

## **Programa Nacional de Pós-Doutorado (PNPD)**

### **Universidade Federal do Paraná (UFPR)**

### **Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação (PPGECO)**

#### **Pós-doutoranda: Francismeire Jane Telles da Silva**

Título do projeto de pesquisa: Refletância espectral de espécies de Melastomataceae e sua correlação com as estratégias reprodutivas e o sistema visual das abelhas polinizadoras.

In collaboration with: Prof. Dr. Renato Goldenberg (UFPR), Profa. Dra. Isabela Galarda Varassin (UFPR), Prof. Dr. Laércio Peixoto do Amaral Neto (UFPR) and Dr. Vinicius Brito (UFU).

#### **Síntese do projeto:**

Aproximadamente 20.000 espécies de plantas estão adaptadas para a polinização por abelhas, e oferecem apenas pólen como recompensa aos seus polinizadores. Estas plantas devem enfrentar uma tarefa difícil entre atrair os visitantes florais, que atuarão como vetores na transferência de pólen, e evitar aqueles que atuarão como pilhadores. Uma das estratégias desenvolvidas por esse tipo de plantas é conhecida como “divisão de trabalho”. A divisão de trabalho é caracterizada por modificações na posição, tamanho, cor e forma das anteras, causando um dimorfismo e separando-as em conjuntos. Dentro desse dimorfismo, um conjunto de estames estaria relacionado às necessidades dos polinizadores por pólen (chamados de estames de alimentação), enquanto o outro conjunto (chamado de estames de polinização) estaria relacionado à necessidade da planta na transferência de pólen. Para que a estratégia fosse efetiva, os estames de alimentação deveriam ser especialmente atrativos para os visitantes florais, enquanto que os estames de polinização deveriam ser inconspícuos, apresentando uma coloração muito parecida àquela das pétalas. Acredita-se que a divisão de trabalho tenha evoluído como resultado de uma seleção mediada por polinizadores.

A diversificação na forma e função das flores está associada com uma impressionante variedade de estratégias reprodutivas (Barrett et al., 2010). A seleção de características florais mediadas por polinizadores ou visitantes florais pode ser um importante fator moldando os padrões de variações e covariações nos rasgos florais (Rosas-Guerrero et al., 2011). Abelhas, como o único grupo de visitantes florais capazes de remover o pólen das anteras poricidas de Melastomataceae, são visualmente atraídas e guiadas por diferentes cores, tanto das pétalas como por estruturas relacionadas (como guias nectaríferos, anteras, etc). Os sinais florais incluem uma grande variedade de cores, com uma característica geral em comum: a grande maioria das cores das flores possui uma alta pureza espectral (saturação na visão humana) quando comparadas com vários planos de fundo, como as próprias folhas das plantas aonde essas flores são encontradas (Lunau et al., 1996). A capacidade de atração de uma cor está relacionada com a sua detecção contra um determinado plano de fundo (Lunau, 1990). Portanto, a cor das flores e especialmente daquelas plantas que apenas oferecem pólen como recompensa, deveriam ser mais atrativas e conspícuas quando comparadas com a cor do plano de fundo prevalente no habitat aonde elas estão presentes (Binkenstein and Schaefer,

2015). Não apenas as cores das pétalas, as quais podem ajudar durante a detecção à longa distância, mas também a cor das estruturas reprodutivas, especialmente os estames, os quais geralmente ativam uma resposta comportamental inata, confirmando a escolha inicial da abelha e guiando-a durante o pouso quando à distancias mais curtas (Lunau et al., 1996).

Globalmente, se todas essas predições são verdadeiras, deveríamos esperar que plantas que dependem de vetores para transferência de pólen apresentem um (a) alto contraste entre as estruturas florais e o plano de fundo aonde elas estão, assim como (b) diferenças significantes no contraste produzido pelos dois conjuntos de estames quando comparados com as pétalas, validando em algum grau, a teoria de divisão de trabalho. Nesse estudo, pretendemos investigar diferenças na coloração das flores e associa-las às estratégias reprodutivas – espécies dependentes ou não de visitantes florais - apresentadas por algumas espécies de Melastomataceae, através de análises quantitativas de refletância espectral. Especificamente, tentamos responder às seguintes perguntas relacionadas com as medidas de refletância espectral das flores: (1) Flores que apresentam dependência de vetores (polinizadores) para reprodução diferem quanto á cor em comparação com plantas cuja reprodução é assexuada? (2) Plantas que dependem de visitantes florais possuem cores mais intensas, resultando mais atrativas a longas distancias, quando comparadas com aquelas independentes de polinizadores para reprodução? (3) quando dois conjuntos de estames estão presentes, indicando uma possível estratégia de divisão de trabalho, existe uma diferença significativa quanto ao contraste produzido contra as pétalas, fazendo um conjunto de estames mais atrativo quando comparado com o outro conjunto tendo em consideração o sistema visual das abelhas?

Aparte disso, e como parte de uma colaboração com outro grupo de pesquisa, dados morfométricos serão coletados das plantas estudadas. Esse estudo morfométricos tem como objetivo relacionar às estruturas reprodutivas com as vegetais, baixo a hipótese de que plantas que dependem de polinizadores terão estruturas reprodutivas mais relacionadas entre si, claramente diferindo das medidas morfométricas de estruturas vegetais. Por outro lado, aquelas espécies que não sofreram nenhum tipo de pressão seletiva por parte dos polinizadores deveriam apresentar ambas estruturas reprodutivas e morfológicas mais correlacionadas entre si. Análises morfométricas serão utilizadas para determinar variações ou semelhanças (1) entre espécies, (2) dentro de espécies e (3) entre indivíduos da mesma espécie. Esperamos que para todos esses níveis haverá uma baixa integração entre estruturas florais e vegetativas nas espécies dependentes de vetores para transferência de pólen quando comparadas com espécies que apresentam determinado grau de independência de polinizadores para reprodução.

Um modelo de planta para se estudar essas diferenças e testar a teoria de divisão de trabalho é a família Melastomataceae. A familia Melastomataceae tem sido amplamente amostrada e estudada dentro do Parque Estadual do Guartelá (PEG) e o sistema reprodutivo da grande maioria das espécies presentes no Parque já foi caracterizado (Maia et al., 2016). O PEG apresenta a estrutura necessária para o desenvolvimento da pesquisa de campo proposta abaixo. A metodologia do trabalho não será apresentada de maneira exaustiva, mas com a intenção de ser concisa.

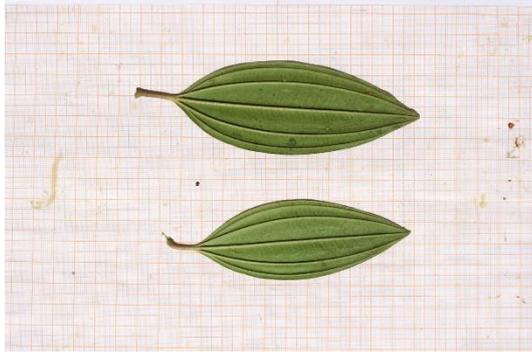
### Protocolo geral das amostragens:

Visitas semanais serão feitas ao PEG conforme o período de floração das diferentes espécies da família Melastomataceae selecionadas para o estudo. As visitas serão entre os meses de Junho à Janeiro. Uma vez os indivíduos em floração forem identificados, seguiremos o seguinte protocolo:

1. Selecionaremos cinco indivíduos de cada espécie;
2. De cada indivíduo coletaremos um ramo com folhas (2) e botões florais (5). Por tratar-se de um equipamento delicado (espectrofotômetro), as medidas de refletância espectral serão realizadas na UFPR. Os ramos de cada indivíduo serão coletados e transportados até as instalações da Universidade. Como os ramos conterão botões florais, estes serão preservados em esponja vegetal hidratada em água até o dia seguinte, quando então ocorreria a abertura dos mesmos. Após a abertura desses botões as seguintes medidas serão coletadas:
3. Medidas de refletância espectral:
  - 3.1. Usando um espectrofotômetro (Ocean Optics, USB 4.000), mediremos a refletância espectral das pétalas e anteras de três flores recém-abertas.
  - 3.2. Os dados de refletância espectral serão tratados usando scripts específicos (pacote PAVO) no programa R (R Core Team, 2013) e posteriormente analisados segundo o sistema visual de diferentes espécies de abelhas (Peitsch et al., 1992; Telles and Rodríguez-Gironés, 2015) identificadas na literatura como polinizadoras/visitantes das flores de Melastomataceae (Maia et al., 2016).
4. Análises morfométricas:
  - 4.1. As duas flores restantes do ramo de cada indivíduo serão ordenadas em papel milimétrico e uma foto será tomada para futuras medições dos tamanhos através do computador.



- 4.2. O mesmo procedimento será realizado para as folhas.



4.3. Após as fotos e medidas serem realizadas, os dados serão analisados com programas de geometria morfométrica através de scripts criados no programa R (Chartier et al., 2014).

5. Caracterização do sistema reprodutivo:

5.1. Como previamente comentado, a grande maioria das espécies da família Melastomataceae distribuídas dentro do PEG já tiveram seus sistemas reprodutivos determinados, mas existem algumas poucas espécies cuja estratégia reprodutiva permanece desconhecida. Para essas espécies, três indivíduos serão selecionados. Estes indivíduos terão ramos com botões florais ensacados com bolsas de tela fina até o final do período de floração. Caso haja formação de frutos, a planta claramente não depende de polinizadores para reproduzir-se. O contrário (formação de frutos) estaria indicando que a planta não depende dos serviços de polinizadores.

Referencias Bibliográficas:

- Barrett, S. C. H., Harder, L. D. and Worley, A. C.** (2010). Understanding plant reproductive diversity. *Phil. Trans. R. Soc. B* **365**, 99–109.
- Binkenstein, J. and Schaefer, H. M.** (2015). Flower colours in temperate forest and grassland habitats: a comparative study. *Arthropod. Plant. Interact.* **9**, 289–299.
- Chartier, M., Jabbour, F., Gerber, S., Mitteroecker, P., Sauquet, H., von Balthazar, M., Staedler, Y., Crane, P. R. and Schönenberger, J.** (2014). The floral morphospace--a modern comparative approach to study angiosperm evolution. *New Phytol.* **204**, 841–853.
- Lunau, K.** (1990). Colour saturation triggers innate reactions to flower signals: Flower dummy experiments with bumblebees. *J. Comp. Physiol. A* **166**, 827–834.
- Lunau, K., Wacht, S. and Chittka, L.** (1996). Colour choices of naive bumble bees and their implications for colour perception. *J. Comp. Physiol. A* **178**, 477–489.
- Maia, F. R., Varassin, I. G. and Goldenberg, R.** (2016). Apomixis does not affect visitation to flowers of Melastomataceae, but pollen sterility does. *Plant Biol.* **18**, 132–138.
- Peitsch, D., Fietz, A., Hertel, H., de Souza, J., Ventura, D. F. and Menzel, R.** (1992). The spectral input systems of hymenopteran insects and their receptor-based colour vision. *J. Comp. Physiol. A* **170**, 23–40.
- R Core Team** (2013). R: A language and environment for statistical computing.

- Rosas-Guerrero, V., Quesada, M., Armbruster, W. S., Pérez-Barrales, R. and Smith, S. D.** (2011). Influence of pollination specialization and breeding system on floral integration and phenotypic variation in ipomoea. *Evolution (N. Y.)* **65**, 350–364.
- Telles, F. J. and Rodríguez-Gironés, M. A.** (2015). Insect vision models under scrutiny: what bumblebees (*Bombus terrestris terrestris* L.) can still tell us. *Sci. Nat.* **102**, 1–13.