

ALINE DANIELI DA SILVA

**ECOLOGIA REPRODUTIVA E POLINIZAÇÃO POR TRIPES
(THYSANOPTERA) EM *Ocotea porosa* (LAURACEAE), UMA
ESPÉCIE AMEAÇADA DE EXTINÇÃO**

Dissertação apresentada como requisito parcial para a obtenção do grau de Mestre em Ecologia e Conservação, Curso de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, Setor de Ciências Biológicas, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora:
Prof.^a Dr.^a Isabela Galarda Varassin

CURITIBA

2009

Aos meus pais

**“O primeiro passo para o
conhecimento é saber que
somos ignorantes”. (Sócrates)**

AGRADECIMENTOS

À Deus por ter sido em muitos momentos de minha vida o meu único refúgio.

À Universidade Federal do Paraná por ter concedido o uso da área e instalações da Estação Experimental de São João do Triunfo para a realização deste trabalho.

Ao senhor Dionízio e família, responsáveis pela manutenção da Estação Experimental de São João do Triunfo, pelo chimarrão nos fins de tarde e os almoços de domingo quando me sentia sozinha. Enfim, por todo o suporte, atenção, carinho e zelo que tiveram por mim durante os 42 dias de convivência.

À Capes, por ter concedido a bolsa e acima de tudo pelo incentivo à pesquisa.

À Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias – Embrapa/Florestas pelo apoio e incentivo ao projeto.

À Dr.^a Valderês Aparecida de Sousa, como coordenadora do projeto do qual o presente trabalho faz parte, pela atenção, sugestões e por todo apoio logístico.

Aos Técnicos da Embrapa/Florestas Kodama e Úrio por terem encarado a jornada de ficarem vários dias longe de suas famílias me ajudando nos trabalhos de campo.

Aos funcionários da Universidade Tuiuti do Paraná, Jaime Pereira Junior, Edgar Farias e Edson Rosa, pela ajuda na montagem dos andaimes e por toda a preocupação com minha segurança.

Aos laboratórios de Anatomia Vegetal, Histotécnica e Botânica Estrutural pelo uso de suas instalações.

Ao Msc. Adriano Cavalleri da Universidade Federal do Rio Grande do Sul, pelo auxílio na identificação da espécie de tripes e à mestrandia Elaine Nunes da Universidade Federal do Paraná, pelo auxílio na descrição anatômica das flores.

Aos colegas de sala pelos dois anos de convivência e aprendizado, especialmente aos amigos Elton e Jordana por serem muitas vezes meu porto seguro em Curitiba.

À Mariluz Muraro por ter se revelado uma mãe para mim nos últimos tempos. Por todo carinho, cuidado, incentivo e apoio e pelo filho maravilhoso que trouxe outro sentido à minha vida.

Às minhas amigas Christina, Daniela e Fernanda, por todo apoio durante esses dois anos quando a solidão e a saudade enchiam meu coração de tristeza, especialmente à Fernanda (Fêrs) pelas duas semanas em campo alegrando meus dias e agilizando meu trabalho. Acho que mesmo que eu viva 1000 anos não irei encontrar alguém com um coração tão grande quanto o seu.

Ao amor da minha vida, amigo, companheiro e incansável revisor José Vicente, por todo amor, respeito e integridade. Por mesmo distante se fazer presente e me mostrar que os meus problemas são os dele também e por encher meus dias de alegria com esse coração cheio de bondade e pureza.

Aos principais responsáveis por este momento, meu pai Celso e minha mãe Eloni. Gostaria que soubessem que este trabalho é inteiramente dedicado a vocês. Foi somente por vocês que recomecei do zero por mais de uma vez. Obrigada por terem aberto mão de muitas coisas para que eu estivesse aqui hoje, só nós sabemos o quanto foi difícil, e é por isso que amo vocês acima de tudo e peço perdão pelos momentos em que estive ausente.

Aos professores Maurício Sedrez dos Reis (Universidade Federal de Santa Catarina), Paulo Eugênio M. de Oliveira (Universidade Federal de Uberlândia) e Renato Goldenberg (Universidade Federal do Paraná) pela leitura crítica deste trabalho.

À minha orientadora Isabela Galarda Varassin, por todo o incentivo e dedicação a este trabalho. Por toda a paciência que teve comigo, especialmente no início, respondendo a todas as minhas dúvidas, quando eu não sabia se quer o que era apomixia. Por ouvir e dar crédito às

minhas sugestões sendo de fato uma orientadora, me corrigindo e mostrando alternativas para enriquecer nosso trabalho, mas acima de tudo por ter me ensinado a amar o que faço.

A todos vocês meu muito obrigada!

SUMÁRIO

Lista de tabelas e figuras	1
Resumo	2
Abstract	4
Introdução	6
Materiais e Métodos	8
<i>Caracterização da área de estudo</i>	8
<i>Morfologia e Biologia Floral</i>	9
<i>Sistema Reprodutivo</i>	10
<i>Visitantes florais</i>	11
<i>Análise dos dados</i>	12
Resultados	12
<i>Morfologia e Biologia Floral</i>	12
<i>Sistema reprodutivo</i>	14
<i>Polinizador</i>	15
Discussão	16
Literatura Citada	23
Tabelas e figuras	31

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

- Tabela 1:** Valores médios de viabilidade polínica para cada indivíduo de *Ocotea porosa* nas diferentes fases de antese da flor. Considerando a origem do pólen, se de estame externo (EE) ou interno (EI)31
- Tabela 2:** Percentual do número de frutos formados por tratamento de polinizações controladas em *Ocotea porosa*, considerando apenas o número de flores testadas32
- Figura 1:** Meio de acesso às copas dos indivíduos de *Ocotea porosa*. A) Andaime (indivíduo localizado no interior do fragmento) e B) Caminhão tipo “Munck” (indivíduos localizados na borda do fragmento).....33
- Figura 2:** Flor de *Ocotea porosa* A) microscopia de varredura mostrando a abertura das valvas de suas anteras; (ANI) antera interna com abertura extrorsa, (ANE) antera externa com abertura introrsa, e a diferença na quantidade de tricomas em suas tépalas (TEI) tépala interna e (TEE) tépala externa; B) Flor de *Ocotea porosa* no segundo dia de antese; (TE) tépala, (STE) estame externo, (NE) nectário, (STI) estame interno e (PI) pistilo; C) microscopia de varredura do nectário na flor em antese; D) microscopia de varredura do nectário na fase de botão. Escalas, a = 1 mm; b = 1 mm c = 100 μm ; d = 100 μm34
- Figura 3:** Crescimento do tubo polínico de *Ocotea porosa* em ensaio de autopolinização manual, após 72 h da deposição de pólen no estigma da flor; A) tubo polínico chegando ao ovário da flor e B) tubo polínico chegando ao rudimento seminal. As fotos foram tiradas em microscópio de epi-fluorescência (Zeiss Axioplan) e as setas indicam o início do ovário (a) e do rudimento seminal (b). Escalas, a = 50 μm e b = 10 μm35
- Figura 4:** Indivíduo adulto de *Frankliniella gardenia*. Escala 500 μm36

RESUMO¹

Histórico e Objetivos: *Ocotea porosa* (Lauraceae), conhecida popularmente como Imbuia, foi maciçamente explorada nas últimas décadas devido à qualidade de sua madeira. Atualmente as populações apresentam tamanhos muito reduzidos, o que causou a inclusão da espécie na Lista Vermelha de espécies ameaçadas da *IUCN* (*International Union for Nature Conservation*). Neste cenário, o conhecimento da ecologia reprodutiva da espécie é importante para a elaboração de estratégias de conservação e manejo.

Métodos: A morfologia floral foi descrita por meio de observações diretas em campo e microscopia eletrônica de varredura. O sistema reprodutivo foi determinado através de polinizações controladas e acompanhamento do crescimento dos tubos polínicos. Os polinizadores foram determinados por observações focais em campo.

Principais resultados: *Ocotea porosa* compartilha características morfológicas florais com outras espécies de angiospermas basais polinizadas por pequenos insetos como coleópteros e tripses: flores pequenas, rasas, inconspícuas e agrupadas em inflorescência. As flores são monoclinas e trímeras, com simetria actinomorfa. A espécie apresentou autocompatibilidade, mas não se reproduziu por apomixia ou autopolinização espontânea. A autogamia é evitada pela ocorrência de protoginia. A única espécie de polinizador registrada, *Frankliniella gardenia* (Thysanoptera), ao visitar várias flores de uma mesma inflorescência, favorece a geitonogamia.

Conclusões: *Ocotea porosa* possui características reprodutivas que indicam a necessidade de polinização biótica. Suas características florais são encontradas em Angiospermas basais polinizadas por pequenos insetos, como o tripses *Frankliniella gardenia*, o único polinizador observado. O pequeno alcance de vôo de tripses entre as plantas associada à redução da

¹ Texto formatado segundo normas da revista *Annals of Botany* <http://aob.oxfordjournals.org/>

densidade local das populações de *O. porosa* pode ter reduzido as chances de polinização cruzada para a espécie. Isto poderia explicar o predomínio de autogamia encontrado em estudos no sul do Brasil, o que, em longo prazo, pode alterar a estrutura genética das populações, reduzir a diversidade genética e, eventualmente, levar ao declínio das populações. A ineficiência na capacidade de deslocamento de tripes, associada à autocompatibilidade da maioria das espécies monóicas onde são encontrados, pode ser um indicativo de que este é um polinizador eficiente apenas em sistemas autogâmicos ou em populações de espécies com alta densidade e distribuição agregada.

Palavras chave: angiosperma basal, autocompatibilidade, *Frankliniella gardenia*, Imbuia, *Ocotea porosa*, polinização, sistemas reprodutivos.

ABSTRACT

Background and aims: *Ocotea porosa* (Lauraceae) has been intensely logged in the last decades due to the quality of its wood. The populations of *O. porosa* were so reduced that the species is now considered as threatened on the Red List of IUCN (*International Union for Nature Conservation*). Under this scenario, the knowledge of its reproductive biology is important for the elaboration of conservation and management strategies.

Methods: Flower morphology was described through direct observation in field, and scanning electron microscopy. Breeding system was defined by controlled pollinations and pollen tube growth. Pollinators were identified by field observations.

Key results: *Ocotea porosa* shares characteristics of flower morphology with other basal angiosperms pollinated by small insects as coleopterans and thrips: small, shallow and inconspicuous flowers, disposed in inflorescences. The flowers are hermaphrodite, trimerous and actinomorphic.. The species is self-compatible, and does not reproduce through apomixis and spontaneous self-pollination. Autogamy is avoided by protogyny. The only pollinating species, *Frankliniella gardenia* (Thysanoptera), may promote geitonogamy as it visits many flowers in the same inflorescence.

Conclusions: *Ocotea porosa* has reproductive characteristics which require biotic pollination. Its floral characteristics are found among basal angiosperms pollinated by small insects, as the thrips *Frankliniella gardenia*, the only observed pollinator. The low flight ability of thrips among plants associated to the reduction of local plant density may have reduced the chances of crossing. This may explain the predominance of autogamy found in studies in south Brazil, which may change the genetic structure of populations, reduce the genetic diversity and, occasionally, lead to population decline. The inefficiency in the ability to shift from thrips, associated with self-compatibility of most monoecious species where they are found, may be

an indication that this is an efficient pollinator only in systems self-compatibles or in populations of species with density high and aggregate distribution.

Keywords: self-compatibility, basal angiosperm, breeding systems, *Frankliniella gardenia*, Imbuia, *Ocotea porosa*, pollination.

INTRODUÇÃO

A eficiência de tripses como polinizador de várias espécies vegetais tem sido objeto de muita discussão (Norton, 1984; Momose *et al.*, 1998; Yi-Bo e Zhen-Yu, 1999; Sakai, 2001; Moog *et al.*, 2002; Zerega *et al.*, 2004). As espécies de tripses alimentam-se de tecidos florais, néctar e pólen das flores que visitam (Kirk, 1984), podendo em alguns casos utilizar estas flores como local de nidificação (Ananthkrishnan, 1982 e 1993; Zerega *et al.*, 2004). Por este motivo, durante muito tempo os tripses foram considerados apenas pragas agrícolas e tiveram seu potencial como polinizador constantemente negado (Kirk, 1984; Norton, 1984; Cornara *et al.* 2005). Porém, nas últimas décadas, alguns estudos colocaram em evidência seu papel na polinização de muitas angiospermas basais, em especial Annonaceae, Lauraceae, Monimiaceae, Myristicaceae e Winteraceae (Endress, 1986), todas pertencentes ao clado Magnolídio (APG II, 2003). O papel de tripses como polinizador tem sido ainda ampliado, com registros de polinização em várias famílias incluindo uma gimnosperma, Zamiaceae (Terry, 2001), e outras angiospermas como Asteraceae, Solanaceae e Fabaceae (Ananthkrishnan, 1993), Chloranthaceae (Yi-Bo e Zhen-Yu, 1999), Moraceae (Sakai, 2001; Zerega *et al.*, 2004), Scrophulariaceae (Gómez, 2002), Euphorbiaceae (Moog *et al.*, 2002), Calycanthaceae (Worboys e Jackes, 2005) e Thymelaeaceae (Cornara *et al.*, 2005), sendo que apenas Chloranthaceae e Calycanthaceae são angiospermas basais, esta última uma Magnolídia (APG II, 2003).

A maioria dessas famílias compartilha características florais que atraem visitantes em comum, especialmente coleópteros, porém tais características parecem atrair também tripses. Estas características incluem flores pequenas e rasas, oferecendo pólen e néctar, sem muitos atrativos como cores brilhantes e fortes odores (Norton, 1984).

Ocotea porosa (Ness & Mart.) Barroso, conhecida popularmente como Imbuia,

pertence à família Lauraceae, apresentando flores pequenas, rasas, com coloração amarelo esverdeada e sem fortes odores. As árvores dessa espécie podem atingir até 30 m de altura e 320 cm de DAP (diâmetro à altura do peito). Sua ocorrência natural vai do Sudeste ao Sul do Brasil (Reitz *et al.*, 1978), região de ocorrência da Floresta Ombrófila Mista (Floresta com Araucária) (Castella e Britez, 2004). Este tipo de floresta foi alvo de intensa exploração pela indústria madeireira durante as últimas décadas, levando quase à exaustão de seus recursos naturais (Mittermeier *et al.*, 2005). A Imbuia foi maciçamente explorada, devido à qualidade da madeira que é mundialmente apreciada, sendo exportada em grande quantidade para a fabricação de mobiliários de luxo (Carvalho, 2003). Tal pressão levou as populações a tamanhos tão reduzidos que causou a inclusão da espécie na Lista Vermelha de espécies ameaçadas da *IUCN (International Union for Nature Conservation)*, bem como na lista oficial de espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção (IBAMA, 2008; Varty e Guadagnin, 1998).

Em situações como essa, o conhecimento da ecologia reprodutiva da espécie é de fundamental importância para a elaboração de estratégias de conservação, manejo e recuperação (Reis, 1996). Uma das principais metas nos programas de conservação é a manutenção dos níveis existentes de variabilidade genética em espécies raras, ameaçadas ou que estejam inseridas em biomas ameaçados (Hamrick *et al.*, 1992; Neel e Ellstrand, 2003) e uma das primeiras informações necessárias é justamente o conhecimento de seu sistema reprodutivo.

O sistema reprodutivo na família Lauraceae é escassamente conhecido. Os poucos estudos que revelam algo sobre suas características sexuais são baseados em genética de populações dos gêneros *Cryptocarya*, *Neolitsea* e *Ocotea*, (Gibson e Wheelwright, 1996; Moraes e Monteiro, 2002; Moraes e Derbyshire, 2002; Kageyama *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2005). Estes estudos dão apenas indícios se as espécies são ou não autocompatíveis,

resultados que não definem seus sistemas reprodutivos e tão pouco avaliam seus polinizadores. Estudos anteriores realizados com *O. porosa* revelam apenas seus potenciais polinizadores e não obtiveram êxito na definição de seu sistema reprodutivo (Daros, Bittencourt e Müller dados não publicados). Bittencourt (dados não publicados) relata que, do total dos visitantes florais observados por ele, os grupos predominantes foram coleópteros e dípteros com 35 e 34% das visitas respectivamente, Müller (dados não publicados) também atribui a dípteros e coleópteros a polinização de *O. porosa*, não descartando porém, a possibilidade destes serem apenas herbívoros. No entanto, não existiam até hoje relatos da polinização por tripes (Thysanoptera) para a espécie.

Este estudo é o primeiro a definir o sistema reprodutivo no gênero *Ocotea*. Nele são demonstradas evidências da polinização de *O. porosa* por tripes. A ecologia reprodutiva da espécie foi investigada, buscando responder às seguintes perguntas: (1) A espécie se reproduz sexuadamente? (2) Há ocorrência de auto-incompatibilidade? (3) Tripes pode ser considerado um polinizador efetivo para *Ocotea porosa*? (4) Quais as possíveis implicações da polinização por tripes para a conservação da espécie?

MATERIAIS E MÉTODOS

Caracterização da área de estudo

O estudo de campo foi realizado de setembro a novembro de 2007, na Estação Experimental da Universidade Federal do Paraná (25°34'18" S e 50°05'56" W), localizada no município de São João do Triunfo a cerca de 130 km da cidade de Curitiba. O clima da região é classificado como do tipo Cfb de Köppen, clima temperado marítimo úmido, com chuvas distribuídas durante todo o ano. A temperatura média do mês mais quente é inferior a 22°C e a do mês mais frio, superior a 10°C (Maack, 1981). A cobertura vegetal original da área é de Floresta Ombrófila Mista, sendo sua matriz atual formada por áreas de agricultura,

principalmente de fumo.

A área é composta por um único fragmento de aproximadamente 32 ha e, segundo registros, apesar de não ter sofrido corte raso, foi alterada até 1972 por corte seletivo de araucárias (*Araucaria angustifolia*) e exploração da erva-mate (*Ilex paraguariensis*), sendo classificada como formação primária alterada ou secundária avançada (Schaaf *et al.*, 2006). *Ocotea porosa* é uma espécie dominante na comunidade da área de estudo com cerca de 17 ind/ha (Schaaf *et al.*, 2006) porém os índices de recrutamento para espécie na área são baixos (Amato, dados não publicados).

Morfologia e Biologia Floral

Em função da altura dos indivíduos de Imbuia, o estudo foi realizado a partir de três indivíduos adultos, localizados um no interior e os outros dois na borda do fragmento. Como o acesso às copas é difícil, este só foi possível pela instalação de um andaime de 15 m de altura, montado no interior do fragmento (Figura 1A), e pelo uso de caminhão tipo “Munck”, empregado para acesso à copa nas árvores da borda (Figura 1B). O material coletado proveniente dos indivíduos estudados foi depositado no Herbário UPCB da Universidade Federal do Paraná com os seguintes números de registro: UPCB 60212, indivíduo localizado no interior do fragmento e UPCB 60213, indivíduo localizado na borda do fragmento.

A morfologia floral foi descrita a partir de observações de flores frescas em campo e de flores conservadas em FAA 50% (formol, ácido acético), utilizando-se lupa e microscopia de varredura. Para observação em microscópio eletrônico de varredura JEOL JSM-5410, as flores foram submetidas a uma série acetônica, desidratadas à vácuo em secador a ponto crítico por cinco minutos e cobertas com ouro-paládio por 4.5 minutos.

Para o estudo da biologia floral da espécie foram feitas observações diretas em campo a fim de determinar o período de antese da flor. O início da receptividade estigmática foi

testado por meio da atividade peroxidásica, com a utilização de peróxido de hidrogênio (H_2O_2) (Zeisler, 1938; Dafni, 1992), realizado de hora em hora até a detecção de receptividade. Para detectar as áreas de maior atividade metabólica indicando a possível presença de osmóforos, as flores foram mergulhadas em uma solução de vermelho neutro numa proporção de 1:10,000 por 15 minutos (Vogel, 1963).

A estimativa de viabilidade polínica foi realizada a partir de material fixado em FAA 50%, o pólen fixado foi corado com carmim acético e posteriormente observado em microscópio óptico (Dafni, 1992). Para verificar o percentual de viabilidade do material, foram escolhidos aleatoriamente estames internos e externos das flores, na fase de botão ao 3º dia, sendo analisadas dez flores por indivíduo e contados os 100 primeiros grãos de pólen para cada uma delas.

Sistema Reprodutivo

Para o estudo do sistema reprodutivo foram feitas polinizações controladas com base em sete tratamentos: polinização aberta / natural (PA) onde as flores foram apenas marcadas; apomixia (AP) onde botões tiveram os estiletos cortados e foram mantidos ensacados; autopolinização espontânea (AE) onde as flores foram apenas ensacadas; autopolinização manual com pólen dos estames internos (AMI) e externos (AME) proveniente de flores dos próprios indivíduos, sendo as flores polinizadas e mantidas ensacadas e polinização cruzada com pólen de outros indivíduos, algumas com pólen dos estames internos (PCI) e outras dos externos (PCE), sendo as flores polinizadas e mantidas ensacadas (Radford *et al.*, 1974).

Para cada tratamento foram utilizadas 50 flores por indivíduo, sendo que os tratamentos PA, AP e AE foram realizados nos três indivíduos e os demais apenas nos dois indivíduos da borda do fragmento. Para evitar elevadas taxas de aborto de frutos, relacionadas à problemas com a alocação de recursos, foram selecionadas inflorescências com pequeno

número de flores. Nestas inflorescências foram tratadas em média quatro flores, submetidas às polinizações controladas, sendo que as flores não tratadas permaneceram em suas inflorescências. O sucesso reprodutivo de cada tratamento foi estimado por suas respectivas taxas de frutificação sendo que, devido à intempéries, as avaliações foram realizadas somente até o vigésimo dia após a realização das polinizações controladas.

Para avaliar a ocorrência de reações de auto-incompatibilidade foram feitas polinizações controladas (autopolinização manual e polinização cruzada) a fim de que se pudesse comparar o crescimento do tubo polínico nos dois tratamentos (Martin, 1959). Para isso as análises foram feitas a partir de material fixado em FAA 50%. Como na diafanização em NaOH os pistilos ficaram totalmente enegrecidos, o clareamento foi realizado em hipoclorito de sódio (NaClO) a 60°C por 40 minutos. O material foi corado com azul de anilina e observado em microscopia de epi-fluorescência (Martin, 1959). As polinizações foram feitas nos períodos de 12, 24, 36, 48, 64 e 72 h, sendo analisadas quatro flores por tratamento, por intervalo de tempo.

Visitantes florais

Para o estudo do processo de polinização foram feitas observações focais em campo, durante o período de antese das flores (Dafni, 1992) no interior e borda do fragmento. As observações foram realizadas no período da manhã entre 0600 h e 1200 h e no período da tarde entre 1300 h e 1800 h totalizando 40 h de observações diurnas somando borda e interior do fragmento. As observações noturnas foram feitas a partir das 1900 h, com o auxílio de lanterna coberta com papel celofane vermelho, totalizando 10 h de observações noturnas na borda do fragmento.

Análise dos dados

As diferenças no sucesso reprodutivo entre os diferentes tratamentos foram calculadas pelo teste qui-quadrado (Zar, 1996). As comparações foram feitas entre todos os tratamentos exceto apomixia, devido ao fato deste não ter produzido frutos. Também foram realizadas comparações entre os tratamentos AME e AMI, PCE e PCI, e PC (PCE + PCI) e AM (AME + AMI), buscando verificar se as possíveis diferenças no sucesso reprodutivo da espécie podem ser promovidas pelo uso de pólen proveniente de estames internos e externos, bem como por meio da polinização cruzada ou autopolinização manual. Todas as comparações entre os tratamentos foram realizadas considerando o número de frutos formados em relação ao número de flores testadas.

As diferenças na viabilidade polínica entre os indivíduos, as diferentes fases de antese das flores e os estames externos e internos foram testadas por análise de variância (ANOVA). Devido ao fato dos dados terem uma distribuição binomial, estes foram transformados por arcoseno da raiz da proporção (Zar, 1996).

RESULTADOS

Morfologia e Biologia floral

As flores de *O. porosa* são monóclinas e trímeras. Sua simetria é actinomorfa, possuindo seis tépalas (Figura 2A) com uma coloração amarelo esverdeada e recobertas por tricomas amarelo dourados bastante diversificados: uni e pluricelulares, tectores e secretores com vários formatos. As três tépalas mais internas possuem tricomas em maior quantidade e mais longos em comparação às três mais externas (Figura 2B), sendo que na superfície abaxial de ambas a quantidade de tricomas é menor.

O androceu é polistêmone, com estames também recobertos por tricomas amarelo dourados e dispostos em dois verticilos, um interno com três estames maiores e outro externo

com seis estames menores (Figura 2A). As anteras internas são extrorsas, enquanto as externas, introrsas (Figura 2B). A deiscência das anteras é valvar, e após a deiscência as quatro valvas de cada antera apresentavam o pólen agregado aderido à face interna da valva, ficando então exposto ao ambiente externo. Entre os estames internos podem ser observados três estaminódios, totalmente recobertos por tricomas tectores longos.

Foram observados seis nectários localizados na base do ovário, soldados à base dos estames internos e alternos às tépalas internas (Figura 2A). Durante as observações em campo foi possível visualizar uma delgada camada de secreção, a qual envolvia os nectários. Na fase de botão a epiderme destes nectários encontrava-se intacta (Figura 2C) diferentemente do que ocorria na flor em antese onde a mesma encontrava-se rompida (Figura 2D). O estilete é glabro e o ápice do estigma é recoberto por papilas.

As flores de *O. porosa* são agrupadas em inflorescências e não apresentaram antese sincronizada, ou seja, abriram-se durante todo o dia em momentos distintos, tendo o pico de sua antese após as 10 h da manhã, quando a temperatura começava a subir. Quando na fase de botão, a flor apresentava seus estames internos e externos bem próximos ao estigma. A partir do primeiro dia da antese, quando a flor encontrava-se entreaberta expondo apenas o estigma, os estames estavam afastados do estigma e o mesmo apresentava uma coloração branca. Nos dias mais quentes as valvas das anteras internas abriam-se, antes mesmo do estigma ter perdido sua receptividade.

A partir do segundo dia de antese, o estigma parecia começar a perder sua receptividade, ficando escuro. Neste momento, os estames internos estavam justapostos ao mesmo e as valvas de suas anteras estavam abertas. No terceiro dia, o estigma estava totalmente enegrecido, a flor totalmente aberta e ocorria deiscência das anteras externas. A deiscência ocorria a partir das 1000 h da manhã, quando a temperatura chegava perto dos 24°C. A disponibilidade de pólen se estendia ao menos até cerca das 1700 h, quando os

trabalhos com os ensaios reprodutivos eram cessados pela ausência do mesmo. No quarto dia, as flores não possuíam mais pólen e suas peças florais começavam a secar. As tépalas eram as últimas a cair, permanecendo até o 13º/14º dia, quando os frutos já começavam a se desenvolver.

No primeiro dia de antese, o estigma e parte dos nectários florais apresentaram reação positiva para o vermelho neutro, enquanto no segundo e terceiro dia da antese apenas os nectários apresentavam grande atividade metabólica.

Ocotea porosa apresentou valores médios de viabilidade polínica, nas diferentes fases de antese, que variaram entre 84 e 100% (Tabela 1). As análises da viabilidade polínica mostraram que as flores de terceiro dia possuíam em geral uma viabilidade de pólen menor em relação às outras fases de antese ($F_{3;209}=19.45$, $P<0.05$), sem diferenças na viabilidade de pólen entre estames internos e externos ($F_{1;209}=2.31$, $P>0.05$). Foram encontradas diferenças na viabilidade entre os indivíduos amostrados ($F_{2;209}=6.29$, $P<0.05$).

Sistema reprodutivo

Dos sete tratamentos realizados para a determinação do sistema reprodutivo da espécie, apenas apomixia não apresentou a formação de frutos. O menor percentual de frutos formados, 5%, foi obtido no tratamento de autopolinização espontânea (AE). A polinização aberta / natural (PA) apresentou um baixo percentual de formação de frutos (10%), enquanto os demais tratamentos obtiveram um sucesso reprodutivo acima de 50% (Tabela 2).

O sucesso reprodutivo variou entre os tratamentos ($\chi^2=221.9$, $GL=5$, $P<0.05$), provavelmente em função do baixo sucesso reprodutivo dos tratamentos de polinização aberta e autopolinização espontânea. Além disto, não houve diferença no sucesso reprodutivo entre os tratamentos de autopolinização manual (AMI + AME) e polinização cruzada (PCI + PCE) ($\chi^2=2.37$, $GL=1$, $P>0.05$). A origem do pólen, se de estame interno ou externo, influenciou o

sucesso reprodutivo das autopolinizações manuais, sendo o pólen proveniente de estames internos mais eficiente ($\chi^2=7.12$, GL=1, $P<0.05$), porém não influenciou nas polinizações cruzadas ($\chi^2=0.51$, GL=1, $P>0.05$).

Nos ensaios de autopolinização manual, 72 h após a deposição de pólen no estigma da flor, o tubo polínico chegou ao ovário (Figura 3A) e ao rudimento seminal (Figura 3B), ocorrendo assim a fecundação, enquanto que nos ensaios de polinização cruzada isto não foi visualizado provavelmente devido a problemas com a técnica de diafanização que danificou o material. Durante as observações, em microscopia de epi-fluorescência, não foi possível verificar o crescimento do tubo polínico desde o ápice do estigma em nenhum dos seis tratamentos.

Polinizador

Tanto na borda como no interior do fragmento, a única espécie de polinizador observada para *O. porosa* foi *Frankliniella gardenia* (Thysanoptera). Os indivíduos de *F. gardenia* foram avistados forrageando entre as flores de *O. porosa* durante todo o dia e inclusive à noite, visitando várias flores de uma mesma inflorescência. O pólen por eles consumido encontrava-se nas fendas entre os estames, não havendo forrageio diretamente nas anteras. *Frankliniella gardenia* possui uma grande quantidade de cerdas recobrando seu corpo (Figura 4) e os grãos de pólen que não são consumidos podem ser carregados aderidos a estas cerdas. Em observação em lupa foi avistada uma grande quantidade de pólen nas cerdas que se prolongam no final do abdômen dos indivíduos.

Depois de se alimentar em uma flor, os indivíduos visitavam outra flor, normalmente na mesma inflorescência. Desta forma, tanto flores no início da antese, com estigma receptivo, quanto flores na fase posterior de antese, oferecendo pólen, eram visitadas. Foram

encontrados também indivíduos imaturos, indicando que *O. porosa* pode ser a hospedeira de *F. gardenia*.

DISCUSSÃO

Ocotea porosa é monóica apresentando flores trímeras e monóclinas, características encontradas em muitas espécies da família Lauraceae, onde há uma grande diversificação da distribuição sexual. As plantas da família, assim como as do gênero, podem ser monóicas, dióicas ou ginodióicas, com flores monóclinas ou díclinas (Rohwer, 1993).

Ocotea porosa é autocompatível, assim como *O. tenera*, endêmica da Costa Rica, (Gibson e Wheelwright, 1996), *Cryptocarya moschata* (Moraes e Monteiro, 2002) e *Cryptocarya aschersoniana* (Moraes e Derbyshire, 2002). Estes resultados diferem de outros estudos que apontam as espécies da família como obrigatoriamente xenógamas (Rohwer, 1993), auto-incompatíveis e com mecanismo de dicogamia sincronizada (Kageyama *et al.*, 2003; Wang *et al.*, 2005), os quais preveniriam efetivamente a autopolinização.

No entanto, estabelecer tendências reprodutivas para o gênero não é uma tarefa fácil uma vez que a família permanece pouco conhecida em termos taxonômicos (Rohwer, 1993; Werff & Richter 1996; Chanderbali *et al.*, 2001). Soma-se a isso o fato de *Ocotea* ser o gênero menos definido, reconhecido como muito variável e servindo como depósito de espécies que não são prontamente acomodadas em outros gêneros (Rohwer, 1993; Chanderbali *et al.*, 2001).

A biologia floral e as características morfológicas das flores de *O. porosa* mostram evidências da necessidade de um vetor de pólen para polinização. Apesar das flores da espécie serem monóclinas, elas são protogínicas, tendo o gineceu receptivo apenas no primeiro dia de antese quando as anteras ainda estão fechadas. Desta forma a autopolinização espontânea é rara, apesar de terem sido formados 5% de frutos neste tratamento. Além desta dicogamia, a

autopolinização espontânea é evitada pela hercogamia dada pela disposição extrorsa das anteras dos estames internos, evitando o contato direto com o estigma. Este mecanismo é especialmente funcional na redução das chances de autopolinização espontânea em dias de muito calor, quando as valvas das anteras internas se abrem antes mesmo do estigma perder sua viabilidade. As chances de autopolinização espontânea pelas anteras externas, que são introrsas, são mínimas, uma vez que suas valvas só se abrem quando o gineceu já perdeu sua viabilidade. Desta forma, o pequeno percentual de formação de frutos encontrado nos tratamentos de autopolinização espontânea sugere que tripes são capazes de alcançar as inflorescências de *O. porosa* mesmo que estas estejam ensacadas com malha fina, resultados encontrados também em estudos com *Castilla elastica* (Moraceae) (Sakai, 2001).

Os mecanismos de dicogamia e hercogamia para evitar a autopolinização espontânea em *Ocotea porosa* poderiam estar associados à ocorrência de autocompatibilidade na espécie. Autocompatibilidade não é uma característica predominante entre as espécies arbóreas tropicais centro americanas (Bawa, 1974; Bawa *et al.*, 1985), assim como em espécies arbóreas pertencentes aos biomas de Mata Atlântica e Cerrado brasileiros (Barros, 1992; Oliveira e Gibbs, 1994; Proença e Gibbs, 1994; Teixeira e Machado, 2000; Goldenberg e Varassin, 2001; Moraes e Monteiro, 2002; Gusson *et al.*, 2006). A auto-incompatibilidade é uma característica relacionada a pressões seletivas para manter a variabilidade genética nas populações de plantas (Bawa, 1974), porém, em casos onde a polinização cruzada torna-se inviável, a autocompatibilidade poderia garantir a reprodução destas espécies (Affre *et al.*, 1995; Ortega Olivencia *et al.*, 1995). Desta forma, autocompatibilidade poderia estar relacionada com o isolamento e a redução do tamanho das populações de espécies vegetais ou ainda com a pequena abundância das populações de seus polinizadores (Karron, 1989), características presentes nas populações de *O. porosa*. Por outro lado é possível que autocompatibilidade seja uma característica comum às espécies polinizadas por tripes, como

descrito em 13 espécies arbóreas parciais ou completamente monóclinas na Nova Zelândia (Norton, 1984). Estes resultados sugerem que tripes pode exercer um papel fundamental na reprodução destas espécies, opondo-se a seu paradigma de ineficiência como polinizador e corroborando os resultados encontrados no presente estudo.

O sucesso reprodutivo de *O. porosa* em condições naturais (polinização aberta) é baixo quando comparado com o obtido nos tratamentos de polinização cruzada e autopolinização manual. Este resultado sugere que a espécie poderia alocar mais recursos para produzir mais frutos do que os que estão sendo formados por polinização natural. Espécies arbóreas tropicais tendem a apresentar sucesso reprodutivo baixo em condições naturais, com valores iguais ou inferiores a 20% (Bawa, 1974). Este padrão se mantém quando consideradas espécies arbóreas brasileiras, as quais tendem a apresentar sucesso reprodutivo inferior a 15% (Oliveira e Sazima, 1990; Oliveira *et al.*, 1992; Oliveira e Gibbs, 1994; Proença e Gibbs, 1994; Gibbs *et al.*, 1999; Teixeira e Machado, 2000; Oliveira *et al.*, 2002; Neto *et al.*, 2007).

Em geral, o baixo sucesso reprodutivo parece estar associado com auto-incompatibilidade (Sutherland e Delph, 1984) e de fato, nas espécies arbóreas de Mata Atlântica e Cerrado, há uma relação entre o baixo sucesso reprodutivo em condições naturais e a auto-incompatibilidade das espécies (Oliveira e Sazima, 1990; Oliveira *et al.*, 1992; Oliveira e Gibbs, 1994; Proença e Gibbs, 1994; Gibbs *et al.*, 1999; Teixeira e Machado, 2000; Oliveira *et al.*, 2002; Neto *et al.*, 2007). O baixo sucesso reprodutivo geralmente está relacionado com a limitação de pólen em virtude da menor chance de visitas com deposição de pólen compatível (Sutherland e Delph, 1984; Parra-Tabla e Bullock, 1998). Esta característica pode também estar relacionada a uma limitação na alocação de recursos (Bawa, 1974; Haig e Westoby, 1988). Em espécies arbóreas, que apresentam alto investimento na produção de muitas flores para atrair seus polinizadores, um alto percentual de formação frutos seria inviável, já que dependeriam de muitos recursos para serem mantidos (Parra-

Tabla e Bullock, 1998). Porém, nenhuma dessas explicações é válida para *O. porosa*, uma vez que a espécie é autocompatível e que os percentuais de frutos formados nos tratamentos de AM e PC foram elevados. Talvez estes resultados estejam relacionados ao fato de tripes ser o único polinizador encontrado para a espécie na área de estudo, o que diminui as chances de que um elevado percentual de flores sejam visitadas.

Espécies arbóreas tropicais em geral possuem isolamento espacial de seus indivíduos e baixas densidades de suas populações, o que muitas vezes pode dificultar o processo de polinização devido ao baixo alcance de vôo de algumas espécies de polinizadores (Fedorov, 1966). Em *O. porosa* a distribuição espacial natural é agregada e os indivíduos da espécie normalmente encontram-se próximos um dos outros em média 9 m (Bittencourt, dados não publicados). Este padrão é encontrado para muitas das espécies arbóreas tropicais (Condit *et al.*, 2000) e poderia favorecer a polinização cruzada por tripes, uma vez que experimentos comprovam que os mesmos podem realizá-la a curtas distâncias, entre 10 e 25 m (Bawa, 1980; Moog *et al.*, 2002). Sendo assim, a distribuição espacial de populações de espécies arbóreas polinizadas por tripes pode ter implicações para a reprodução. Indivíduos adultos e com distribuição agregada de *Popowia pisocarpa* (Annonaceae), uma espécie auto-incompatível e polinizada por tripes, possuem maior taxa de formação de frutos que aqueles mais distantes (em média > 5 m do vizinho mais próximo). Estes resultados indicam que uma limitação no movimento de tripes pode ter sido responsável pela baixa taxa de frutificação em indivíduos mais distantes (Momose *et al.*, 1998). Alguns estudos mostram que distribuição espacial populacional pode alterar também o sucesso reprodutivo de espécies polinizadas por outros pequenos insetos (Erikson e Bremer, 1993; Wolf e Harrison, 2001; Aigner, 2004; Scobie e Wilcock, 2009). A taxa de produção de frutos de *Linnaea borealis* (Caprifoliaceae), uma espécie arbustiva auto-incompatível, polinizada por muscídeos e sirfídeos, cai abaixo de 30% quando os indivíduos da espécie estão distantes 8 m entre si e a 5% quando distantes 30

metros ou mais (Scobie e Wilcock, 2009). Resultados semelhantes são encontrados para *Rubus saxatilis*, Rosaceae (Erikson e Bremer, 1993); *Calystegia collina*, Convolvulaceae (Wolf e Harrison, 2001) e *Dithyrea marítima*, Brassicaceae (Aigner, 2004). Em *O. porosa*, assim como em outras espécies polinizadas por tripes, a distância também deve reduzir o sucesso reprodutivo. No entanto apesar dos vôos de tripes serem geralmente curtos, existe a possibilidade de haver vôos mais longos promovendo a polinização cruzada. Estes eventos, apesar de raros, devem ser importantes para a manutenção da variabilidade genética das populações.

Frankliniella gardenia, foi o único polinizador de *O. porosa*, observado neste trabalho. No entanto, deve ser considerada a possibilidade de existirem outros polinizadores, não observados por não estarem presentes na área de estudo, em decorrência da fragmentação e ou degradação, ou mesmo devido a características locais. *Frankliniella gardenia* pertence a um gênero de visitantes florais muito comuns, apresentando distribuição cosmopolita. Apesar de terem sido encontrados em diversas espécies vegetais, são considerados polinizadores generalistas e ineficientes por não possuírem habilidade nos vôos entre as plantas (Cornara *et al.*, 2005) e porque seriam apenas vetores de autopolinização (Norton, 1984). No entanto, é preciso rever este conceito já que são muitos os trabalhos onde o grupo é considerado não só um polinizador efetivo, mas também o principal, realizando inclusive polinização cruzada (Norton, 1984; Momose *et al.*, 1998; Yi-Bo e Zhen-Yu, 1999; Sakai, 2001; Moog *et al.*, 2002; Zerega *et al.*, 2004). Além disso, o fato de *F. gardenia* ter sido o único polinizador observado de *O. porosa* não ocorreu pela ausência de outros polinizadores em potencial na área, já que várias espécies de insetos foram observadas tanto na borda quanto no interior do fragmento (obs. pess.). Ao lado do indivíduo localizado no interior do fragmento, existia um indivíduo de *Nectandra megapotamica* (Lauraceae), com características

florais muito semelhantes às de *O. porosa*, o qual recebia a visita de várias espécies de abelhas e vespas (obs. pess.).

Frankliniella gardenia parece exercer um papel efetivo na polinização de *O. porosa*. Os resultados que definem o sistema reprodutivo da espécie mostram que ela não se reproduz por meio de apomixia e, seguramente, nem por autopolinização espontânea, indicando que a mesma depende de geitonogamia e/ou xenogamia. Em *Macaranga hullettii* (Euphorbiaceae) ensaios controlados permitindo somente o acesso de tripes demonstram sua alta eficiência como polinizador (Moog *et al.*, 2002).

A grande quantidade de flores oferecidas por *O. porosa* permite a formação de frutos em quantidade que parece ser viável para sua manutenção local. Por outro lado, a intensa exploração madeireira sofrida nas últimas décadas, diminuindo a densidade local das populações, afastando ou até mesmo isolando muitos indivíduos, pode ter reduzido as chances de polinização cruzada por tripes e limitado as populações a cruzamentos autogâmicos. Assim, se a redução da densidade inviabiliza a polinização cruzada por tripes, a presença de autocompatibilidade pode garantir a reprodução da espécie e ser de grande valia para sua conservação, visto que *O. porosa* se encontra na lista oficial de espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção (IBAMA, 2008). No entanto, neste cenário, uma elevada autogamia poderia, em longo prazo, alterar a estrutura genética das populações, reduzir a diversidade e, eventualmente, levar ao declínio populacional (Holsinger, 2000). Esta hipótese parece ser corroborada por estudos sobre a caracterização da estrutura genética de *O. porosa*, realizados no sul do Brasil. Estes estudos mostram que indivíduos jovens apresentam um índice de fixação gênica (alélica) superior ao dos adultos, o que sugere que a prole é mais homocigota que a população parental (Bittencourt, dados não publicados). Não se pode descartar a hipótese de que as populações da espécie apresentem redução na viabilidade da prole gerada

por autogamia, caracterizando a ocorrência de depressão endogâmica, apesar desta não ter sido detectada nos tratamentos de autopolinização manual.

A consistência de uma ou outra hipótese pode orientar o manejo da espécie. Se houver depressão endogâmica nas populações e o aumento da distância, resultante da exploração da espécie, realmente estiver limitando estas populações a cruzamentos endogâmicos, a prole gerada pela polinização por tripes não se estabelecerá. Isto explicaria os baixos índices de regeneração encontrados para a espécie, inclusive no local de estudo (Amato, dados não publicados). Neste caso, uma das estratégias essenciais para a recuperação de *Ocotea porosa* seria a conservação dos indivíduos remanescentes e o aumento da densidade populacional, a fim de diminuir a distância entre os indivíduos, potencializar a ocorrência de polinização cruzada e conseqüentemente aumentar a variabilidade genética dentro das populações.

Os resultados do presente estudo levantam a hipótese de que a ineficiência na capacidade de deslocamento de tripes, associada à autocompatibilidade da maioria das espécies monóicas onde são encontrados, pode ser um indicativo de que este é um polinizador eficiente apenas em sistemas autogâmicos ou em populações de espécies com alta densidade e distribuição agregada.

FINANCIAMENTO

Este trabalho foi apoiado pela Empresa Brasileira de Pesquisas Agropecuárias - Embrapa/Florestas (projeto 438/04, plano de ação 02.03.02.500/03) e pela CAPES através da concessão da bolsa à Aline Danieli da Silva.

AGRADECIMENTOS

Nós agradecemos aos laboratórios de Anatomia Vegetal, Histotécnica e Botânica Estrutural da UFPR pelo uso de suas instalações. A Adriano Cavalleri (UFRGS) pelo auxílio

na identificação da espécie de tripes, Elaine Nunes (UFPR) pelo auxílio na descrição anatômica das flores, Maurício Sedrez dos Reis (UFSC), Paulo Eugênio M. de Oliveira (UFU) e Renato Goldenberg (UFPR) pela leitura crítica deste trabalho. This paper is dedicated to the late memory of the "caboco imbuia" José Plínio Baptista.

LITERATURA CITADA

- Affre L, Thompson JD, Debussche M. 1995.** The reproductive biology of the Mediterranean endemic *Cyclamen balearicum* Willk. (Primulaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* **118**: 309–330.
- Aigner PA. 2004.** Ecological and genetic effects on demographic processes: pollination, clonality and seed production in *Dithyrea maritima*. *Biological Conservation* **116**: 27–34.
- Ananthakrishnan TN. 1982.** Thrips and pollination biology. *Current Science* **51**: 168–172.
- Ananthakrishnan TN. 1993.** The role of thrips in pollination. *Current Science* **65**: 262–264.
- APG II 2003.** An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. The angiosperm phylogeny group. *Botanical Journal of the Linnean Society* **141**: 399–436.
- Barros MAG. 1992.** Fenologia da floração, estratégias reprodutivas e polinização de espécies simpátricas do gênero *Byrsonima* Rich (Malpighiaceae). *Revista Brasileira de Biologia* **52**: 343–353.
- Bawa KS. 1974.** Breeding systems of tree species of a lowland tropical community. *Evolution* **28**: 85–92.
- Bawa KS. 1980.** Evolution of dioecy in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* **11**: 15–39.

- Bawa KS, Perry DR, Beach JH. 1985.** Reproductive biology of tropical lowland rain forest trees. I. sexual systems and incompatibility mechanisms. *American Journal of Botany* **72**: 331–345.
- Carvalho PER. 2003.** *Espécies arbóreas Brasileiras*. Embrapa Informação Tecnológica; Colombo, PR: Embrapa Florestas, Brasília.
- Castella PR, Britez RM. 2004.** *A floresta com Araucária no Paraná: conservação e diagnóstico de remanescentes florestais*. Brasília: PROBIO, MMA.
- Chanderbali AS, van der Werff H, Renner SS. 2001.** Phylogeny and historical biogeography of Lauraceae: evidence from the chloroplast and nuclear genomes. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **88**: 104–134.
- Condit R, Ashton PS, Baker P, Bunyavejchewin S, Gunatilleke S, Gunatilleke N, Hubbell SP, Foster RB, Itoh A, LaFrankie JV, Lee HS, Losos E, Manokaran N, Sukumar R, Yamakura T. 2000.** Spatial patterns in the distribution of tropical tree species. *Science* **288**: 1414–1418.
- Cornara L, Borghesi B, Caporali BE, Casazza G, Roccotiello E, Troiano G, Minuto L. 2005.** Floral features and reproductive ecology in *Thymelaea hirsuta* (L.) Endl. *Plant Systematics and Evolution* **250**: 157–172.
- Dafni A. 1992.** *Pollination ecology: a practical approach*. New York: Oxford University Press.
- Endress PK. 1986.** Reproductive structure and phylogenetic significance of extant primitive angiosperms. *Plant Systematics and Evolution* **152**: 1–28.
- Eriksson O, Bremer B. 1993.** Genet dynamics of the clonal plant *Rubus saxatilis*. *Journal of Ecology* **81**: 533–542.
- Fedorov AA. 1966.** The structure of the tropical rain forest and speciation in the humid tropics. *Journal of Ecology* **54**: 1–11.

- Gibbs PE, Oliveira PE, Bianchi MB. 1999.** Postzygotic control of selfing in *Hymenaea stigonocarpa* (Leguminosae-Caesalpinioideae), a bat-pollinated tree of the Brazilian cerrados. *International Journal of Plant Science* **160**: 72–78.
- Gibson JP, Wheelwright NT. 1996.** Mating system dynamics of *Ocotea tenera* (Lauraceae), a gynodioecious tropical tree. *American Journal of Botany* **83**: 890–894.
- Goldenberg R, Varassin IG. 2001.** Sistemas reprodutivos de espécies de Melastomataceae da Serra do Japi, Jundiá, São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* **24**: 283–288.
- Gómez JM. 2002.** Self-pollination in *Euphrasia willkommii* Freyn (Scrophulariaceae), an endemic species from the alpine of the Sierra Nevada (Spain). *Plant Systematics and Evolution* **232**: 63–71.
- Gusson E, Sebbenn AM, Kageyama PY. 2006.** Sistema de reprodução em populações de *Eschweilera ovata* (Cambess.) Miers. *Revista Árvore* **30**: 491–502.
- Haig D, Westoby M. 1988.** On limits to seed production. *American Naturalist* **131**: 757–759.
- Hamrick JL, Godt MJW, Sherman-Broyles SL. 1992.** Factors influencing levels of genetic diversity in woody plant species. *New Forests* **6**: 95–124.
- Holsinger KE. 2000.** Reproductive systems and evolution in vascular plants. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* **97**: 7037–7042.
- IBAMA.** Lista oficial de espécies da flora brasileira ameaçadas de extinção. Instrução Normativa de setembro de 2008.
- Kageyama PY, Cunha GC da, Barreto KD, Gandara FB, Camargo FRA, Sebbenn AM. 2003.** Diversidade e autocorrelação genética espacial em populações de *Ocotea odorifera* (Lauraceae). *Scientia Forestalis*. **64**: 108–119.
- Karron JD. 1989.** Breeding systems and levels of inbreeding depression in geographically restricted and widespread species of *Astragalus* (Fabaceae). *American Journal of Botany* **76**: 331–340.

- Kirk WDJ. 1984.** Pollen feeding in thrips (Insecta: Thysanoptera). *Journal of Zoology* **204**: 107–117.
- Maack R. 1981.** *Geografia Física do Estado do Paraná*, 2 ed. J. Olympio- Secretaria da Cultura e do Esporte do governo do Paraná, Rio de Janeiro.
- Martin FN. 1959.** Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Technology* **34**: 125–128.
- Mittermeier RA, Da Fonseca GAB, Rylands AB, Brandon K. 2005.** A Brief History of Biodiversity Conservation in Brazil. *Conservation Biology* **19**: 601–607.
- Momose K, Nagamitsu T, Inoue T. 1998.** Thrips cross-pollination of *Popowia pisocarpa* (Annonaceae) in a lowland dipterocarp forest in Sarawak. *Biotropica* **30**: 444–448.
- Moog U, Fiala B, Federle W, Maschwitz U. 2002.** Thrips pollination of the dioecious ant plant *Macaranga hullettii* (Euphorbiaceae) in southeast Asia. *American Journal of Botany* **89**: 50–29.
- Moraes PLR, Derbyshire MTVC. 2002.** Estrutura genética de populações naturais de *Cryptocarya aschersoniana* mez (Lauraceae) através de marcadores isoenzimáticos. *Biota Neotropica* **v2** (n2) - BN02402022002
- Moraes PLR, Monteiro R. 2002.** Taxas de cruzamento em uma população natural de *Cryptocarya moschata* nees (Lauraceae). *Biota Neotropica* **2**: 29–38.
- Neel MC, Ellstrand NC. 2003.** Conservation of genetic diversity in the endangered plant *Eriogonum ovalifolium* var. *vineum* (Polygonaceae). *Conservation Genetics* **4**: 337–352.
- Neto OC, Lopes AVF, Machado IC. 2007.** Ecologia da Polinização de *Inga striata* (Benth.) (Leguminosae-Mimosoideae) em um remanescente de Mata Atlântica no Nordeste do Brasil. *Revista Brasileira Biociências* **5**: 570–572.
- Norton SA. 1984.** Thrips pollination in the lowland forest of New Zealand. New Zealand. *Journal of Ecology* **7**: 157–164.

- Oliveira AF, Carvalho D, Rosado SCS. 2002.** Taxa de cruzamento e sistema reprodutivo de uma população natural de *Copaifera langsdorffii* Desf. na região de Lavras (MG) por meio de isoenzimas. *Revista Brasileira de Botânica* **25**: 331–338.
- Oliveira PE, Sazima M. 1990.** Pollination biology of two species of *Kielmeyera* (Guttiferae) from Brazilian cerrado vegetation. *Plant Systematics and Evolution* **172**: 35–49.
- Oliveira PE, Gibbs PE, Barbosa AA, Talavera S. 1992.** Contrasting breeding systems in two *Eriotheca* (Bombacaceae) species of the Brazilian cerrados. *Plant Systematics and Evolution* **179**:207–219.
- Oliveira PE, Gibbs P. 1994.** Pollination biology and breeding systems of six *Vochysia* species (Vochysiaceae) in Central Brazil. *Journal of Tropical Ecology* **10**: 509–522.
- Ortega Olivencia A, Claver JPC, Alcaraz JAD. 1995.** Floral and reproductive biology of *Drosophyllum lusitanicum* (L.) link (Droseraceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*. **118**: 331–351.
- Parra-Tabla V, Bullock SH. 1998.** Factors limiting fecundity of the tropical tree *Ipomoea wolcottiana* (Convolvulaceae) in a Mexican tropical dry forest. *Journal of Tropical Ecology* **14**: 615–627.
- Proença CEB, Gibbs PE. 1994.** Reproductive biology of eight sympatric Myrtaceae from Central Brazil. *New Phytologist* **126**: 343–354.
- Radford AE, Dickison WC, Massey JR, Bell RC, Seiler MS. 1974.** *Vascular plant systematics*. Harper & Row, New York.
- Reis MS. 1996.** Dinâmica da movimentação dos alelos: subsídios para conservação e manejo de populações naturais em plantas. *Revista Brasileira de Genética* **19**: 37– 47.
- Reitz R, Klein RM, Reis A. 1978.** *Projeto Madeira de Santa Catarina*. *Sellowia* 28–30: 1-320.

- Rohwer JG. 1993.** Lauraceae. In, Kubitzki K, Rohwer JG, Bittrich V, eds. *The families and genera of vascular plants. Flowering plants. Dicotyledons*. Berlin, Springer-Verlag, 2: 366–391.
- Sakai S. 2001.** Thrips pollination of androdioecious *Castilla elastica* (moraceae) in a seasonal tropical forest. *American Journal of Botany* **88**: 1527–1534.
- Schaaf LB, Figueiredo Filho A, Galvão F, Sanquetta CR, Longhi SJ. 2006.** Modificações florístico-estruturais de um remanescente de Floresta Ombrófila Mista Montana no período entre 1979 e 2000. *Ciência Florestal* **16**: 271–291.
- Scobie AR, Wilcock CC. 2009.** Limited mate availability decreases reproductive success of fragmented populations of *Linnaea borealis*, a rare, clonal self-incompatible plant. *Annals of Botany* **103**: 835–846.
- Sutherland S, Delph F. 1984.** On the importance of male fitness in plants: patterns of fruit-set. *Ecology* **65**: 1093–1104.
- Teixeira LAG, Machado CI. 2000.** Sistema de polinização e reprodução de *Byrsonima sericea* dc. (Malpighiaceae). *Acta Botanica Brasilica* **14**: 347–357.
- Terry LI. 2001.** Thrips and weevils as dual, specialist pollinators of the Australian Cycad *Macrozamia communis* (Zamiaceae). *International Journal of Plant Sciences* **162**: 1293–1305.
- Varty N, Guadagnin DL. 1998.** *Ocotea porosa*, em: 2008 IUCN *Red List of Threatened Species*. <www.iucnredlist.org>. Acessado em 14 de janeiro de 2009.
- Vogel S. 1963.** Duftdrüsen im Dienste der Bestäubung: Über Bau und Funktion der Osmophoren. *Abhandlungen der Akademie der Wissenschaften und der Literatur in Mainz Mathematisch-Naturwissenschaftlichen Klasse* **10**: 601–763.

- Wang Z-S, An S-Q, Liu H, Leng X, Zheng J-W, Liu Y-H. 2005.** Genetic Structure of the Endangered Plant *Neolitsea sericea* (Lauraceae) from the Zhoushan Archipelago Using RAPD Markers. *Annals of Botany* **95**: 305–313.
- Werff H, Ritcher HG van der. 1996.** *Toward and improved classification of Lauraceae.* Annals of the Missouri Botanical Garden, v.8, p 419–432.
- Wolf AT, Harrison SP. 2001.** Effects of habitat size and patch isolation on reproductive success of the serpentine morning glory. *Conservation Biology* **15**: 111–121.
- Worboys SJ, Jackes BR. 2005.** Pollination processes in *Idiospermum australiense* (Calycanthaceae), an arborescent basal angiosperm of Australia's tropical rain forests. *Plant Systematics and Evolution* **251**: 107–117.
- Yi-Bo L, Zhen-Yu. 1999.** Pollination Ecology of *Chloranthus serratus* (Thunb.) Roem. et Schult. And *Ch. fortunei* (A. Gray) Solms-Laub. (Chloranthaceae). *Annals of Botany* **83**: 489–499.
- Zar JH. 1996.** *Biostatistical analysis.* New Jersey: Prentice-Hall. New Jersey. 662p.
- Zeisler M. 1938.** Über die Abgrenzung der eigentlichen Narbenfleche mit Hilfe von Reaktionen. *Beihefte zum Botanischen Zentralblatt* **58**: 308–318.
- Zerega NJC, Mound LA, Weiblen GD. 2004.** Pollination in the New Guinea endemic *Antiaropsis decipiens* (Moraceae) is mediated by a new species of thrips, *Thrips antiaropsidis* sp. nov. (thysanoptera: thripidae). *International Journal of Plant Sciences* **165**:1017–1026.

Fig. 1. Meio de acesso às copas dos indivíduos de *Ocotea porosa*. A) Andaime (indivíduo localizado no interior do fragmento) e B) Caminhão tipo “Munck” (indivíduos localizados na borda do fragmento).

Fig. 2. Flor de *Ocotea porosa* A) microscopia de varredura mostrando a abertura das valvas de suas anteras; (ANI) antera interna com abertura extrorsa, (ANE) antera externa com abertura introrsa, e a diferença na quantidade de tricomas em suas tépalas (TEI) tépala interna e (TEE) tépala externa; B) Flor de *Ocotea porosa* no segundo dia de antese; (TE) tépala, (STE) estame externo, (NE) nectário, (STI) estame interno e (PI) pistilo; C) microscopia de varredura do nectário na flor em antese; D) microscopia de varredura do nectário na fase de botão. Escalas, a = 1 mm; b = 1 mm c = 100 μ m; d = 100 μ m.

Fig. 3. Crescimento do tubo polínico de *Ocotea porosa* em ensaio de autopolinização manual, após 72 h da deposição de pólen no estigma da flor; A) tubo polínico chegando ao ovário da flor e B) tubo polínico chegando ao rudimento seminal. As fotos foram tiradas em microscópio de epi-fluorescência (Zeiss Axioplan) e as setas indicam o início do ovário (a) e do rudimento seminal (b). Escalas, a = 50 μ m e b = 10 μ m.

Fig. 4. Indivíduo adulto de *Frankliniella gardenia*. Escala 500 μ m.

Tabela 1. Valores médios de viabilidade polínica para cada indivíduo de *Ocotea porosa* nas diferentes fases de antese da flor. Considerando a origem do pólen, se de estame externo (EE) ou interno (EI).

Indivíduo/Origem do pólen	Fases da antese			
	Botão	1° dia	2° dia	3° dia
1/EE	98	91	99	84
1/EI	98	91	98	—
2/EE	100	98	99	97
2/EI	99	99	96	—
3/EE	100	100	100	86
3/EI	100	98	96	—

Tabela 2. Percentual do número de frutos formados por tratamento de polinizações controladas em *Ocotea porosa*, considerando apenas o número de flores testadas.

Tratamentos	Nº de flores	% de frutos
Polinização aberta / natural (PA)	150	10
Apomixia (AP)	150	0
Autopolinização espontânea (AE)	150	5
Autopolinização manual com pólen do estame externo (AME)	100	56
Auto polinização manual com pólen do estame interno (AMI)	100	74
Polinização cruzada com pólen do estame externo (PCE)	100	60
Polinização cruzada com pólen do estame interno (PCI)	100	55
Auto polinização manual (AM) sem considerar a origem do pólen (AMI+AME)	200	65
Polinização cruzada (PC) sem considerar a origem do pólen (PCI+PCE)	200	58

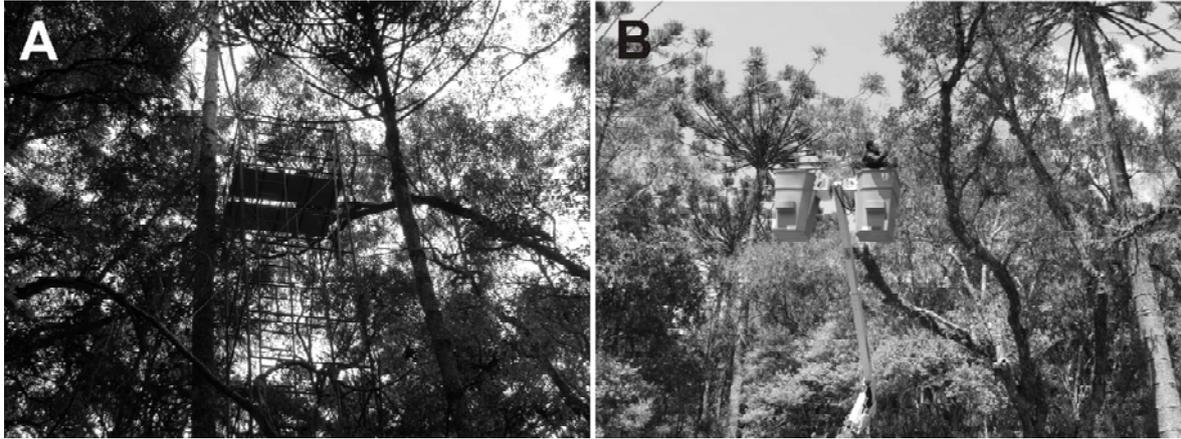


Fig. 1.

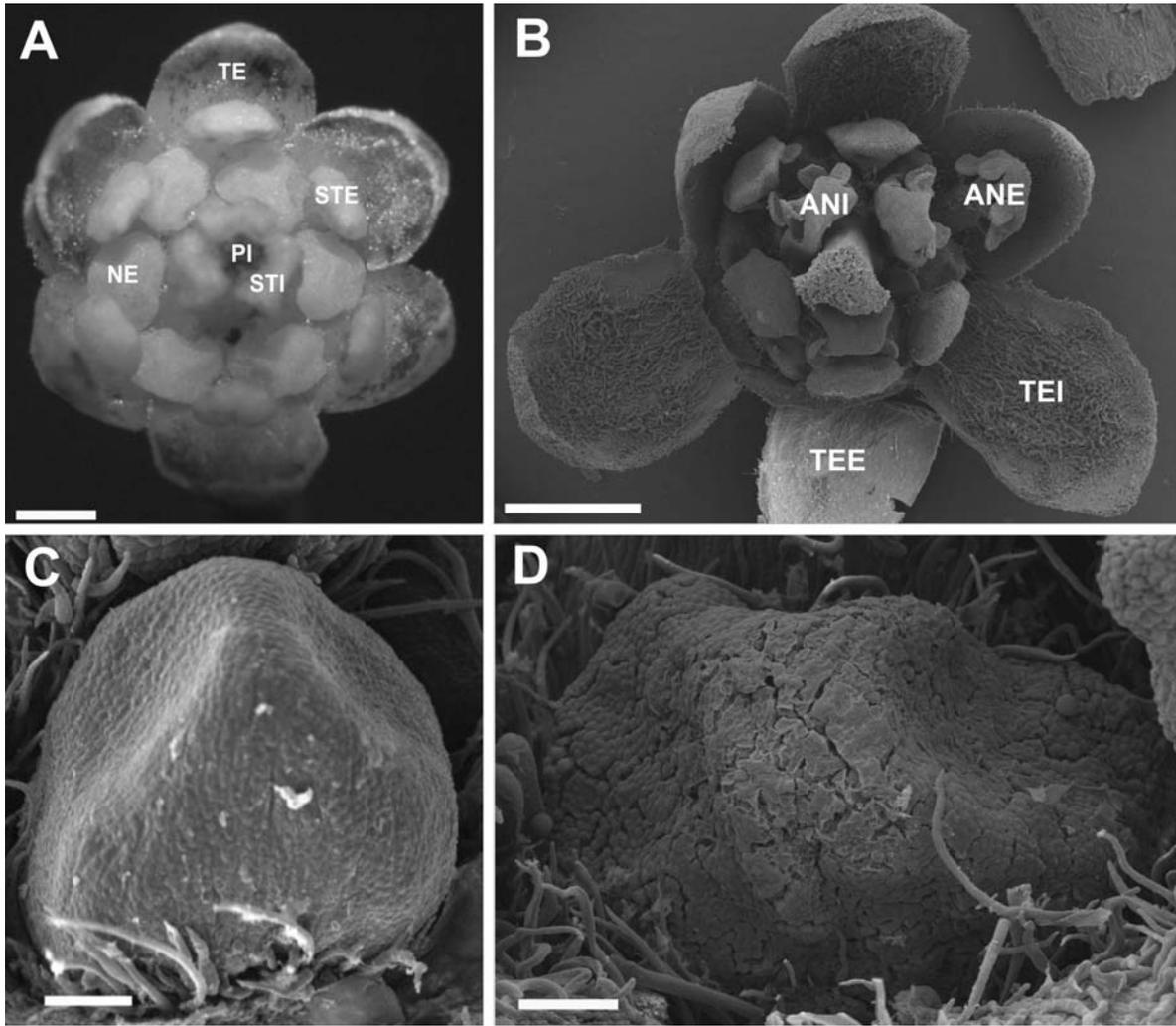


Fig. 2.

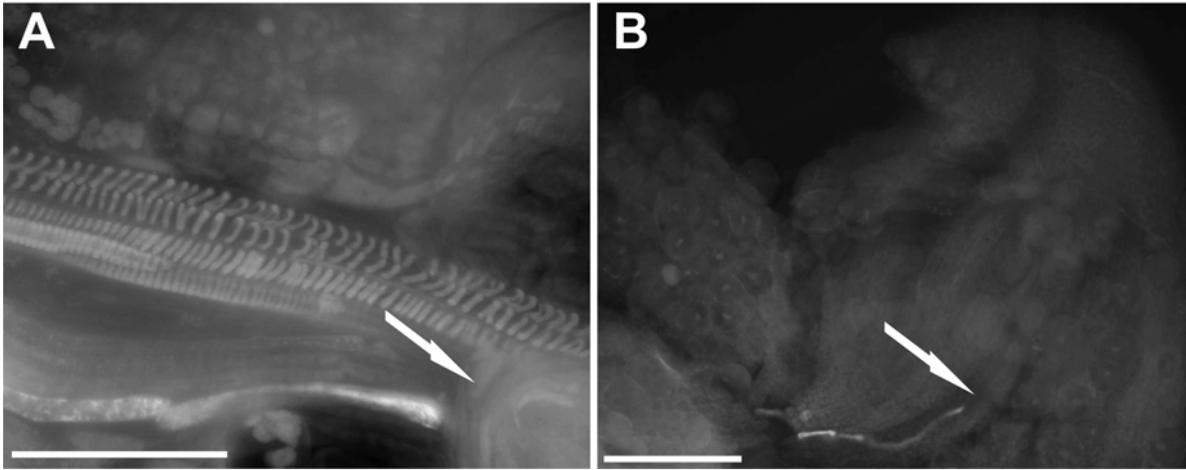


Fig. 3.

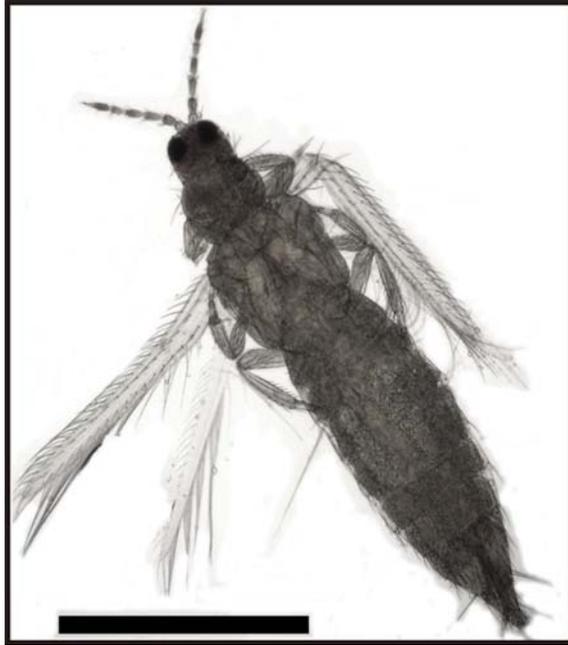


Fig. 4.