619-624.
- OLIVEIRA, M. I. B.; SIGRIST, M. R. 2008. Fenologia reprodutiva, polinização e reprodução de *Dipteryx alata* Vogel (Leguminosae-Papilionoideae) em Mato Grosso do Sul, Brasil. Revista Brasileira de Botânica, v.31, n.2, p.195-207.
- OWENS, S. J. 1986. Stigma, style, pollen and the pollen-stigma interaction in Caesalpinioideae. In: Advances in legume biology. Proceedings of the 2nd International Legume Conference, St. Louis, Missouri. pp.23-27.
- PYKE, G. H. 2016. Plant-pollinator co-evolution: It's time to reconnect with Optimal Foraging Theory and Evolutionarily Stable Strategies. Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics, v.19, p.70-76.
- PRICE, P. W. 2002. Species interactions and the evolution of biodiversity. In: HERRERA, C. M.; PELLMYR, O. (eds.). Plant animal Interactions an Evolutionary Approach. Blackwell Publishing, Oxford, pp.157-184.
- QUEIROZ, L.P. 2009. Leguminosas da Caatinga. Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, 467 p.
- RADFORD, A. E.; DICKSON, W. C.; MASSEY, J. R.; BELL, C. R. 1974. Vascular plant systematics. Harper & Row, New York, 891 p.
- RAJU, A. J. S.; KUMAR, R. 2016. Pollination ecology of *Derris trifoliata* (Fabaceae), a mangrove associate in Coringa Mangrove Forest, Andhra Pradesh, India. Journal of Threatened Taxa, v.8, n.5, p.8788-8796.

- RECH, A. R.; AGOSTINI, K.; OLIVEIRA, P. E.; MACHADO, I. C. 2014. Biologia da Polinização. RODARTE, A. T. A.; SILVA, F. O.; VIANA, B. F. 2008. A flora melitófila de uma área de dunas com vegetação de caatinga, Bahia, Nordeste do Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, v.22, n.2, p.301-312.
- SCOGIN, R.; YOUNG, D. A.; JONES, C. E. 1977. Anthochlor pigments and pollination biology: II. The ultraviolet patterns of *Coreopsis gigantea* (Asteraceae). *Bulletin of the Torrey Botanical Club*, v.104, p.155-159.
- SHI-JIN, L.; DIAN-XIANG, Z.; LIN, L.; ZHONG-YI, C. 2004. Pollination ecology of *Caesalpinia crista* (Leguminosae: Caesalpinioideae). *Acta Botanica Sinica*, v.46, p.271-278.
- SIGRIST, M. R.; MUNIN, R. L.; TEIXEIRA, R. C. 2008. Esfingofilia e sistema de reprodução de *Bauhinia curvula* Benth. (Leguminosae: Caesalpinioideae) em cerrado no Centro-Oeste brasileiro. *Revista Brasil. Bot.*, v.31, n.1, p.15-25.
- SOARES, N. S. 2001. Leis Básicas do Município de Teresina.
- TERESINA. 2005. Plano Diretor do Parque Zoobotânico. Piauí: RECRIAR/Secretaria do Meio Ambiente e Recursos Hídricos, v.1, n.1.
- VAN DER PIJL, L. 1954. *Xylocopa* and flowers in the tropics. I – III. *Proc. K. Ned. Akad. Wet. C*, Amsterdam, v.57, p.413-23, 541-562.
- VOGEL, S. 1990. The role of scent glands in pollination. Amerind Publishing, New Delhi.
- WADDINGTON, K. D. 1983. Foraging behavior of pollinators. In: REAL, L. (ed.) *Pollination biology*. Academic Press, Orlando, pp.213-240.
- WARWICK, M. C.; LEWIS, G. P. 2009. A revision of *Cenostigma* (Leguminosae – Caesalpinioideae – Caesalpinieae), a genus endemic to Brazil. *Kew Bull*, v.64, p.135-146.
- WENDT, T.; CANELA, M. B. F.; FARIA, A. P. G.; RIOS, R. I. 2001. Reproductive biology and natural hybridization between two endemic species of *Pitcairnia* (Bromeliaceae). *American Journal of Botany*, v.88, p.1760-1767.
- WIENS, D.; CALVIN, C. L.; WILSON, C. A.; DAVERN, C. I.; FRANK, D.; SEAVEY, S. R. 1987. Reproductive success, spontaneous embryo abortion, and genetic load in flowering plants. *Oecologia*, v.71, n.4, p.501-509.
- ZAPATA, T. R.; ARROYO, K. M. T. 1978. Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest in Venezuela. *Biotropica*, v.10, p.221-230.