

Universidade Federal de Uberlândia

Instituto de Biologia



**Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos
Naturais**

**ECOLOGIA REPRODUTIVA DE ESPÉCIES DE *PSYCHOTRIA*
L. (RUBIACEAE) EM FRAGMENTOS DE FLORESTA
ESTACIONAL SEMIDECIDUAL**

Ebenézer Barbosa Rodrigues

2013

Ebenézer Barbosa Rodrigues

**ECOLOGIA REPRODUTIVA DE ESPÉCIES DE *PSYCHOTRIA*
L. (RUBIACEAE) EM FRAGMENTOS DE FLORESTA
ESTACIONAL SEMIDECIDUAL**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais.

Orientador: Dr. Paulo Eugênio Alves Macedo de Oliveira

UBERLÂNDIA
2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

R696e Rodrigues, Ebenézer Barbosa, 1987-
2013 Ecologia reprodutiva de espécies de *Psychotria* L. (Rubiaceae)
em fragmentos de floresta estacional semidecidual / Ebenézer
Barbosa Rodrigues. -- 2013.
68 f. : il.

Orientador: Paulo Eugênio Alves Macedo de Oliveira.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia,
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Re-
cursos Naturais.
Inclui bibliografia.

1. Ecologia - Teses. 2. Rubiaceae. - Teses. 3. *Psychotria* - Teses.
I. Oliveira, Paulo Eugênio Alves Macedo de. II. Universidade Fede-
ral de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Con-
servação de Recursos Naturais. III. Título.

CDU: 574

Ebenézer Barbosa Rodrigues

**ECOLOGIA REPRODUTIVA DE ESPÉCIES DE *PSYCHOTRIA*
L. (RUBIACEAE) EM FRAGMENTOS DE FLORESTAS
ESTACIONAIS SEMIDECIDUAIS**

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Uberlândia, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais.

APROVADA em 07 de Março de 2013.

Prof. Dr. Hélder Nagai Consolaro
Membro Titular - UFG Campus Catalão

Prof. Dr. Rogério Rodrigues Faria
Membro Titular - UFMS

Prof. Dr. Paulo Eugênio Alves Macedo de Oliveira
Orientador – UFU

Prof. Dr. Francielle Paulina de Araújo
Membro Suplente -UFU

UBERLÂNDIA
Março – 2013

Agradecimentos

Expresso aqui minha gratidão aos que participaram de mais essa etapa da vida concluída. Agradeço a Deus e a meus pais, sobretudo a minha mãe Lucimar pelo amor, apoio e subsídio sempre incondicionais em tudo quanto me foi necessário. A minha avó Ermelinda, pelo apoio e alento nos momentos difíceis e a meu pai pelo incentivo e palavras amigas. Sou grato pela confiança e a orientação do Dr. Paulo Eugênio de Oliveira, imprescindíveis na construção e elaboração dessa pesquisa e a banca avaliadora pelas críticas e sugestões para melhoria da dissertação.

Agradeço também aos grandes amigos (Edvaldo Neto, Danilo Moura, Faimison Porto e Pablo Natal) que mesmo distantes velaram por mim e deram forças nessa jornada. Aos amigos e companheiros de república durante o mestrado (Jonas Maravalhas, Thomás Duarte e Oscar Perdomo) que muito auxiliaram na coleta de dados, pelo companheirismo e amizade que refletiram muito em meu crescimento pessoal e acadêmico.

Deixo registrada minha gratidão a Túlio Filgueira, Raphael Matias, Marco Túlio e Hélder Consolaro, amigos e parceiros de pesquisa em distília e biologia reprodutiva de plantas da Universidade Federal de Goiás – Campus Catalão, que muito ajudaram na formulação do pensamento científico sobre as mais diversas questões ecológicas e evolutivas dos sistemas de reprodução em espécies vegetais.

Meu carinho especial a Schneider Caixeta pelo incentivo, fé, paciência e amor dedicados durante a vida e o mestrado, pelas palavras de cumplicidade, ânimo e amparo e pela partilha dificuldades e conquistas que ocorreram ao longo desses anos.

Agradeço também aos curadores dos herbários visitados para a coleta de dados, e aos amigos da 14ª Turma de Mestrado em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais da Universidade Federal de Uberlândia, que tornaram felizes e prazerosos e inesquecíveis esses anos de convivência e aprendizado. Sou muito grato à secretária do Programa de Pós-Graduação em Ecologia, Maria Angélica, pelo acolhimento, destreza e carinho em solucionar as inúmeras necessidades e solicitações dos alunos que sempre batiam desesperados a sua porta. Meus agradecimentos ao apoio financeiro prestado pelo Programa de Pós Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais durante o mestrado e a FAPEMIG pela bolsa de pesquisa concedida.

ÍNDICE

RESUMO	II
ABSTRACT	IV
Introdução Geral	01
Referências Bibliográficas	05
Capítulo 1: Variações na manifestação da distília em espécies de <i>Psychotria</i> L. ocorrentes em sub-bosque de florestas estacionais do Triângulo Mineiro.	
1. Introdução	09
2. Material e Métodos	13
3. Resultados	17
4. Discussão	31
5. Considerações finais	36
6. Referências Bibliográficas	47
 Capítulo 2: Carga de pólen estigmático, padrões espaciais e populacionais de espécies distílicas de <i>Psychotria</i> L. (Rubiaceae) em florestas estacionais semidecíduais com diferentes níveis de distúrbio antrópico.	
1. Introdução	42
2. Material e Métodos	45
3. Resultados	48
4. Discussão	57
5. Considerações finais	62
6. Referências Bibliográficas	63
Considerações gerais	68

ÍNDICE DE TABELAS E FIGURAS

Figura 1.1: Variações evolutivas da distília: perda de um dos morfos, monomorfismo, ou rearranjo na disposição dos verticilos reprodutivos de modo que eles fiquem em alturas semelhantes, homostília.	10
Tabela 1.1: Fragmentos de floresta estacional semidecidual no Triângulo Mineiro, Minas Gerais, Brasil e suas classificações quanto à quantidade e à classificação do grupo de perturbação antrópicos.	13
Figura 2.1: Áreas de amostragem de características distílicas de populações de <i>Psychotria</i> L. no Triângulo Mineiro, Minas Gerais, Brasil.	14
Tabela 2.1: Características distílicas de populações de <i>Psychotria</i> L. de florestas estacionais semidecíduais do Triângulo Mineiro. Monomorfismo: ocorrência de apenas um monomorfismo nas áreas do estudo.	18
Tabela 3.1: Valores da probabilidade da ocorrência dos morfos distílicos de forma aleatória em populações de <i>Psychotria</i> L. do Triângulo Mineiro.	19
Figura 3.1: Espécies de <i>Psychotria</i> L. que tiveram averiguadas as diferentes manifestações do sistema distílico em nove áreas de floresta estacional semidecidual do Triângulo Mineiro.	20
Tabela 4.1: Índice de reciprocidade de Sanchez <i>et al</i> (2008) de 14 populações de 6 espécies distílicas de <i>Psychotria</i> L. do Triângulo Mineiro.	21
Tabela 5.1: Dados de herbário sobre distribuição geográfica, distília e fitofisionomias de ocorrência de oito espécies <i>Psychotria</i> L.	30
Tabela 1.2: Áreas do estudo, tamanho do transecto amostrado em fragmentos de floresta estacional semidecidual e suas notas finais quanto à intensidade dos impactos antrópicos. ...	46
Tabela 2.2: Características distílicas de populações de <i>Psychotria</i> L. de florestas estacionais semidecíduais do Triângulo Mineiro.....	49
Tabela 3.2: Carga estigmática de pólen de populações de <i>Psychotria</i> L. ocorrentes em 9 áreas de floresta estacional semidecidual do Triângulo Mineiro.	51
Tabela 4.2: Padrão de distribuição de 8 espécies de <i>Psychotria</i> L. de sub-bosque de 10 áreas de florestas estacionais do Triângulo Mineiro.e dos morfos florais distílicos que apresentam.....	52
Tabela 5.2: Densidade de indivíduos reprodutivos em populações de espécies de <i>Psychotria</i> L. ocorrentes em 9 áreas de floresta estacional semidecidual do Triângulo Mineiro	55
Figura 1.2: Relação entre a densidade populacional de espécies do gênero <i>Psychotria</i> L. e a intensidade da perturbação antrópica em florestas estacionais semidecíduais do Triângulo Mineiro, Brasil.....	56

RESUMO

RODRIGUES, Ebenezer B. 2013. Ecologia Reprodutiva de Espécies de *Psychotria* L. (Rubiaceae) em Fragmentos de Floresta Estacional Semidecidual. Uberlândia-MG. Dissertação de Mestrado em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia-MG. 68p.

A distília é um polimorfismo floral regido por fatores genéticos e ecológicos. Espécies distílicas típicas possuem dois morfos florais que ocorrem em igual proporção nas populações, o morfo longistilo, com estigma posicionado acima do nível das anteras e o morfo brevistilo, com pistilo situado abaixo do nível das anteras. Também apresentam posicionamento recíproco dos verticilos reprodutivos masculinos e femininos na flor. E ainda há a presença de um sistema de incompatibilidade que evita a fertilização via autopolinizações e polinizações intramorfo. O objetivo deste estudo foi investigar as características distílicas de espécies de *Psychotria* L. (Rubiaceae) no Triângulo Mineiro, e averiguar se a carga estigmática de pólen, a densidade populacional e a distribuição espacial poderiam explicar as formas de ocorrência da distília encontradas nas espécies estudadas em áreas com diferentes níveis de perturbação antrópica. Foram estudadas 24 populações de 8 espécies de Rubiaceae: *Psychotria capitata* Ruiz & Pav., *P. carthagenensis* Jacq., *P. deflexa* DC., *P. goyazensis* Müll. Arg., *P. hoffmannseggiana* (Willd. ex Roem. & Schult.) Müll. Arg., *P. poeppigiana* Müll. Arg., *P. prunifolia* (Kunth) Steryerm. e *P. trichophoroides* Mull. Arg. A presença de incompatibilidade e isopleτία foram evidenciadas em espécies distílicas típicas. Já as espécies monomórficas apresentaram autocompatibilidade. Espécies distílicas atípicas apresentaram anisopleτία, desvios na proporção de 1:1 entre os morfos florais e monomorfismo longistilo. A hercogamia recíproca entre os morfos não ocorreu de forma perfeita nas os valores encontrados indicaram alta reciprocidade em todas as populações. A intensidade da perturbação antrópica não apresentou relações com a presença ou ausência de isopleτία, hercogamia recíproca e de incompatibilidade nas espécies. As formas de manifestação da distília e de suas variações nas espécies do estudo também foram constatadas em observações realizadas em diferentes herbários do Brasil. As populações apresentaram baixas frequências de carga estigmática de pólen e em algumas ela foi até ausente em algumas flores. A maioria das populações apresenta padrão de distribuição agregado. Padrões espaciais distintos foram encontrados entre os morfos florais de populações anisopléticas, indicando a segregação espacial dos morfos dentro nas populações. A maioria das populações possuem baixas densidades. Foi encontrada uma relação fraca, porém significativa, entre o aumento da intensidade da perturbação antrópica e a redução na densidade das populações de *Psychotria* do estudo. Populações monomórficas de *P. prunifolia* apresentaram maior densidade populacional se comparadas a populações distílicas típicas de *P. hoffmannseggiana*. Anomalias no sistema distílico podem estar relacionadas ao tamanho das populações e são regidos por fatores ecológicos e evolutivos. A presença do monomorfismo e autocompatibilidade pode ser uma vantagem em áreas perturbadas cujos impactos antrópicos podem apresentar limitação à reprodução nessas espécies comparadas á populações distílicas, que necessitam de um fluxo regular de pólen intermorfo para reprodução. A baixa frequência de carga estigmática de pólen pode ser uma evidência de limitação de pólen nas populações. Diferentes padrões espaciais entre os morfos florais parecem ser influenciados pela

anisopletia e resultam em maiores distâncias para que ocorra fluxo de pólen intermorfo e podem representar riscos à reprodução e ao *fitness* destas espécies. Não é possível precisar se as anomalias encontradas na distilia, a possível limitação de pólen e o reduzido tamanho populacional das espécies de *Psychotria* analisadas, são respostas às perturbações ecológicas recentes ou históricas nas áreas de estudo. Além disso, é necessário considerar as influências de efeitos fundadores, eventos estocásticos e das diferentes pressões seletivas que essas espécies e os ecossistemas em que elas ocorrem, foram sujeitas ao longo de sua história de vida, para elucidar os caminhos ecológicos e evolutivos que moldaram a evolução da distilia e de suas variações em espécies do gênero *Psychotria*.

ABSTRACT

RODRIGUES, Ebenezer B. 2013. Reproductive ecology of distylous *Psychotria* L. (Rubiaceae) species in Tropical Semideciduous Forest fragments. Uberlândia-MG. Msc. thesis. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia-MG. 68p.

Distyly is a floral polymorphism governed by genetic and ecological elements. Typical distylous species present two floral morphs that occur in equal proportion on its populations, the pin morph with the stigma positioned above the anthers, and the thrum morph, with the stigma below the anthers height. Distylous flowers also exhibit reciprocal positioning of the anthers and stigma height in the flower. And there is the presence of an incompatibility system that prevents fertilization by selfing and intramorph pollinations. The aim of this study was to investigate the distylous characteristics of *Psychotria* species (Rubiaceae) in the Triângulo Mineiro, and understand whether the stigmatic pollen load, the population density and the spatial distribution of floral morphs, could explain the occurrence of distyly variations found in the studied species, in areas with different levels of anthropogenic disturbance. We studied 24 populations of 9 Rubiaceae species: *Psychotria capitata* Ruiz & Pav., *P. carthagenensis* Jacq., *P. deflexa* DC., *P. goyazensis* Müll. Arg., *P. hoffmannseggiana* (Willd. ex Roem. & Schult.) Müll. Arg., *P. poeppigiana* Müll. Arg., *P. prunifolia* (Kunth) Steryerm. and *P. trichophoroides* Mull. Arg. The presence of incompatibility and isopleth were found in the typical distylous species. Otherwise, monomorphic species presented self-compatibility. Atypical distylous populations showed anisopleth, the deviation in the ratio of 1:1 between the floral morphs and we also registered pin monomorphism in some species. The reciprocal herkogamy between the morphs did not perfectly occur, but high values of reciprocity were evidenced in all populations. The intensity of anthropogenic disturbance showed no relationship with the presence or absence of isopleth, reciprocal herkogamy and incompatibility in the species. The manifestations of distyly and its variations in species of the study were also confirmed in observations made in different Brazilian herbariums. Populations had low frequencies of stigmatic pollen load, and in some of them, pollen grains were absent on its flowers. Most populations presents aggregated distribution pattern. Different spatial patterns were found among the floral morphs of anisopleth populations, indicating a spatial segregation of the floral morphs within the populations. The majority of the populations have low densities. We found a weak but significant relationship, between the increase in intensity of anthropogenic disturbance and the reduction in the density in the *Psychotria* populations of the study. Monomorphic populations of *P. prunifolia* had higher population density compared to typical distylous populations of *P. hoffmannseggiana*. Distylous anomalies may be related to the population size and are governed by ecological and evolutionary factors. The presence of monomorphism and self-compatibility can be an advantage in disturbed areas, whose human impacts may present limitations to the reproduction in these species compared to distylous populations that require a regular intermorph pollen flow for their breeding. The low frequency of stigmatic pollen load may be an evidence of pollen limitation in the analyzed populations. Different spatial patterns among the floral morphs appears to be influenced by the anisopleth, and result in greater distances to occur intermorph pollen flow, and this may represent risks for the reproduction and the fitness of these species. It was not possible to determine whether the anomalies found in distyly, the

possible pollen limitation, and the reduced population size of the analyzed *Psychotria* species, are responses to recent or historical ecological disturbances in the study areas. Moreover, it is necessary to consider the influences of the founder effects, the stochastic events and the different selective pressures that these species and the ecosystems that they occur were subjected throughout their life stories, in order to elucidate the ecological and evolutionary paths that have shaped the evolution of distyly and their variations in the genus *Psychotria*.

Introdução Geral

No domínio do Cerrado são encontradas formações vegetacionais distribuídas em gradientes que apresentam variações consideráveis na sua composição florística e na diversidade de espécies encontradas, indo desde os campos limpos até as formações florestais (Ribeiro & Walter 1998, Ribeiro & Walter 2008). Dentre as formações florestais presentes no Cerrado estão às florestas estacionais semidecíduais (Veloso *et al* 1991). Estas florestas atualmente não formam uma matriz contínua na região, que é dominada por formações vegetacionais abertas. Elas são consideradas como áreas naturais com distribuição atual restrita a fragmentos isolados entre si por outras fitofisionomias, como o cerrado sentido restrito, campos e outras formações florestais (Cardoso & Schiavini 2002, Felfili 2003).

Devido à ocupação desordenada 50% da vegetação natural do Cerrado já foi convertida em paisagens antrópicas (Klink *et al.* 1995, Klink 1996, Mittermayer *et al.* 1999). A fragmentação do habitat em alguns ambientes florestais resulta em sua maioria do produto de pressão humana nesses ecossistemas (Lentini *et al.* 2005). Em florestas tropicais, baixas densidades populacionais podem ocasionar altos níveis de autofertilização e uma potencial especiação por meio de deriva genética em espécies com tamanho populacional reduzido (Federov 1966).

O sub-bosque de florestas tropicais suporta uma flora e uma fauna diferente daquela presente no dossel, muitas espécies de insetos, aves e mamíferos são restritos ao sub-bosque de florestas e a comunidade vegetal desse ecossistema constitui o principal recurso para essa biota (Gentry & Emmons 1987). Estudos realizados em sub-bosque de florestas tropicais geralmente comparam os padrões fenológicos do sub-bosque ao do dossel da floresta (Frankie *et al.* 1974, Hilty 1980) ou realizam uma abordagem taxonômica ou ecológica particular de uma comunidade, descrevendo a interação fenológica das espécies com seus dispersores e polinizadores (Snow 1965, Fleming *et al.* 1977, Stiles 1977, 1978, Hilty 1980, Fleming 1985).

Muitos trabalhos apontam a família Rubiaceae como uma das mais representativas no sub-bosque de florestas neotropicais de uma maneira geral (Gentry & Emmons 1987, Arantes 2002, Martini 2002, Oliveira & Amaral 2005, Kozera *et al* 2009). As Rubiaceae apresentam um amplo espectro de polinizadores e sistemas de reprodução (Robbrecht 1988, Barrett & Richards 1990), mas a distília é o mais comum entre as espécies dessa família do que em todas as outras Angiospermas (Ganders 1979, Barret & Richards 1990, Barret *et al.* 2000). O gênero *Psychotria* L. é o que possui maior número de espécies distílicas dentre as Angiospermas (Baker 1958).

Psychotria é um gênero amplamente parafilético (Nepokroeff *et al.* 1999, Bremer & Manen 2000). É um gênero taxonomicamente complexo devido compreender um grande número de espécies e também pela ausência de características morfológicas que permitam formar grupos, desse modo, as espécies são definidas principalmente com base na ausência de tratos que as definam dentro de outro gênero na tribo Psychotrieae (Nepokroeff *et al.* 1999). Dois subgêneros ocorrem na América do Sul: *Psychotria* subg. *Psychotria* (distribuição pantropical), e *Psychotria* subg. *Heteropsychotria* (distribuição neotropical), que constitui um grupo irmão com *Palicourea* dentro da tribo (Taylor 1996).

A distília é particularmente comum em Psychotrieae, e é considerada uma característica primitiva nessa tribo, de modo que outros sistemas reprodutivos presentes na são atribuídos a alguma variação evolutiva da distília (Hamilton 1990). As características distílicas típicas são a ocorrência de dois morfos florais: o morfo longistilo com estigma localizado acima do nível das anteras; e o brevistilo com estigma localizado abaixo do nível das anteras. Estes morfos ocorrem em isopleia nas populações, ou seja, apresentam uma razão equilibrada em populações distílicas, também ocorre o posicionamento recíproco de estigmas e anteras entre os morfos florais, denominada hercogamia recíproca; e a presença de incompatibilidade a autopolinizações e a polinizações intramorfo (Barret 1992, Kohn & Barret 1992).

Estudos em outras famílias que apresentam a distília indicam o controle de um Supergene na morfologia floral e no sistema de incompatibilidade de espécies distílicas (Richards 1986; Lewis & Jones 1992, Barrett & Shore 2008). Devido a diferentes fatores ecológicos e evolutivos, como o desequilíbrio na relação planta-polinizador e a quebra ou permutação (crossing over) do Supergene, a estrutura floral e/ou a frequência dos morfos pode variar, podendo ocorrer à perda de um dos morfos (monomorfismo) ou ocorrer um rearranjo na disposição dos verticilos reprodutivos de modo que eles situem-se na mesma altura (homostilia) (Ganders 1979). Esses desvios podem ter variação intraespecífica em diferentes níveis, entre flores de um único indivíduo, entre indivíduos de uma população e entre populações distintas (Baker 1966, Ganders 1979, Hamilton 1990, Faivre & Mcdade 2001). Em Rubiaceae o controle da distília por um Supergene ainda não foi explicitado como em outras famílias que apresentam a distília. Ainda não é conhecido se ocorre o controle genético conjunto das características morfológicas e de incompatibilidade de espécies distílicas em Rubiaceae (Consolaro *et al* 2011, Rodrigues & Consolaro 2013).

Em estudos com espécies que apresentam polimorfismos florais foi registrada a ocorrência de espécies com características distílicas atípicas, aquelas com perda de uma das

características distílicas e/ou espécies com características análogas ao sistema reprodutivo distílico. Estudos com as variações nos polimorfismos florais de espécies distílicas as classificaram como espécies heteromorfas anômalas (Barret 1988). Há ocorrência de dimorfismo estilar sem a presença de incompatibilidade dialélica em algumas espécies, como observado em *Guettarda scabra* uma espécie da família Rubiaceae (Richards & Koptur 1987). Outras espécies de gênero *Narcissus* (Amaryllidaceae) um gênero que possui espécies distílicas, apresentaram dimorfismo estilar, mas não havia hercogamia recíproca nessas espécies (Lloyd *et al.* 1990).

Dale (2004) verificou que o tamanho de fragmentos vegetacionais, a densidade populacional e o padrão espacial em que as plantas ocorrem, podem representar influências importantes nas suas interações com polinizadores e herbívoros. Dentre os aspectos que podem afetar a história de vida de espécies vegetais e suas interações em áreas fragmentadas estão o tamanho e o crescimento das populações, os ambientes espacialmente heterogêneos e a presença de outras espécies que possuam interações com essas plantas (Dale 2004). Neste sentido, o entendimento da biologia reprodutiva, dos padrões espaciais dos indivíduos envolvidos na reprodução dessas espécies e a influência das perturbações antrópicas na manutenção das características distílicas, constituem ferramentas ecológicas que permitem compreender as forças que direcionam a quebra ou a manutenção da distília em espécies distílicas de sub-bosque de formações florestais em áreas sujeitas à perturbação antrópica no Triângulo Mineiro do Brasil Central.

O objetivo deste estudo foi investigar as características distílicas de espécies de *Psychotria* L. (Rubiaceae) no Triângulo Mineiro, e averiguar se componentes do fluxo de pólen, a densidade populacional e a distribuição espacial poderiam explicar as formas de ocorrência da distília encontradas nas espécies estudadas em áreas com diferentes níveis de perturbação antrópica. Além de constatar a forma de ocorrência da distília nas espécies estudadas em exsicatas depositadas em herbários do Brasil.

No primeiro capítulo foi analisada a presença de populações distílicas típicas e atípicas nas áreas do estudo e se essas populações apresentavam dimorfismo floral, isopleτία, hercogamia recíproca e reação de incompatibilidade. Neste capítulo também foi averiguado se a intensidade da perturbação antrópica apresentava influência na manifestação da isopleτία, hercogamia recíproca e na presença de incompatibilidade nas espécies. Para constatar se os padrões distílicos encontrados nas áreas do estudo são semelhantes a outras populações das espécies estudadas, também foram realizadas observações de exsicatas das espécies em diferentes herbários do Brasil.

Já no segundo capítulo foi analisada a carga estigmática de pólen e a distribuição espacial e a densidade de populações de *Psychotria* L. com diferentes formas de manifestação da distília e a relação entre a perturbação antrópica e a densidade populacional de espécies distílicas típicas e atípicas em florestas estacionais do Triângulo Mineiro.

Referências Bibliográficas

- ARANTES, A. A. 2002. Florística, fitossociologia e fenologia do estrato herbáceo-arbustivo de um gradiente florestal no Triângulo Mineiro. Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Área de Biologia Vegetal). 225p.
- BAKER, H.G. 1958. Studies in reproductive biology of West African Rubiaceae. *Journal of West African Scientific Association* 4: 9-24.
- BAKER, H.G. 1966. The evolution, functioning and breakdown of heteromorphic incompatibility systems. I. The Plumbaginaceae. *Evolution*: 20: 349-68.
- BARRETT, S.C.H. 1988. Evolution of breeding systems in *Eichhornia*, a review. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 75: 741–760.
- BARRETT, S.C.H. 1992. *Evolution and Function of Heterostyly*. Springer-Verlag, Berlin.
- BARRETT, S.C.H. & RICHARDS, J.H. 1990. Heterostyly in tropical plants. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 55: 35-61.
- BARRETT, S.C.H., JESSON, L. K., BAKER, A. M. 2000. The evolution and function of stylar polymorphisms in flowering plants. *Annals of Botany* 85:253-265.
- BARRETT, S.C.H. & SHORE, J.S. 2008. New Insights on Heterostyly: Comparative Biology, Ecology and Genetics. *In* Self-incompatibility in flowering plants - Evolution, Diversity and Mechanism. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, p.3–32.
- BREMER, B. & MANEN, J.F. 2000. Phylogeny and classification of the subfamily Rubioideae (Rubiaceae). *Plant Systematics and Evolution* 225:43–72.
- CARDOSO, E. & SCHIAVINI, I. 2002. Relação entre distribuição de espécies arbóreas e topografia em um gradiente florestal da Estação Ecológica do Panga (Uberlândia, MG). *Revista Brasileira de Botânica* 25: 277-289.
- CONSOLARO, H., SILVA, S.C.S., OLIVEIRA, P.E. 2011. Breakdown of distyly and pin-monomorphism in *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae). *Plant Species Biology* 26: 24-32.
- DALE, M.R.T. 2004. *Spatial Pattern analysis in Plant Ecology*. ed. Cambridge: Cambridge University Press.

- FELFILI, J.M. 2003. Fragmentos de florestas estacionais do Brasil Central: diagnóstico e propostas de corredores ecológicos. In: Fragmentação florestal e alternativas de desenvolvimento rural na região Centro-Oeste. (COSTA, R.B., org) UCDB, Campo Grande, p. 139-160.
- FRAIVE, A.E. & MCDADE, L.A. 2001. Population-level variation in the expression of heterostyly in three species of Rubiaceae: does reciprocal placement of anthers and stigmas characterize heterostyly? *American journal of botany* 88: 841-853.
- FRANKIE, G.W., BAKER, H.G. AND OPLER, P.A. 1974. Comparative phenological studies of trees in tropical wet and dry forests in the lowlands of Costa Rica. *J. Ecology* 62: 881-919.
- FEDEROV, A.A. 1966. The structure of the tropical rain forest and speciation in the humid tropics. *Journal of Ecology* 54: 1-11.
- FLEMING, T. H.E.R. HEITHAUS & W.B. SAWYER. 1977. An experimental analysis of the food location behavior of frugivorous bats. *Ecology* 58: 619-627.
- FLEMING, T.H. 1985. Coexistence of five sympatric Piper (Piperaceae) species in a tropical dry forest. *Ecology* 66: 688-700.
- GANDERS, F.R. 1979. The biology of heterostyly. *New Zealand Journal of Botany* 17: 607-635.
- GENTRY, A.H. & EMMONS, L.H. 1987. Geographical Variation in Fertility, Phenology, and Composition of the Understory of Neotropical Forests. *Biotropica* 19: 216-227.
- HAMILTON, C.W. 1990. Variations on a Distylous theme in Mesoamerican *Psychotria* subgenus *Psychotria* (Rubiaceae). *Memoirs of the New York Botanical Garden* 55: 62-75.
- HILTY, S.L. 1980. Flowering and fruiting periodicity in a pre-montane rain forest in Pacific Colombia. *Biotropica* 12: 292-306.
- KLINK, C.A., MACEDO, R., MUELLER, C.C. 1995. De grão em grão, o Cerrado perde espaço. WWF e PRO-CER, Brasília.
- KLINK, C.A. 1996. Relação entre o desenvolvimento agrícola e a biodiversidade. Pp. 25-27. In: R. C. Pereira, L. C. B. Nasser (Eds.). *Anais VIII Simpósio sobre o Cerrado, 1st International Symposium on Tropical Savanas - Biodiversidade e Produção Sustentável de Alimentos e fibras nos Cerrados*. Embrapa CPAC. Brasília.

- KOHN, J.R. & BARRET, S.C.H. 1992. Experimental Studies on the functional significance of heterostyly. *Evolution* 46: 43-55.
- KOZERA, C., RODRIGUES, R.R. & DITTRICH, V.A. DE O. 2009. Composição florística do sub-bosque de uma floresta ombrófila densa montana, Morretes, PR, BR. *Floresta* 39:323-334.
- LENTINI, M., PEREIRA, D., CELENTANO, D., PEREIRA, R. 2005. Fatos florestais da Amazônia. Belém: Imazon. 141 p.
- LEWIS D. & JONES D. A. 1992. The genetics of heterostyly. In: Barrett S. C. H. (ed.). *Evolution and Function of Heterostyly*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 129–178.
- LLOYD, D.G., WEBB C.J., DULBERGER, R. 1990. Heterostyly in species of *Narcissus* (Amaryllidaceae), *Hugonia* (Linaceae) and other disputed cases. *Plant systematic and Evolution* 172: 215-227.
- MARTINI, A.M.Z. 2002. Estrutura e composição da vegetação e chuva de sementes em sub-bosque, clareiras naturais e área perturbada por fogo em floresta tropical no sul da Bahia. Tese de doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Programa de Pós-graduação em Ecologia. 138p.
- MITTERMEYER, R.A., MYERS, N., MITTERMEIER, C.G. 1999. Hotspots Earth's Biologically Richest and Most Endangered Terrestrial Ecoregions. CEMEX Conservation International.
- NEPOKROEFF, M., BREMER, B. & SYTSMA, K.J. 1999. Reorganization of the Genus *Psychotria* and Tribe Psychotrieae (Rubiaceae) Inferred from ITS and rbcL Sequence data. *American Society of Plant Taxonomists* 24:5–27.
- OLIVEIRA, A.N. DE & AMARAL, I.L. DO. 2005. Aspectos florísticos, fitossociológicos e ecológicos de um sub-bosque de terra firme na Amazônia Central, Amazonas, Brasil. *Acta Amazonica* 35:1-16.
- RIBEIRO, J. F.; WALTER, B.M.T. 1998. Fitofisionomias do Bioma Cerrado. In: Sano, S.M.; Almeida, S.P. (eds.). *Cerrado: Ambiente e Flora*. Planaltina: EMBRAPA-CPAC. P. 87-166.
- RIBEIRO, J. F.; WALTER, B.M.T. 2008. Fitofisionomias Do Bioma Cerrado. In: Sano, S.M.; Almeida, S.P.; Ribeiro, J. F (eds.). *Cerrado: Ambiente e Flora*. Planaltina: EMBRAPA Informação Tecnológica. Vol. 1 p. 151-212.

- RICHARDS, A.J. 1986. Plant breeding systems. George Allen & Unwin, London.
- RICHARDS, J.H. & KOPTUR, S. 1993. Floral variation and distyly in *Guettarda scraba* (Rubiaceae). American Journal of Botany 80: 31-40.
- ROBBRECHT, E. 1988. Tropical woody Rubiaceae. Opera Botanica Bélgica 1:127.
- RODRIGUES, E. B. & CONSOLARO, H. 2013. Atypical distyly in *Psychotria goyazensis* Mull. Arg.(Rubiaceae), an intramorph self-compatible species. Acta Botanica Brasilica 27:155–161.
- SNOW, D. W. 1965. A possible selective factor in the evolution of fruiting seasons in tropical forest. Oikos 15: 274-281.
- STILES, F.G. 1977. Coadapted competitors: the flowering seasons of hummingbird-pollinated plants in a tropical forest. Science 198: 1177-1178.
- STILES, F.G. 1978. Temporal organization of flowering among the hummingbird food plants of a tropical wet forest. Biotropica 10: 194-210.
- TAYLOR, C.M. 1996. Overview of the Psychotrieae (Rubiaceae) in the Neotropics. Opera Botanica Belgica. 7: 261-270.
- VELOSO, H.P., RANGEL FILHO, A.L., LIMA, J.C.A. 1991. Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal. IBGE, Rio de Janeiro.

Capítulo 1: Variações na manifestação da distília em espécies de *Psychotria* L. ocorrentes em sub-bosque de florestas estacionais do Triângulo Mineiro.

Introdução

A heterostilia é um polimorfismo floral controlado geneticamente, caracterizado pelo posicionamento recíproco de estigmas e anteras entre morfotipos florais (hercogamia recíproca) e por um sistema de incompatibilidade auto e intramorfo (Barrett 1992). A distília é a forma de manifestação mais comum da heterostilia, na qual dois morfos florais ocorrem separadamente nos indivíduos, sendo denominados longistilo (estigma acima do nível das anteras) e brevistilo (estigma abaixo do nível das anteras) (Hamilton 1990). Esses morfos, normalmente são encontrados em proporções semelhantes dentro de populações distílicas (isoplelia), sendo tal característica regida por fatores genéticos e ecológicos, como sistema de incompatibilidade e o serviço de polinização (Ganders 1979). Em algumas espécies heterostílicas estudadas, o sistema de incompatibilidade e os morfos florais são conjuntamente controlados por um componente genético denominado Supergene, que contém um locus trigênico com dois alelos (Barrett & Richards 1990). O morfo brevistilo manifesta-se na forma heterozigota e o longistilo na homozigota recessiva, de modo que cada um dos genes deste Supergene é responsável pela expressão das características heterostílicas: o gene “A” controla a altura do estame, o gene “P” o tamanho do grão de pólen e o gene “G” a altura do pistilo, o tamanho das papilas estigmáticas e a incompatibilidade ao pólen do mesmo morfo (Barrett & Richards 1990). No entanto, o controle genético realizado pelo Supergene é um conceito genérico, e que para algumas famílias em que a distília ocorre, dentre elas Rubiaceae, ainda não foi esclarecido como ocorre o controle genético das características distílicas (Consolaro *et al* 2011, Rodrigues & Consolaro 2013).

As características distílicas típicas são a ocorrência dos dois morfos florais em isoplelia, com hercogamia recíproca e incompatibilidade a autopolinizações e polinizações intramorfo (Barrett 1992, Kohn & Barrett 1992). A manutenção do sistema distílico depende de características ambientais favoráveis à presença de polinizadores que promovam o fluxo de pólen entre os morfos, uma vez que espécies distílicas típicas possuem um sistema de incompatibilidade intermorfo e dependem do serviço de polinização para a reprodução (Ganders 1979). Assim, anomalias presentes no sistema reprodutivo distílico podem ser influenciadas por mudanças nas características ambientais no habitat dessas espécies e assim, afetar sua reprodução e persistência em ambientes sujeitos à perturbação.

Dentre as Angiospermas, Rubiaceae é a quarta maior família botânica, possuindo cerca de 650 gêneros e 12000 espécies de distribuição pantropical (Delprete *et al.* 2004). No

Brasil, ocorrem cerca de 130 gêneros e 1500 espécies (Souza & Lorenzi 2005). No Cerrado estima-se que as espécies distílicas representem cerca de 41% da riqueza de táxons pertencentes a essa família (Consolaro 2008). Em Rubiaceae, várias estratégias reprodutivas são observadas, dentre elas a distilia (Robbrecht 1988). Alguns gêneros da família como *Psychotria*, *Palicourea*, *Manettia* e *Guettarda* são considerados como tipicamente distílicos (Sobrevila *et al.* 1983, Hamilton 1990, Richards & Koptur 1993, Passos & Sazima 1995, Faivre & Mcdade 2001, Coelho & Barbosa 2003, Consolaro 2004, Consolaro 2008, Consolaro *et al.* 2009).

Entre as Rubiaceae, na tribo Psychotrieae, a distilia é considerada uma característica primitiva e taxonomicamente difundida, de modo que outros sistemas reprodutivos presentes na tribo são atribuídos a alguma variação evolutiva da distilia (Hamilton 1990). Devido a diferentes implicações ecológicas e evolutivas, como desequilíbrio na relação planta-polinizador e quebra/permutação (crossing over) do Supergene, a estrutura floral e/ou a frequência dos morfos pode variar, podendo ocorrer à perda de um dos morfos, monomorfismo, ou ocorrer um rearranjo na disposição dos verticilos reprodutivos de modo que eles fiquem na mesma altura, a homostilia (fig. 1.1) (Ganders 1979). Esses desvios podem ter variação intraespecífica em diferentes níveis, entre flores de um único indivíduo, entre indivíduos de uma população e entre populações distintas (Baker 1966, Ganders 1979, Hamilton 1990, Faivre & Mcdade 2001).

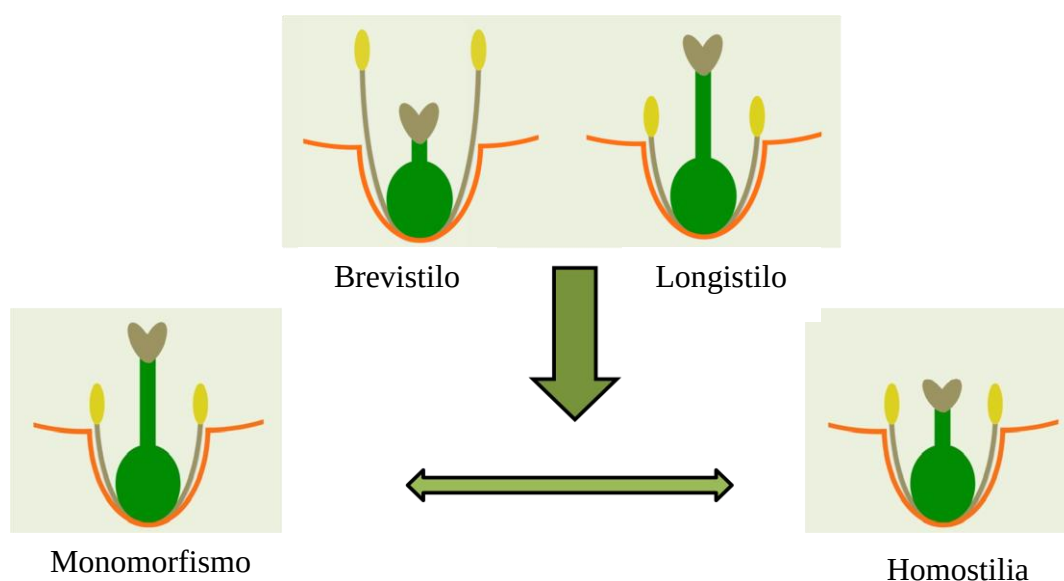


Figura 1.1: Variações evolutivas da distilia: perda de um dos morfos, monomorfismo, ou rearranjo na disposição dos verticilos reprodutivos de modo que eles fiquem em alturas semelhantes, homostilia.

Espécies com distília atípica ou com características análogas ao sistema reprodutivo heterostílico representam variações nos polimorfismos florais e são classificadas como espécies heteromorfas anômalas (Barrett 1988). Dentre as variações encontradas, pode ocorrer dimorfismo estilar sem a presença de sistema de incompatibilidade dialélico em algumas espécies, como observado em *Guettarda scabra* (Rubiaceae) (Richards & Koptur 1987). Ou também, como registrado em espécies distílicas do gênero *Narcissus* (Amaryllidaceae), em que algumas espécies apresentaram dimorfismo estilar, mas não possuíam hercogamia recíproca (Lloyd *et al.* 1990).

Na família Rubiaceae, em um estudo realizado com *Manettia cordifolia* foi observado que as características florais da espécie indicam a ocorrência de monomorfismo longistilo provavelmente derivado de um ancestral distílico, não sendo encontrados indivíduos brevistilos (Consolaro *et al.* 2005). Sakai & Wright (2008) registraram monomorfismo longistilo em uma população de *P. hoffmannseggiana* na América Central. Porém Teixeira & Machado (2004) encontrou uma população distílica com os dois morfos dessa espécie na mata atlântica do nordeste brasileiro. Em *Psychotria goyazensis* foi observada uma população com monomorfismo longistilo autocompatível no sudeste goiano (Rodrigues & Consolaro 2013). O monomorfismo longistilo também é encontrado em *P. prunifolia* (Oliveira 2008, Filgueira & Consolaro *pers. com.*). Já em *Psychotria carthagenensis* uma espécie amplamente distribuída no Brasil foi encontrado monomorfismo longistilo em uma população do Triângulo Mineiro, no entanto foram encontradas populações homostílicas e distílicas típicas em outras áreas distintas do Brasil (Koch *et al.* 2010, Consolaro *et al.* 2011, Faria *et al.* 2012).

Variações no sistema distílico como os registrados em *Psychotria* L. (autocompatibilidade, anisopleia e monomorfismo) permitem o registro e a compreensão de diferentes etapas evolutivas em espécies distílicas (Ganders 1979, Richards 1986, Barret 1988). O estudo da quebra da distília ao monomorfismo e dos caracteres que são mantidos e perdidos nas variações desse sistema reprodutivo, constituem um modelo ecológico que permite o estudo da evolução dos sistemas reprodutivos e do sistema de incompatibilidade nas espécies vegetais (Barrett 1992). Também não é conhecido se as variações no sistema distílico são características que ocorrem localmente nas populações já estudadas ou se existem estratégias reprodutivas distintas em demais populações dessas espécies.

O objetivo deste estudo foi investigar o sistema distílico e as suas possíveis variações em espécies de *Psychotria* L. (Rubiaceae), averiguar se a intensidade da perturbação antrópica das áreas do estudo apresenta relações com as diferentes manifestações da distília, além de constatar se os padrões distílicos encontrados se repetem em diferentes populações.

Para isso as seguintes hipóteses foram testadas nos dados amostrados nas espécies do estudo: i) populações distílicas apresentam isoplelia, hercogamia recíproca e incompatibilidade auto e intramorfo; ii) populações anisopléticas apresentam variações na ocorrência ou perda hercogamia recíproca e/ou de incompatibilidade; iv) populações monomórficas apresentam autocompatibilidade; v) a intensidade da perturbação antrópica pode apresentar influências na presença de isoplelia, hercogamia recíproca e de incompatibilidade auto e intramorfo nas espécies.

Material e métodos

Todas as espécies do estudo apresentam porte arbustivo ou subarbustivo e constituem parte do sub-bosque das áreas do estudo, são elas: *Psychotria capitata* Ruiz & Pav., *P. carthagenensis* Jacq., *P. deflexa* DC., *P. goyazensis* Müll. Arg., *P. hoffmannseggiana* (Willd. ex Roem. & Schult.) Müll. Arg., *P. poeppigiana* Müll. Arg., *P. prunifolia* (Kunth) Steryerm. e *P. trichophoroides* Mull. Arg.

O estudo foi desenvolvido em 10 áreas de floresta estacional semidecidual na região do Triângulo Mineiro, Minas Gerais, Brasil. Todos os remanescentes estão no bioma Cerrado, nove das 10 áreas estão inseridas na bacia hidrográfica do Rio Paranaíba e apenas uma das áreas (Uberaba) está inserida na bacia do Rio Grande (Fig 2.1). Essas áreas em conjuntos são sub-bacias da bacia hidrográfica do Rio Paraná (mais detalhes em Lopes 2010).

As áreas foram analisadas por Lopes (2010), que quantificou as perturbações antrópicas presentes nessas áreas. As áreas foram analisadas quanto à intensidade da presença de lixo, trilhas, estradas externas e/ou de acesso, estradas internas, gado e também pelo tipo de borda dos fragmentos. Assim, foi atribuída uma nota (0 – 4) para cada fator de perturbação antrópico avaliado, e cada fragmento obteve uma nota final, resultante da soma do conjunto de impactos antrópicos analisados para cada área, e foram classificadas em quatro grupos de perturbação (tab.1.1).

Tabela 1.1: Fragmentos de floresta estacional semidecidual no Triângulo Mineiro, Minas Gerais, Brasil e suas classificações quanto à quantidade e à classificação do grupo de perturbação antrópicos. (Adaptado de Lopes 2010).

Fragmento	Área (ha)	Tamanho do transecto	
		amostrado (Km)	Nota de impactos
Panga	16	1.5	27
Água Fria	200	3.2	46
Uberaba	70	1.1	48
Glória	30	0.98	64
Pereira	35	0.87	103
São José	20	1.2	103
Irara	22.3	1.8	110
Cruzeiro	17.5	1.3	122
Ipiaçu	40	2.1	168
Monte Carmelo	119	3.9	202

Em cada área do estudo, durante o período de floração foram percorridos em cada fragmento um transecto não linear de comprimentos distintos (Tab. 1.1), com margem de amostragem de 5 metros para a esquerda e para a direita. Nos transectos foi verificada a ocorrência da distília e as variações dos morfos florais em 24 populações de oito espécies em nove das áreas de estudo, uma vez que em uma das áreas, Ipiacu, não foi encontrada nenhuma espécie do gênero *Psychotria*, possivelmente devido ao sub-bosque da área ter sido consumido por uma queimada recente.

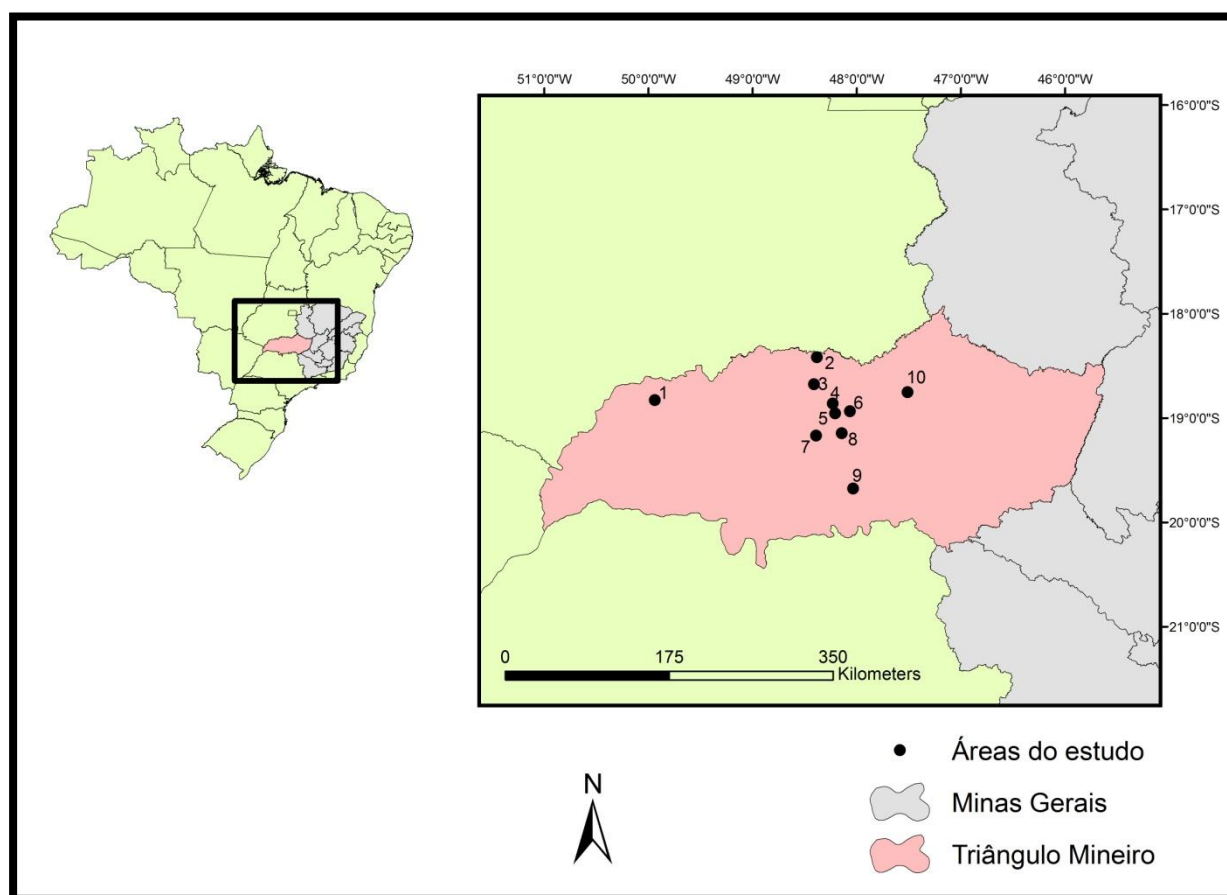


Figura 2.1: Áreas de amostragem de características distílicas de populações de *Psychotria* L. no Triângulo Mineiro, Minas Gerais, Brasil. 1- Ipiacu; 2 Agua fria; 3- Cruzeiro; 4- São José; 5- Glória; 6- Pereira; 7- Panga; 8- Irara; 9- Uberaba; 10- Monte Carmelo.

Flores das espécies do estudo foram observadas diretamente no campo, averiguando a ocorrência dos morfos (longistilo e brevistilo) e as possíveis variações da distília (monomorfismo e homostilia). A morfologia floral das espécies foi observada em flores coletadas em campo, 2 a 3 flores por indivíduo, (n=25 por morfo floral em cada população) e através de observações de exsicatas em herbários.

A isopletia foi averiguada buscando aleatoriamente cada morfo das populações em campo nos transectos de amostragem, registrando a sequência em que os mesmos ocorriam. Foram amostrados indivíduos com distância mínima de dois metros entre si para evitar a amostragem de plantas clonais. Foi realizado um teste de qui-quadrado para comparar a ocorrência dos morfos com a expectativa de ocorrência dos mesmos de 1:1 nas populações amostradas, considerando $\alpha=5\%$. Também foi aplicado o Wald-Wolfowitz *runs test* para verificar se a sequência em que os morfos florais amostrados nas populações foram encontrados ocorreu de forma agregada ou aleatória nas populações. Os testes foram realizados usando o software estatístico Systat 10.2.

Para constatar a hercogamia recíproca das populações nas áreas do estudo, 25 flores de cada morfo encontrado nas populações foram coletadas e armazenadas em álcool 70%. Posteriormente, em laboratório as flores foram fotografadas em estereomicroscópio e as imagens foram analisadas para mensurar altura dos pistilos, de sua base até a abertura dos lobos estigmáticos, também a altura estames, do início do filete até a porção média das anteras, local onde há maior deposição de pólen nas flores dessas espécies (*pers. obs.*). As imagens e comprimentos dos verticilos forais das espécies do estudo foram analisadas utilizando o software de análise de imagem ImageJ© 1.45S.

O índice de reciprocidade/hercogamia de populações distílicas foi calculado utilizando o software RECIPROCITY (Sánchez *et al.* 2008). Esse índice se baseia na comparação da altura das anteras de cada flor com a altura do estigma de todas as flores do morfo oposto. Quando a reciprocidade é perfeita na população analisada o índice de reciprocidade é igual a zero. Valores a partir de zero, ocorrem quando a reciprocidade não é perfeita, e são modulados pela média dos desvios padrões das diferenças de alturas. Logo, quanto maior a dispersão desses valores maior será o afastamento do valor zero (Sánchez *et al.* 2008).

Para investigar o sistema de incompatibilidade, 25 pistilos de cada morfo floral em cada população foram coletados por volta das 12:00 do dia da antese. Foi observado em campo que por volta das 07:30 as espécies já apresentavam receptividade estigmática (abertura dos lobos estigmáticos) e liberação de pólen (constatado pela presença de pólen nas anteras das flores), e que dessa maneira ficaram expostas aos polinizadores por toda a manhã. As flores coletadas foram fixadas em álcool 70%, e seus pistilos foram submetidos à análise de crescimento de tubos polínicos utilizando microscopia de fluorescência (Martin 1959). A presença de reação de incompatibilidade foi evidenciada pela presença de deposição anômala de calose e interrupção no crescimento do tubo polínico no estigma ou ao longo do estilete. A

interrupção do crescimento dos tubos polínicos foi considerada como evidência de reação de incompatibilidade.

Foram realizados testes de regressão logística para verificar se a presença isopleia e incompatibilidade nas populações são relacionadas com a intensidade da perturbação antrópica das áreas do estudo. Para testar se há relação entre a reciprocidade dos morfos florais e a intensidade da perturbação antrópica das áreas do estudo, foi realizado um teste de Correlação de Pearson pra saber se o índice de reciprocidade é influenciado pela nota final da perturbação antrópica quantificada nas áreas do estudo. Os testes estatísticos foram realizados no software Systat 10.2.

Para constatar se a forma de manifestação da distília encontrada nas oito espécies das áreas de estudo difere de outros locais de ocorrência da espécie, foram realizadas observações de exsicatas das espécies depositadas em diferentes herbários do país. Utilizando-se um estereomicroscópio, foi verificada a ocorrência dos morfos florais (brevistilo e longistilo) e foram registrados a data, o local, a fitofisionomia da área de coleta e o número do coletor (para evitar duplicidade nos dados coletados). Os dados foram coletados em todas as exsicatas das espécies do estudo depositadas nos seguintes herbários: Herbário do Jardim Botânico do Rio de Janeiro – Rio Janeiro, Brasil; Herbarium Uberlandense, Universidade Federal de Uberlândia (UFU) Uberlândia, Minas Gerais, Brasil; Herbário da Universidade Estadual de Campinas (Unicamp) Campinas, São Paulo, Brasil; Herbário da Universidade de Brasília (UNB) e Herbário da Embrapa/Cenargen, situados em Brasília, Distrito Federal, Brasil.

As exsicatas das espécies estudadas no Triângulo Mineiro foram depositadas no Herbarium Uberlandense da Universidade Federal de Uberlândia.

Resultados

Foram encontradas 24 populações de oito espécies em nove das áreas do estudo. As espécies que tiveram a distília investigada foram: *Psychotria capitata* Ruiz & Pav., *P. carthagenensis* Jacq., *P. deflexa* DC., *P. goyazensis* Müll. Arg., *P. hoffmannseggiana* (Willd. ex Roem. & Schult.) Müll. Arg., *P. poeppigiana* Müll. Arg., *P. prunifolia* (Kunth) Steryerm. e *P. trichophoroides* Mull. Arg. (Fig 3.1).

Foram consideradas espécies distílicas típicas aquelas com presença dos dois morfos florais (longistilo e brevistilo), isopleia e reação de incompatibilidade. Já as espécies distílicas atípicas foram consideradas como as que apresentaram desvios nas características distílicas como monomorfismo (presença de apenas um morfo floral) e/ou anisopleia (razão desequilibrada dos morfos) e/ou autocompatibilidade.

Analisando as características distílicas das populações estudadas as mesmas foram classificadas em dois grupos quanto à manifestação da distília:

- **Distília típica** - engloba as populações com presença dos dois morfos em isopleia e reação de incompatibilidade: *Psychotria capitata* (n=1), *P. hoffmannseggiana* (n=3), *P. deflexa* (n=2), *P. carthagenensis* (n=1) e *P. poeppigiana* (n=2) (tab. 2.1).
- **Distília atípica** - abrange as espécies com presença dos dois morfos em anisopleia e reação de incompatibilidade: *P. deflexa* (n=1) e *P. hoffmannseggiana* (n = 1); *P. trichophoroides* (n=3). Inclui também as espécies monomórficas, aquelas com ocorrência de apenas um morfo floral com presença de autocompatibilidade: *P. goyazensis* (n=3), *P. prunifolia* (n=5) e *P. carthagenensis* (n=1). Também foi encontrada uma população de *P. deflexa* com apenas 4 indivíduos, todos com flores brevistilas, porém não se sabe se existem outros indivíduos com morfos diferentes nessa população da área Uberaba (tab. 2.1).

Tabela 2.1: Características distílicas de populações de *Psychotria* L. de florestas estacionais semidecíduais do Triângulo Mineiro. Monomorfismo: ocorrência de apenas um monomorfismo nas áreas do estudo. Isopletia considerada quando χ^2 com proporção esperada dos morfos de 1:1 $p>0,05$.

Espécie	Monomorfismo	Isopletia	Anisopletia	Reação de Incompatibilidade	
				Morfo	
				L	B
<i>Psychotria capitata</i>					
Cruzeiro		X		-	-
<i>P. hoffmannseggiana</i>					
Irara		X			X
Cruzeiro			X ^d	-	
São José		X		X	X
<i>P. poeppigianna</i>					
Irara		X		X	X
Glória		X		X	0
<i>P. carthagenensis</i>					
Panga	X ^l		X ^a	X	
Água Fria		X		X	X
<i>P. prunifolia</i>					
Glória	X ^l			-	
Irara	X ^l			-	
Pereira	X ^l			-	
Uberaba	X ^l			-	
São José	X ^l			-	
<i>P. goyazensis</i>					
Irara	X ^l			-	
São José	X ^l			-	
Uberaba	X ^l			-	
<i>P. deflexa</i>					
Cruzeiro			X ^c	X	X
Monte Carmelo		X		X	X
Uberaba	X ^b			Não amostrada	
Panga		X		X	X
<i>P. trichophoroides</i>					
Cruzeiro			X ^c	X	X
Irara			X ^c	X	X
São José			X ^c	X	X

a População onde foi encontrado apenas 1 indivíduo do morfo brevistilo; *b*: população onde foi encontrado apenas 4 indivíduos do morfo brevistilo; *c*: populações anisopléticas com maior predominância do morfo brevistilo; *d*: população anisopléticas com maior predominância do morfo longistilo *l*: monomorfismo longistilo.

As populações de *P. trichophoroides* da área Irara, *P. deflexa* e *P. hoffmannseggiana* da área Cruzeiro apresentaram distribuição agregada dos morfos ($p < 0.05$). Todas as outras populações das espécies estudadas apresentaram ocorrência dos morfos de forma aleatória, $p > 0.05$ (tab. 3.1).

Tabela 3.1: Valores da probabilidade da ocorrência dos morfos distílicos de forma aleatória em populações de *Psychotria* L. do Triângulo Mineiro. Wald-Wolfowitz runs test; $p < 0.05$ indica agregamento na ocorrência dos morfos nas populações.

Área	Espécie	Isopletia	Anisopletia	Runs test (p)
Panga	<i>Psychotria deflexa</i>	X		0,91
Água Fria	<i>P. carthagenensis</i>	X		9,8
Glória	<i>P. poeppigiana</i>	X		1,64
São José	<i>P. hoffmannseggiana</i>	X		3,07
	<i>P. trichophoroides</i>		X	1,19
Pereira	<i>P. hoffmannseggiana</i>	X		2,16
Irara	<i>P. hoffmannseggiana</i>	X		0,15
	<i>P. poeppigiana</i>	X		0,93
	<i>P. trichophoroides</i>		X	<0,01
Cruzeiro	<i>P. deflexa</i>		X	0,04
	<i>P. trichophoroides</i>		X	2,32
	<i>P. hoffmannseggiana</i>		X	0,05
	<i>P. capitata</i>	X		0,2
Monte Carmelo	<i>P. deflexa</i>	X		0,49

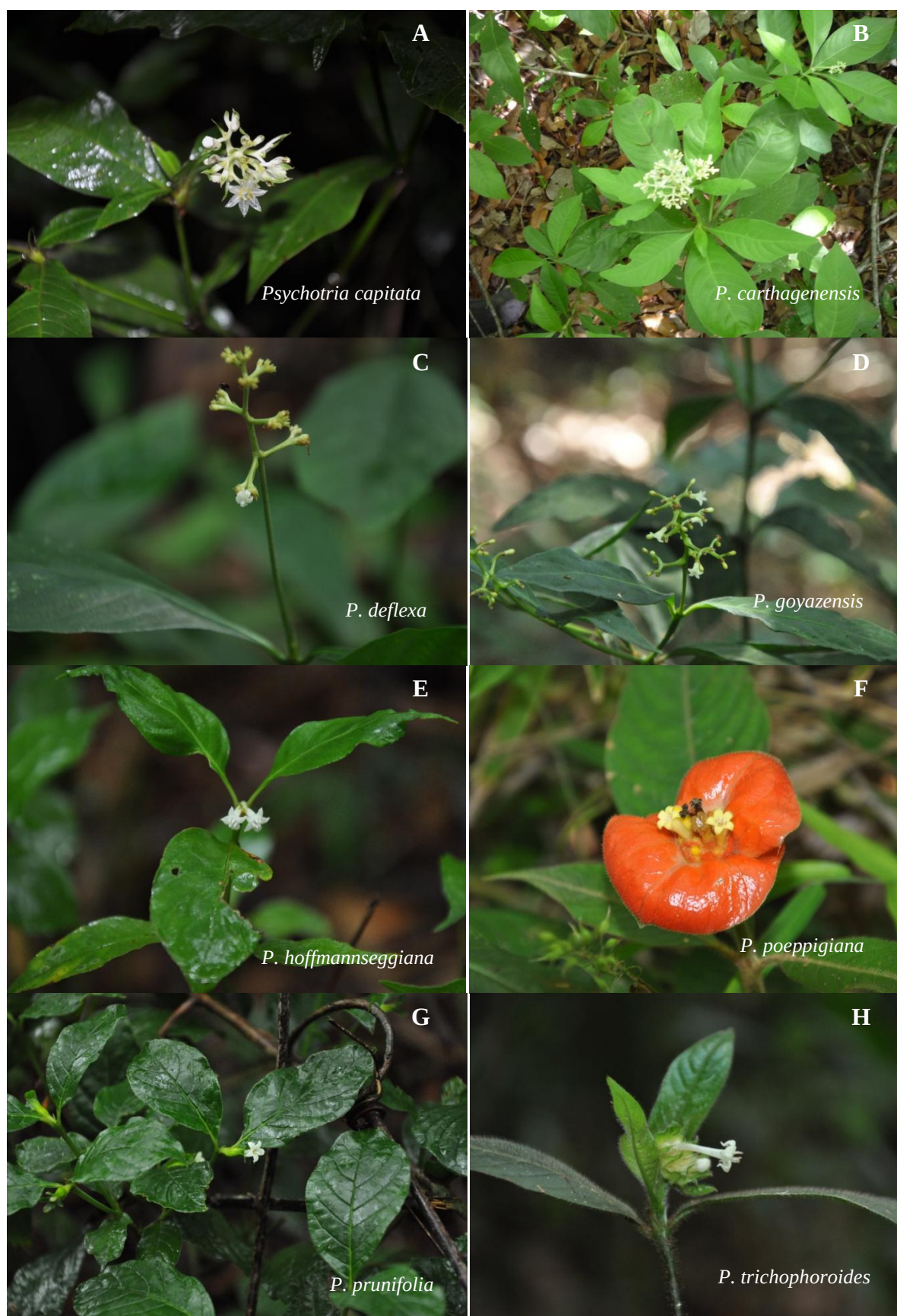


Figura 3.1: Espécies de *Psychotria* L. que tiveram averiguadas as diferentes manifestações do sistema distílico em nove áreas de floresta estacional semidecidual do Triângulo Mineiro.

Foi calculado o Índice de reciprocidade de Sanchez *et al.* (2008) para as populações com os dois morfos florais.(tab. 4.1). Nenhuma população apresentou reciprocidade exata (valor do Índice igual à zero), porém os valores encontrados indicam alta reciprocidade nas espécies avaliadas. As populações distílicas atípicas (anisopléticas) mesmo com desvios na proporção dos morfos florais apresentaram altos valores de reciprocidade.

Tabela 4.1: Índice de reciprocidade de Sanchez *et al* (2008) de 14 populações de 6 espécies distílicas de *Psychotria* L. do Triângulo Mineiro.

Área	Espécie	Isopletia	Anisopletia	Índice de reciprocidade
Panga	<i>Psychotria. deflexa</i>	X		0.08
Água Fria	<i>P. carthagenensis</i>	X		0.06
Glória	<i>P. poeppigiana</i>	X		0.14
São José	<i>P. hoffmannseggiana</i>	X		0.05
	<i>P. trichophoroides</i>		X	0.03
Pereira	<i>P. hoffmannseggiana</i>	X		0.2
Irara	<i>P. hoffmannseggiana</i>	X		0.05
	<i>P. poeppigiana</i>	X		0.01
	<i>P. trichophoroides</i>		X	0.03
Cruzeiro	<i>P. deflexa</i>		X	0.06
	<i>P. trichophoroides</i>		X	0.04
	<i>P. hoffmannseggiana</i>		X	0.06
	<i>P. capitata</i>	X		0.1
Monte Carmelo	<i>P. deflexa</i>	X		0.05

Não foi encontrada relação entre a ocorrência das características distílicas e suas variações nas populações com os diferentes níveis de intensidade de perturbação antrópica das áreas do estudo. Não houve relação entre a presença ou ausência de isopletia e a perturbação antrópica ($t = 0,095$, $p=0.32$, $n=14$, MacFadden's Rho-Squared = 0.008), e incompatibilidade ($t = 1.142$, $p=0.35$, $n=14$, MacFadden's Rho-Squared = 0.02). A relação encontrada entre o índice de reciprocidade das populações e a intensidade da perturbação antrópica das áreas do estudo foi fraca e estatisticamente não significativa ($r = -0.22$, $p>0.05$ $n=14$).

Foram analisadas flores em 506 exsicatas nos cinco herbários visitados. Não foram encontradas divergências no registro nos dados de campo da distília nas espécies do estudo e as observações realizadas nos herbários. A distília típica e o monomorfismo encontrado nas espécies estudadas nas nove áreas do Triângulo Mineiro também foram constatados em coletas depositadas nos herbários visitados dessas plantas em diferentes regiões fitogeográficas.

Além das 506 exsicatas das espécies utilizadas para verificar a ocorrência dos morfos florais distílicos, foram observadas um total de 2863 exsicatas para coleta dos dados referentes ao local e fitofisionomia da área de coleta. As espécies de *Psychotria* do estudo possuem ampla distribuição, tendo registro em diversas formações vegetacionais.

Psychotria capitata foi registrada em áreas de Mata Atlântica, Mata de galeria, Mata seca e até mesmo Campo limpo, essa espécie ocorre do Norte ao Sul Brasileiro e em outros países da América Latina e até na Etiópia no continente Africano (tab. 5.1). *P. carthagenensis* também foi registrada em coletas do Norte ao Sul do Brasil e em países como Argentina, Paraguai, Uruguai e Bolívia e ocorreu principalmente em formações vegetacionais ligadas a cursos d'água (tab.6.1), mas também ocorreu em áreas de Caatinga e formações savânicas do Cerrado. *P. deflexa* também apresentou ampla distribuição no Brasil e América Latina, essa espécie ocorreu desde fitofisionomias como a Floresta Amazônica até campos rupestres do Cerrado do Brasil Central.

Há um número muito reduzido de exsicatas de *P. goyazensis* nos herbários visitados durante o estudo, e parte das plantas depositadas dessa espécie estava erroneamente identificada como *P. deflexa*. Exsicatas de *P. goyazensis* com flores foram registradas apenas no estado de Goiás. *P. hoffmannseggiana* também apresentou ampla distribuição no Brasil e América Latina e ocorre desde formações florestais como Florestas estacionais semidecíduais, Mata Atlântica e até mesmo em paisagens antrópicas como pastagens (tab. 6.1). *P. poeppigiana*, *P. prunifolia* e *P. trichophoroides* apresentaram distribuição do Norte ao Sul do Brasil e também ocorreu em outros países da América Latina. Essas espécies ocorreram desde formações florestais até áreas de Cerrado Sentido restrito. *P. poeppigiana* particularmente apresentou maior registros de ocorrência em áreas ligadas a cursos d'água ou suscetíveis a alagamentos

Tabela 5.1: Dados de herbário sobre distribuição geográfica, distília e fitofisionomias de ocorrência de oito espécies *Psychotria* L. L: morfo longistilo; B: morfo brevistilo.

Espécies	Locais de coleta	Fitofisionomia da área da coleta	Morfo observado
<i>Psychotria capitata</i>	GO, SP, MG, DF, PE, PA, MA, AP, BA, PR, TO, PI, RR, AM, SE, AL, Bolívia, Guiana Francesa, Peru, Panamá, México, Colômbia, Etiópia	Mata galeria, Cerradão, Mata atlântica, Mata Seca, Mata Inundável, Campo Cerrado, Floresta estacional semidecidual, Campo limpo.	L e B
<i>P. carthagenensis</i>	GO, SP, PR, AC, MG, BA, RJ, AP, PE, CE, AM, RS, RO, RR, SC, MS, SE, TO, DF, ES, Argentina, Bolívia, Paraguai, Uruguai	Floresta estacional semidecidual, Mata ciliar, Mata de planalto, Campo úmido, Mata inundável, Mata de encosta, Cerrado denso, Mata atlântica, Mata de galeria inundável, Caatinga, Mata galeria, Brejo.	L e B
<i>P. deflexa</i>	SP, AM, MG, GO, BA, MT, RJ, DF, MA, MS, ES, RJ, Peru, Bolívia, Venezuela, Guiana Francesa, Suriname	Mata atlântica, Cerrado denso, Floresta estacional semidecidual, Mata atlântica, Amazônia, Cerradão, Mata de galeria, Campo, Mata ciliar, Campo rupestre	L e B
<i>P. goyazensis</i>	GO	Floresta estacional semidecidual, Mata Galeria, Mata de encosta.	L
<i>P. hoffmannsegiana</i>	PR, BA, MT, MA, SE, GO, PE, MG, DF, CE, AM, PA, RJ, SP, Guiana Francesa, Bolívia, Venezuela, Peru e Argentina	Floresta estacional semidecidual, Mata ciliar, Cerradão, Pastagem, Mata atlântica, Capão de morro, Mata de galeria, Amazônia.	L e B
<i>P. poeppigiana</i>	MT, MG, MS, AM, MA, AC, BA, TO, RO, PA, GO, AP, RS, SP, Peru, Bolívia, Guiana Francesa, Venezuela, Suriname	Mata Galeria, Amazônia, Vereda, Mata seca, Solo alagado, Caatinga, Brejo.	L e B
<i>P. prunifolia</i>	GO, DF, MT, MG, RO, AC, PA, AM, SP, MS, Bolívia	Mata ciliar, Mata seca, Cerradão,	L
<i>P. trichophoroides</i>	MG, MA, AC, GO, TO, DF, AM	Floresta estacional semidecidual, Mata ciliar, Cerradão. Mata de galeria, Cerrado sentido restrito.	L e B

Discussão

As espécies do estudo possuem diferentes tipos de inflorescências, mas todas as flores dessas espécies apresentam corola em forma de tubo, geralmente de cor branca com exceção de *P. poeppigiana* que possui flores amarelas. A morfologia das estruturas florais envolvidas na reprodução constitui um conjunto de características que devem funcionar de forma precisa para se alcançar o sucesso reprodutivo nas populações vegetais (Proctor *et al.* 1996). Além disso, a estrutura floral condiciona os polinizadores legítimos a serem compatíveis com o tamanho e disposição dos elementos florais (Maués & Oliveira 2010). A morfologia floral pode ser um fator limitante a reprodução de espécies vegetais, em sistemas reprodutivos heteromórficos como a distília a morfologia floral deve ser precisa para que ocorra o fluxo intermorfo regular de pólen e fecundação cruzada para a manutenção das populações distílicas.

As flores das espécies de *Psychotria* estudadas apresentam tricomas na parte interna da corola ou próxima a abertura da garganta. Tricomas são presentes em diversos órgãos das plantas e possuem distintas funções nas espécies, como reduzir perdas hídricas, evitar a herbivoria ou até podem agir como estruturas secretoras de substâncias atrativas a polinizadores (Gonçalves & Lorenzi 2011). Os tricomas presentes nas flores das espécies estudadas podem funcionar como barreiras à deposição de pólen oriundo da mesma flor, uma vez que foram observados grandes porções de pólen aderidas nos tricomas dessas flores. Essas estruturas podem funcionar como um mecanismo para evitar a autopolinização e auxiliar na promoção do fluxo regular de pólen entre os morfos florais de populações distílicas. E por outro lado podem também agir como uma barreira para grãos de pólen compatíveis trazidos pelo polinizador.

Das 14 populações com distília típica, cinco apresentaram desvio das características da distília típica, a isopleτία. Todas as populações de *P. trichophoroides* estudadas e as de *P. deflexa* e *P. hoffmannseggiana* da área Cruzeiro apresentaram desvios na razão isoplética dos morfos florais. A manutenção de polimorfismos florais em igual proporção em populações de plantas só é assegurada pela reprodução simétrica cruzada entre os morfos florais (Barrett *et al.* 2000). Além disso, a ausência de morfos opostos em uma escala local também pode levar a sérias reduções na produção de sementes em populações heterostílicas (Ishiyama *et al.* 2006).

As populações anisopléticas estudadas estão estabelecidas em áreas sujeitas à perturbação antrópica. O desequilíbrio na taxa dos morfos florais em espécies distílicas pode

ser resultante de populações recém estabelecidas ou que estão sob efeitos da fragmentação florestal (Pereira *et al.* 2006), que podem alterar a frequência dos morfos em populações com polimorfismo floral ao longo da história de vida dessas espécies (Van Rossum & Triest 2006). Além disso, a anisopleitia presentes nas espécies de *Psychotria* estudadas pode ser uma possível evidências de respostas diferencial dos morfos florais as pressões e perturbações ambientais que as espécies são sujeitas ao longo de sua história de vida.

Outro fator que pode influenciar a ocorrência e a proporção dos morfos nas populações são os eventos estocásticos que podem levar a perda de parte dessas populações e por consequência levar a uma mudança na frequência de ocorrência dos morfos florais (Husband & Barrett 1992b, Kéry *et al.* 2003). Uma possível evidência do efeito desses eventos estocásticos na proporção de morfos nessas populações é o recente alagamento de parte do habitat dessas espécies na área Cruzeiro resultante do represamento do Rio Araguari no ano de 2006 para a instalação de uma hidrelétrica, onde possivelmente alguns indivíduos dessas populações foram perdidos, levando a um desvio na proporção dos morfos florais nas espécies dessa área de estudo.

As populações de *P. trichophoroides* da área Irara, *P. deflexa* e *P. hoffmannseggiana* da área Cruzeiro apresentaram distribuição agregada dos morfos. A segregação espacial dos morfos distílicos em uma população pode resultar do crescimento vegetativo, de diferenças na mortalidade, no estabelecimento e de diferenças no potencial reprodutivo desses *taxa* (Levin, 1974, Eckert & Barrett 1992, Ishihama *et al.* 2003). A distribuição agregada dos morfos nessas espécies também indica uma grande distância entre as plantas com os diferentes morfos florais nas populações amostradas, e por consequência em uma maior distância de deslocamento polinizadores promovam o fluxo de pólen intermorfo.

As populações do estudo que possuíam os dois morfos florais apresentaram alta reciprocidade, os valores encontrados não indicaram hercogamia perfeita, mas não se distanciaram muito do valor indicado para populações com hercogamia recíproca precisa. A hercogamia recíproca também não foi perfeita em outros estudos, como observado em *Psychotria poeppigiana* (Coelho e Barbosa 2004, Valois-Cuesta *et al.* 2009) e também foi reportado em *Psychotria brachypoda* (Fonseca *et al.* 2008). Além disso, existe alta variabilidade na altura dos verticilos reprodutivos tanto intra como intermorfo (Baker 1966, Ganders 1979, Hamilton 1990, Faivre & Mcdade 2001).

Em espécies heterostílicas a correspondência recíproca nos comprimentos das anteras e estilete pode ser muito próxima, embora na maioria das vezes não seja perfeita (Ganders 1979). Trabalhos realizados com outras espécies distílicas de *Psychotria* indicam que mesmo

com ausência de reciprocidade entre a altura de estames e estigmas dos morfos florais distílicos, é possível ocorrer fluxo de pólen entre morfos diferentes (Faivre & McDade 2001, Castro & Araújo 2004, Teixeira & Machado 2004). No entanto, Dai & Galloway (2011) sugerem que a hercogamia por si, não diminui a frequência de autopolinizações, porém o aumento na separação espacial entre estigmas e anteras de flores resultaria numa redução da deposição de pólen e em um menor *fitness* reprodutivo nessas espécies.

Todas as populações com monomorfismo do presente estudo foram autocompatíveis. Para *P. carthagenensis* a autocompatibilidade na população da área Panga já havia sido relatada por Consolaro *et al.* (2011). A autocompatibilidade de *P. goyazensis* também foi registrada em uma população do sudeste goiano (Rodrigues & Consolaro 2013) e em *P. prunifolia* (Filgueira *pers. com*). A presença de autocompatibilidade já foi registrada em *taxa* heterostílicos, e as populações em que isso ocorre podem representar uma evidência evolutiva da quebra do sistema de incompatibilidade presente em espécies heterostílicas para uma transição para a autocompatibilidade (Dulberger 1964, Schou & Philipp 1983, Ornduff 1988, Richards & Koptur 1993, Negron-Ortiz 1996). Além disso, a autocompatibilidade presente nas espécies de *Psychotria* monomórficas pode ser uma característica favorável à reprodução das mesmas. Em ambientes perturbados a autocompatibilidade pode ser uma vantagem evolutiva, pois pode aumentar as oportunidades de reprodução via cruzamentos intramorfo (Barrett 1989, Husband & Barrett 1992a).

A maioria das espécies heterostílicas possui um sistema heteromórfico dialélico de autoincompatibilidade (Dulberger 1992). Porém, para a família Rubiaceae, principalmente para estudos com *Psychotria*, ainda não é conhecido se há uma relação entre o controle genético/fisiológico do sistema de incompatibilidade e o controle da morfologia floral por um Supergene como o registrado em outras famílias em que a distília ocorre (Consolaro *et al.* 2011, Rodrigues & Consolaro 2013). Além disso, as espécies do estudo apresentaram autocompatibilidade sem variações na morfologia floral, como por exemplo, a homostília, evidenciando assim essa independência da condição morfológica floral e o controle fisiológico da incompatibilidade em Rubiaceae.

Os dados de ocorrência da distília registrados em observações realizadas nos herbários visitados não diferiram dos observados nas espécies em campo. Observações em exsicatas não permitem inferências da manifestação da distília a níveis populacionais, mas permitem importantes registros. Caracteres morfológicos de espécies coletadas em diferentes ambientes que as espécies ocorrem, permitem comparar a manifestação da distília em diferentes cenários em que evoluíram esse sistema reprodutivo, suas variações e seus diferentes níveis de

especialização (Ferrero *et al* 2012). Assim variações na manifestação da distília em uma espécie podem ocorrer em diferentes locais, uma vez que os diferentes ecossistemas que essas espécies ocorrem, estão sujeitos a diferentes pressões seletivas ao longo da história evolutiva dessas espécies.

Não foi encontrada relação entre a ocorrência das características distílicas e suas variações nas populações com os diferentes níveis de intensidade de perturbação antrópica das áreas do estudo. Entretanto, a fragmentação de habitat representa condições limitantes à reprodução de espécies heterostílicas autoincompatíveis (Wilcock & Neiland 2002, Jacquemyn *et al.* 2003, Oostermeijer *et al.* 2003, Waites & Agren 2004). É possível que os impactos antrópicos analisados nas áreas desse estudo por Lopes (2010) não permitam averiguar os efeitos diretos e indiretos dessas perturbações na fragmentação de habitat e no sistema reprodutivo e de polinização das espécies de *Psychotria* estudadas. Além disso, as respostas do sistema distílico as perturbações podem não se manifestar de forma tão rápida, e as características encontradas nas populações estudadas podem representar reflexos de processos ecológicos e perturbações que ocorreram a mais tempo.

As espécies de *Psychotria* do neotrópico descendem de uma única linhagem que se diversificou na América Central (Sedio *et al.* 2013). Dois eventos geológicos recentes propiciaram a colonização dessas espécies na América do sul: o soerguimento da Cordilheira dos Andes (25-3 Ma) e a emergência do Istmo do Panamá (~3 Ma), que propiciaram o Grande Intercâmbio Biótico Americano, permitindo assim a troca de biodiversidade entre as Américas do Norte, Central e do Sul (Hoorn *et al* 2010, Antonelli *et al* 2009). Estudos abordando a história biogeográfica das florestas neotropicais revelam que os fragmentos de florestas estacionais secas encontradas atualmente na América do Sul, são fragmentos de formações residuais de uma vegetação muito maior e contínua, que deve ter atingido o máximo de sua extensão cerca de 18000 a 12000 anos atrás e sofreu retração após uma grande seca durante o Pleistoceno (Prado & Gibbs 1993).

O bioma Cerrado possui cerca e 32000 anos (Miranda *et al.* 2002), sua exploração e colonização pelo se deu no início do século XVIII, com expedições de bandeirantes em buscas de ouro no interior do Brasil, porém a ocupação extensiva no século XX (Klink & Moreira 2002). Estudos com *Psychotria* coexistentes demonstraram que essas espécies apresentam conservação de nicho filogenético e que a evolução das características que proporciona a essas espécies uma afinidade de nicho podem ter evoluído antes da colonização em simpatria das espécies de *Psychotria* em novas áreas como a América do Sul (Sedio *et al* 2012, Sedio *et al* 2013). Desse modo, deve se levar em consideração eventos estocásticos e

ecológicos que aconteceram no passado para compreender as características reprodutivas e os efeitos da fragmentação e da perturbação antrópica nessas espécies atualmente. É possível que as características encontradas nas espécies de *Psychotria* estudadas, sejam respostas destas taxa a pressões ecológicas ocorridas no passado e que talvez as variações encontradas na distília dessas espécies tenham ocorrido antes da colonização das áreas em que as espécies ocorrem atualmente.

O gênero *Psychotria* é considerado um modelo para o estudo de mecanismos de especiação nos (Hamilton 1989). Esse gênero serve como modelo de estudo da evolução dos sistemas reprodutivos, pois engloba espécies que apresentam diversas estratégias reprodutivas como hermafroditismo, distília e especialização de gênero (Neprokroeff *et al.* 1999). Estudos com filogenia molecular de espécies distílicas atípicas que possuem monomorfismo floral, sugerem que a perda da heterostília ocorreu de forma independente (Sakai & Wright 2008). Apesar das espécies estudadas coexistirem em muitas das áreas do estudo, é possível que suas diferentes manifestações da distília possam ter evoluído independentemente nesses habitats. Entretanto, estudos que averiguem as relações filogenéticas e que considerem as perturbações ambientais históricas e recentes que ocorreram em populações com diferentes formas de manifestação da distília possam elucidar os caminhos evolutivos e ecológicos que moldaram essas variações dentro do sistema reprodutivo distílico de espécies do gênero *Psychotria*.

Considerações finais

A distília é predominante nas espécies de *Psychotria* do presente estudo. Apesar da distília aparentemente funcional, ocorrem desvios na razão isoplética em algumas espécies, mas mesmo assim a reciprocidade entre os morfos é alta. Essas anomalias presentes em espécies com distília podem representar evidências de alterações nas condições ambientais nos ecossistemas em que essas espécies ocorrem.

Foi possível registrar que as espécies de *Psychotria* estudadas possuem ampla distribuição geográfica no Brasil e América Latina, e que os dados de herbário, apesar das limitações intrínsecas, mostraram características de distília consistentes com o encontrado para as espécies no presente estudo. No entanto, estes dados não permitem confirmar a isopleia ou outras formas de anomalias observadas nas populações estudadas *in situ* nos fragmentos de floresta estacional semidecidual do Triângulo Mineiro.

Apesar do histórico da perturbação antrópica das áreas estudadas, não houve uma relação clara entre a manifestação das características distílicas nas populações dessas áreas e a intensidade dessa perturbação. Porém, é provável que os distúrbios avaliados, não permitam averiguar suas consequências nos *taxa* estudados. Além disso, é possível que distúrbios ocorrentes no passado, a história de formação e colonização dos ecossistemas das espécies distílicas de *Psychotria* L, possam afetar a assembleia de polinizadores e assim apresentar efeitos negativos para a reprodução dessas espécies, que necessitam de vetores de pólen legítimo (polinização intermorfo) para a reprodução.

Espécies distílicas que apresentam quebra ou perda das características desse sistema reprodutivo, podem ter essas anomalias ocasionadas por diferentes gargalos reprodutivos que ocorreram em suas histórias de vida. Porém, é preciso compreender a influência dos diferentes efeitos fundadores e estocásticos, quais são os fatores genéticos que regulam as características morfológicas e o sistema de incompatibilidade em Rubiaceae e as relações filogenéticas das espécies que apresentam variações no sistema distílico. Desse modo, pesquisas nesses fatores contribuiriam para elucidar como pode ser sido moldado à manifestação e evolução dos diferentes fenótipos florais distílicos em populações distintas, e qual a influência das perturbações no ambiente na ocorrência da distília e na variação desse polimorfismo floral em espécies do gênero *Psychotria* L.

Referências Bibliográficas

- ANTONELLI, A.J., NYLANDER, J.A.A., PERSSON, C. & SANMARTIN, I. 2009. Tracing the impact of the Andean uplift on Neotropical plant evolution. *Proc. National Academy of Sciences. USA* 106, 9749–9754.
- BAKER, H.G. 1966. The evolution, functioning and breakdown of heteromorphic incompatibility systems. I. The Plumbaginaceae. *Evolution*: 20: 349-68.
- BARRETT, S.C.H. 1988. Evolution of breeding systems in *Eichhornia*, a review. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 75: 741–760.
- BARRETT, S.C.H. 1989. The evolutionary breakdown of heterostyly. *In: The Evolutionary Ecology of Plants* (Eds. Y. Linhart & J. Bock), pp.151–169. Westview Press, Boulder, Colorado.
- BARRETT, S.C.H. & RICHARDS, J.H. 1990. Heterostyly in tropical plants. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 55:35–61.
- BARRETT, S.C.H. 1992. EDITOR. *Evolution and Function of Heterostyly*. Springer-Verlag, Berlin.
- BARRETT, S.C.H., JESSON, L.K. & BAKER, A.M. 2000. The evolution and function of stylar polymorphisms in flowering plants. *Annals of Botany* 85:253-265.
- CASTRO, C.C. & ARAÚJO, A.C. 2004. Distyly and sequential pollinators of *Psychotria nuda* (Rubiaceae) in the Atlantic Rain Forest, Brazil. *Plant Systematic Evolution* 244: 131-139.
- COELHO, C.P. & BARBOSA, A.A. 2003. Biologia reprodutiva de *Palicourea macrobotrys* Ruiz & Pavon (Rubiaceae): um possível caso de homostilia no gênero *Palicourea* Aubl. *Revista Brasileira de Botânica* 26: 403-413.
- COELHO, C.P. & BARBOSA, A.A. 2004. Biologia reprodutiva de *Psychotria poeppigiana* Mull. Arg. (Rubiaceae), em mata de galeria. *Acta Botanica Brasilica* 18: 81-489
- CONSOLARO, H. 2004. Biologia reprodutiva de duas espécies de Rubiaceae de mata de galeria do Triângulo Mineiro – MG. Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação de Naturais. 58p.
- CONSOLARO, H., SILVA, E.B. & OLIVEIRA, P.E. 2005. Variação floral e biologia reprodutiva de *Manettia cordifolia* Mart. (Rubiaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 28:85–94.
- CONSOLARO, H. 2008. A distilia em espécies de Rubiaceae do bioma cerrado. Tese de doutorado. Universidade de Brasília, Programa de Pós-graduação em Ecologia, 115p.
- CONSOLARO, H., TOLEDO, R.D.P., FERREGUTI, R.L., HAY, J., OLIVEIRA, P.E. 2009. Distilia e homostilia em espécies de *Palicourea* Aubl. (Rubiaceae) do Cerrado do Brasil Central. *Revista Brasileira de Botânica* 32: 677-689.
- CONSOLARO, H., SILVA, S.C.S. & OLIVEIRA, P.E. 2011. Breakdown of distyly and pin-monomorphism in *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae). *Plant Species Biology* 26: 24-32.
- DAI, C. & GALLOWAY, L.F. 2011. Do dichogamy and herkogamy reduce sexual interference in a self-incompatible species? *Functional Ecology* 25:271-278.

- DELPRETE, P.G., SMITH, L.B. & KLEIN, R.M. 2004. Rubiaceae. In: Reis, A. (Ed), Vol I – Gêneros A-G. 1. Alseis até 19. Flora Ilustrada Catarinense. Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí, SC, Pp. 1-344.
- DULBERGER, R. 1964: Flower dimorphism and self-incompatibility in *Narcissus tazetta* L. *Evolution* 18: 361-3.
- DULBERGER R. 1992. Floral polymorphisms and their functional significance in the heterostylous syndrome. In: Barrett S. C. H. (ed.). *Evolution and Function of Heterostyly*. Springer, Berlin, pp. 41–84.
- ECKERT C.G. & BARRETT, S.C.H. 1992. Stochastic loss of style morphs from populations of tristylous *Lythrum salicaria* and *Decodon verticillatus* (Lythraceae). *Evolution* 46: 1014–1029
- FARIA, R.R., FERRERO, V., NAVARRO, L. & ARAUJO, A.C. 2012. Flexible mating system in distylous populations of *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae) in Brazilian Cerrado. *Plant Systematics and Evolution* 298:619-627.
- FERRERO, V., ROJAS, D., VALE, A. & NAVARRO, L. 2012. Delving into the loss of heterostyly in Rubiaceae: Is there a similar trend in tropical and non-tropical climate zones? *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 14:161-167.
- FONSECA, L.C.N., ALMEIDA, E.M., ALVES, M. A.S. 2008. Fenologia, morfologia floral e visitantes de *Psychotria brachypoda* (Müll. Arg.) Britton (Rubiaceae) em uma área de Floresta Atlântica, Sudeste do Brasil. *Acta Botanica Brasilica* 22, 63-69, 2008.
- FRAIVE, A.E. & MCDADE, L.A. 2001. Population-level variation in the expression of heterostyly in three species of Rubiaceae: does reciprocal placement of anthers and stigmas characterize heterostyly? *American journal of botany* 88:841-853.
- GANDERS, F.R. 1979. The biology of heterostyly. *New Zealand Journal of Botany* 17: 607-635.
- GONÇALVES, E.G.; LORENZI, H. 2011 *Morfologia Vegetal: organografia e dicionário ilustrado de morfologia das plantas vasculares*. 2ª Edição. São Paulo: Instituto Plantarum.
- HAMILTON C. W. 1989. A revision of Mesoamerican *Psychotria* Subgenus *Psychotria* (Rubiaceae), Part I: Introduction and species 1–16. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 76: 67–111.
- HAMILTON, C.W. 1990. Variations on a Distylous theme in mesoamerican *Psychotria* subgenus *Psychotria* (Rubiaceae). *Memoirs of the New York Botanical Garden* 55: 62-75.
- HOORN, C., WESSELINGH, F.P., TER STEEGE, H., BERMUDEZ, M. A., MORA, A., SEVINK, J., SANMARTÍN, I., SANCHEZ-MESEGUER, A., ANDERSON, C. L., FIGUEIREDO, J.P., JARAMILLO, C., RIFF, D., NEGRI, F.R., HOOGHIEMSTRA, H., LUNDBERG, J., STADLER, T., SÄRKINEN, T., ANTONELLI, A. 2010 Amazonia through time: Andean uplift, climate change, landscape evolution, and biodiversity. *Science* 330: 927–931.
- HUSBAND B.C., BARRETT S.C.H. 1992a. Pollinator visitation in populations in tristylous *Eichhornia paniculata* in northeastern Brazil. *Oecologia* 89, 365–371.

HUSBAND, B.C., BARRETT, S.C.H. 1992b. Genetic drift and the maintenance of the style length polymorphism in tristylous populations of *Eichhornia-paniculata* (Pontederiaceae). *Heredity* 69, 440–449.

ISHIHAMA, F., NAKANO, C., UENO, S., AJIMA, M., TSUMURA, Y. & WASHITANI, I. 2003. Seed set and gene flow patterns in an experimental population of an endangered heterostylous herb with controlled local opposite-morph density. *Functional Ecology* 17: 680–689.

ISHIHAMA, F., UENO, S., TSUMURA, Y., & WASHITANI, I. 2006: Effects of density and floral morph on pollen flow and seed reproduction of an endangered heterostylous herb, *Primula sieboldii*. *Journal of Ecology*, 94: 846–8.

JACQUEMYN, H., BRYN, R., HERMY, M. 2002: Patch occupancy, population size and reproductive success of a forest herb (*Primula elatior*) in a fragmented landscape. *Oecologia*, 130: 617–625.

KÉRY, M., MATTHIES, D., SCHMID, B. 2003. Demographic stochasticity in population fragments of the declining distylous perennial *Primula veris* (Primulaceae). *Basic Applied Ecology* 4:197–206.

KLINK, C.A. & A.G. MOREIRA. 2002. Past and current human occupation and land-use. In: P.S. Oliveira & R.J. Marquis (eds.). *The Cerrado of Brazil. Ecology and natural history of a neotropical savanna*. pp. 69-88. Columbia University Press, New York.

KOCH, A.K., SILVA, P.C., SILVA, C.A. 2010. Biologia reprodutiva de *Psychotria carthagenensis* (Rubiaceae), espécie distílica de fragmento florestal de mata ciliar, Centro-Oeste do Brasil. *Rodriguésia* 61:551-558.

KOHN, J.R. & BARRETT S.C.H. 1992 Experimental studies on the functional significance of heterostyly. *Evolution* 46:43–55.

LEVIN, D.A., 1974. Spatial segregation of pins and thrums in populations of *Hedyotis nigricans*. *Evolution* 28, 648–655.

LLOYD, D.G., WEBB C.J., DULBERGER R. 1990. Heterostyly in species of *Narcissus* (Amaryllidaceae) and *Hugonia* (Linaceae) and other disputed cases. *Plant Systematics and Evolution* 172: 215–227.

LOPES, S.F. 2010. Padrões florísticos e estruturais das florestas estacionais semidecíduais do triângulo mineiro, MG. Tese de doutorado. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de pós-graduação em ecologia e conservação de recursos naturais.

MAUÉS, M.M., OLIVEIRA, P.E.A.M. & KANASHIRO, M. 2008. Pollination biology in *Jacaranda copaia* (Aubl.) D. Don. (Bignoniaceae) at the “Floresta Nacional do Tapajós”, Central Amazon, Brazil. *Revista Brasileira de Botânica*, 31: 517-527.

MIRANDA, H.S., BUSTAMANTE, M.M.C. & MIRANDA, A.C. 2002. The fire factor. Pp. 51-68. In: OLIVEIRA, P.S. & MARQUIS, R.J. (Eds.). *Cerrados of Brazil*. New York, Columbia University Press.

NEGRÓN-ORTIZ, V. 1996. Reproductive biology of *Ernodea* (Rubiaceae-Spermacoceae) in the Bahamas and Puerto Rico. *Opera Botanica Belgica* 7: 403–412

OLIVEIRA, A.S. 2008. Biologia reprodutiva de *Psychotria* L. (Rubiaceae) em floresta estacional semidecidual no sudeste brasileiro. Dissertação de Mestrado. Unicamp.

- OOSTERMEIJER, J.G.B., LUIJTEN, S. & DENNIJS, J.C.M. 2003. Integrating demographic and genetic approaches in plant conservation. *Biological Conservation* 113: 389–398.
- ORNDUFF, R. 1988. Distyly and monomorphism in *Villarsia* (Menyanthaceae): some evolutionary considerations. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 75: 761–767.
- PASSOS, L. & SAZIMA, M. 1995. Reproductive biology of the distylous *Mannetia luteo-rubra* (Rubiaceae). *Acta Botanica Brasilica* 108: 309–313.
- PEREIRA, Z.V. VIEIRA, M.F., & CARVALHO-OKANO, R.M. 2006. Fenologia da floração, morfologia floral e sistema de incompatibilidade em espécies distílicas de Rubiaceae em fragmento florestal do Sudeste brasileiro. *Revista Brasileira de Botânica* 29: 471–480.
- PRADO, D.E. & GIBBS, P.E. 2013. Distributions in the dry seasonal forests of South America. *Annals of Missouri Botanical Garden* 80:902–927.
- PROCTOR, M., YEO, P. & LACK, A. 1996. The natural history of pollination. Harper Collins, London.
- RICHARDS, A.J. 1986. Plant breeding systems. George Allen & Unwin, London.
- RICHARDS, J.H. & S. KOPTUR. 1987. Definition and development of unusual heterostyly in *Guettarda scabra* (L.) Vent. Rubiaceae. Supplement to American Journal of Botany 74(5): 624.
- RICHARDS, J.H. & KOPTUR, S. 1993. Floral variation and distyly in *Guettarda scraba* (Rubiaceae). *American Journal of Botany* 80: 31–40.
- ROBBRECHT, E. 1988. Tropical woody Rubiaceae. *Opera Botanica Bélgica* 1:127.
- RODRIGUES, E.B. & CONSOLARO, H. 2013. Atypical distyly in *Psychotria goyazensis* Mull. Arg. (Rubiaceae), an intramorph self-compatible species. *Acta Botanica Brasilica* 27:155–161.
- SAKAI, S. & WRIGHT, S.J. 2008. Reproductive ecology of 21 coexisting *Psychotria* species (Rubiaceae): when is heterostyly lost? *Biological Journal of the Linnean Society* 93:125–134.
- SANCHEZ, J.M., FERRERO, V. & NAVARRO, L. 2008. A new approach to the quantification of degree of reciprocity in distylous (sensu lato) plant populations. *Annals of botany* 102:463–72.
- SCHOU, O. & PHILIPP, M. 1983. An unusual heteromorphic incompatibility system. II. Pollen tube growth and seed sets following compatible and incompatible crossing with *Anchusa officinalis* L. (Boraginaceae). Pages 219–227. In: MULCAHY, D.L., OTTAVIANO, E. Pollen: biology and implications for plant breeding. Elsevier, New York.
- SEDIO, B.E., WRIGHT, S.J. & DICK, C.W. 2012. Trait evolution and the coexistence of a species swarm in the tropical forest understorey. *Journal of Ecology* 100:1183–1193.
- SEDIO, B.E., PAUL, J.R., TAYLOR, C.M. & DICK, C.W. 2013. Fine-scale niche structure of Neotropical forests reflects a legacy of the Great American Biotic Interchange. *Nature* 4:1–8.

- SOBREVILLA, C., RAMIREZ, N., ENRECH, N.X. 1983. Reproductive biology of *Palicourea fendleri* and *P. petiolaris* (Rubiaceae) heterostylous shrubs of a tropical cloud forest in Venezuela. *Biotropica* 15: 161-169.
- SOUZA, V. C., LORENZI, H., 2005. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum.
- TEIXEIRA, L. A. G. & MACHADO, I. C. 2004. Biologia da polinização e sistema reprodutivo de *Psychotria barbiflora* DC. (Rubiaceae). *Acta Botanica Brasilica* 18: 853-86.
- VALOIS-CUESTA, H., LÓPEZ-PEREA, D., QUINTO-VALOYES, Z. 2009. Reproductive ecology of *Psychotria poeppigiana* (RUBIACEAE): a comparative analysis between long-styled and short-styled plants. *Ecotrópicos* 22:1-12.
- VAN ROSSUM, F. & TRIEST, L. 2006. Within-population genetic variation in the distylous *Primula veris*: Does floral morph anisoplethy matter in fragmented habitats? *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 7:263–273.
- WAITES, A.R, AGREN, J. 2004. Pollinator visitation, stigmatic pollen loads and among-population variation in seed set in *Lythrum salicaria*. *Journal of Ecology* 92:512–526
- WILCOCK, C. & NEILAND, R. 2002. Pollination failure in plants: why it happens and when it matters. *Trends in Plant Science* 7: 270–277.

Capítulo 2: Carga de pólen estigmático, padrões espaciais e populacionais de espécies distílicas de *Psychotria* L. (Rubiaceae) em florestas estacionais semidecíduais com diferentes níveis de distúrbio antrópico.

Introdução

As florestas tropicais são ecossistemas com maior riqueza e diversidade no mundo, reunindo de 20% a 40% das espécies de plantas e animais existentes no planeta (Myers 1991). A fragmentação do habitat reduz áreas contínuas de floresta a pequenas porções isoladas, diminuindo assim, o número efetivo de indivíduos de uma população e consequentemente, o número de doadores de pólen e a quantidade provável de pólen compatível a ser depositado nos estigmas das flores, ocasionando reduções nas taxa de frutificação das espécies em ambientes fragmentados (Laurance *et al.* 2000).

Gentry & Emmons (1987) afirmam que Rubiaceae é a família com maior abundância no sub-bosque de florestas neotropicais. Estudos de composição florística da comunidade de sub-bosque de fitofisionomias florestais em ecossistemas florestais brasileiros confirmam que Rubiaceae é a uma das famílias com maior representatividade na comunidade de plantas desse estrato (Arantes 2002, Martini 2002, Oliveira & Amaral 2005, Kozera *et al.* 2009). Dentre as Angiospermas, Rubiaceae é a quarta maior família botânica, possuindo cerca de 650 gêneros e 12000 espécies de distribuição pantropical (Delprete *et al.* 2004). No Brasil, ocorrem cerca de 130 gêneros e 1500 espécies (Souza & Lorenzi 2005). Rubiaceae é uma família que apresenta várias estratégias reprodutivas, dentre as quais é particularmente comum a distília (Robbrecht 1988).

A distília é um dimorfismo floral controlado geneticamente e caracterizado pelo posicionamento recíproco de estigmas e anteras entre morfotipos florais (hercogamia recíproca); e por um sistema de incompatibilidade auto e intramorfo (Barrett 1992). Espécies distílicas apresentam dois morfos florais que ocorrem separadamente nos indivíduos, o morfo longistilo possui o estigma posicionado acima do nível das anteras, e brevistilo com o estigma posicionado abaixo do nível das anteras (Hamilton 1990). Esses morfos, normalmente são encontrados em proporções semelhantes em populações distílicas (isopleitia), sendo tal característica regida por fatores genéticos e ecológicos, como o sistema de incompatibilidade e o serviço de polinização (Ganders 1979). Anomalias na distribuição de morfos e nas outras características associadas à distília têm sido associadas a mudanças ambientais e nos serviços de polinização (Barrett & Shore 2008).

Psychotria L. (Rubiaceae), é um gênero com riqueza representativa no estrato herbáceo-arbustivo de florestas tropicais (Gentry & Emmons 1987). Além disso, é o gênero que mais possui espécies distílicas dentre as angiospermas (Baker 1958). Espécies distílicas necessitam de um serviço de polinização especializado para que ocorra fluxo intermorfo regular de pólen e produção de frutos (Barret 1992, Ganders 1979, Hamilton 1990). As espécies de *Psychotria* ofertam recursos à fauna de ambientes florestais, como o néctar e os frutos que são importantes recursos para espécies de aves que geralmente dispersam os diásporos dessas espécies (Morellato 1992, Grandisoli 1997).

O conhecimento do padrão espacial de distribuição de espécies de florestas tropicais e suas variações podem contribuir para a resolução de importantes questões ecológicas sobre os ecossistemas em que essas espécies ocorrem (Clark *et al.* 1995). Dale (2004) afirma que os padrões espaciais das espécies resultam dos processos históricos e evolutivos da história de vida dessas espécies, e sugere que o padrão espacial de espécies vegetais pode ser regido pelos seguintes fatores: i) fatores morfológicos, que se baseiam nos padrões de tamanho e crescimento populacional das plantas; ii) fatores ambientais, ambientes espacialmente heterogêneos podem causar padrões de distribuição espacial de espécies também heterogêneos; iii) fatores fitossociológicos, que permitem que o arranjo espacial de uma espécie cause efeitos na ocorrência de outras espécies através de suas interações.

A densidade populacional e o arranjo espacial dos morfos florais distílicos constituem fatores ecológicos importantes para a reprodução de espécies com polimorfismos florais, devido aos impactos nas taxas de fluxo de pólen que podem levar a uma reprodução diferencial nessas espécies (Nishihiro *et al.* 2000, Cesaro & Thompson 2004, Ornelas *et al.*, 2004a,b, Ishihama *et al.* 2006). Em espécies distílicas foi encontrado por meio de comparações filogenéticas, que ocorreram mudanças nas características distílicas devido consequências da baixa densidade populacional e da disponibilidade de pólen limitada em espécies do gênero *Psychotria* L. na Ilha de Barro Colorado, Panamá (Sakai & Wright 2008). O isolamento e o tamanho reduzido de fragmentos de florestas podem levar a redução do número de indivíduos reprodutivos, influenciando no fluxo de pólen por meio da diminuição no número de doadores de pólen e da quantidade de pólen depositado nessas populações (Aguilar & Galetto 2004, Aizen & Feinsinger 1994, Cunningham 2000, Sih & Baltus 1987).

O objetivo desse estudo foi averiguar a carga estigmática de pólen, a distribuição espacial e a densidade populacional e de espécies distílicas de *Psychotria* L., além de averiguar a influência da intensidade da perturbação antrópica na densidade populacional dessas espécies.

Para isso foram testadas as seguintes hipóteses: i) populações distílicas típicas apresentam deposição regular de pólen em ambos os morfos florais, enquanto populações anisopléticas apresentam variações na deposição regular de pólen entre seus morfos distílicos e populações monomórficas não apresentam limitação de deposição regular de pólen em suas flores; ii) populações com variações na distilia (monomorfismo e anisopleitia) apresentam maior densidade populacional que espécies distílicas típicas; iii) a distribuição espacial de espécies distílicas típicas é diferente de populações com desvios na manifestação da distilia; iv) a densidade populacional das espécies pode ser negativamente afetada pela intensidade da perturbação antrópica das áreas de estudo.

Material e métodos

Todas as espécies do estudo apresentam porte arbustivo ou subarbustivo e constituem parte do sub-bosque das áreas do estudo. Para o estudo foram analisadas 22 populações das espécies: *Psychotria capitata* Ruiz & Pav., *P. carthagenensis* Jacq., *P. deflexa* DC., *P. goyazensis* Müll. Arg., *P. hoffmannseggiana* (Willd. ex Roem. & Schult.) Müll. Arg., *P. poeppigiana* Müll. Arg., *P. prunifolia* (Kunth) Steryerm. e *P. trichophoroides* Mull. Arg.

O estudo foi desenvolvido em 9 áreas de remanescentes de floresta estacional semidecidual na região do Triângulo Mineiro, Minas Gerais, Brasil. Os remanescentes foram analisados por Lopes (2010) que quantificou os impactos antrópicos presentes nessas áreas, utilizando o método de matrizes de interação. Os remanescentes foram analisados quanto à presença ou ausência de lixo, trilhas, estradas externas e/ou de acesso, estradas internas, gado e também pelo tipo de borda dos fragmentos. Assim, foi atribuída uma nota (0 – 4) para cada fator de perturbação antrópico avaliado, e cada fragmento obteve uma nota final, resultante da soma do conjunto de impactos antrópicos analisados para cada área, e foram classificadas em quatro grupos de perturbação (tab.1.2).

Nas áreas de estudo durante o período de floração foram percorridos em cada fragmento transectos não lineares de comprimento variado (Tab. 1.2), com margem de amostragem de 5 metros para a esquerda e para a direita. Nas populações amostradas foi verificada a ocorrência da distília (isopleτία, hercogamia recíproca e incompatibilidade auto e intramórfo), e suas variações em de oito espécies do gênero *Psychotria*. A presença de reação de incompatibilidade foi analisada pelo crescimento de tubos polínicos utilizando microscopia de fluorescência (Martin 1959). A presença de deposição anômala de calose e a interrupção do crescimento dos tubos polínicos foram consideradas como evidência de reação de incompatibilidade.

Tabela 1.2: Áreas do estudo, tamanho do transecto amostrado em fragmentos de floresta estacional semidecidual e suas notas finais quanto à intensidade dos impactos antrópicos. (Adaptado de Lopes 2010).

Fragmento	Área (ha)	Tamanho do transecto	
		amostrado (Km)	Nota de impactos
Panga	16	1.5	27
Água Fria	200	3.2	46
Uberaba	70	1.1	48
Glória	30	0.98	64
Pereira	35	0.87	103
São José	20	1.2	103
Irara	22.3	1.8	110
Cruzeiro	17.5	1.3	122
Monte Carmelo	119	3.9	202

Para investigar a carga de pólen estigmático, 50 pistilos foram coletados em cada população, 2 a 3 flores por indivíduo (25 de cada morfo quando as populações apresentavam os dois morfos) por volta das 12:00 do dia da antese. Foi observado em campo que por volta das 07:30 as espécies já apresentavam receptividade estigmática (abertura dos lobos estigmáticos) e liberação de pólen (constatado pela presença de pólen nas anteras das flores), e que dessa maneira ficaram expostas aos polinizadores por toda a manhã. As flores coletadas foram fixadas em álcool 70%, e seus pistilos foram submetidos à análise de crescimento de tubos polínicos utilizando microscopia de fluorescência (Martin 1959). A carga de pólen estigmática foi averiguada pela presença de grãos de pólen nas papilas estigmáticas de flores expostas aos polinizadores. Foram aplicados testes de qui-quadrado para analisar diferenças nas frequências de registro da carga de pólen estigmático entre os morfos florais nas espécies. Foi realizado um teste de regressão logística para verificar se a presença ou ausência de fluxo de pólen possui relação com a intensidade da perturbação antrópica das áreas do estudo. Testes realizados no software estatístico Systat 10.2.

Cada indivíduo reprodutivo das espécies encontrado nos transectos foi georreferenciado utilizando GPS Etrex Vista HCx configurado com o datum WGS 84. Para cada indivíduo amostrado foram registradas as coordenadas geográficas do mesmo e em seguida aquelas do seu vizinho mais próximo e assim sucessivamente. Indivíduos de mesmo morfo com distância menor que 0,5m entre si foram considerados como mesmo indivíduo para evitar amostragem de possíveis rebrotas. A distribuição espacial das populações e dos diferentes morfos florais encontrados foi calculada utilizando os dados georreferenciados

(coordenadas geográficas dos indivíduos amostrados) no estudo utilizando a média das distâncias do vizinho mais próximo (Average nearest neighbor) (Clark & Evans 1954). Esse índice permite dizer como indivíduos de uma população são distribuídos espacialmente ao longo de uma área amostrada. Esse índice apresenta em média valores entre de -2,58 a 2,58, assim populações com $Rn < -1.96$ são consideradas com distribuição espacial agregada, populações com Rn no intervalo de - 1.96 e 1.96 possuem distribuição aleatória, já populações com $Rn > 1.96$ apresentam distribuição uniforme. As análises de padrão de distribuição de pontos foram efetuadas ao nível populacional e também considerando as diferentes manifestações da distília nas espécies de estudo: distília típica (ocorrência dos dois morfos florais com isopletia), distília atípica (ocorrência dos dois morfos florais em razão desequilibrada) e monomorfismo (presença de apenas um morfo floral na população), essas análises foram realizadas no software Arcmap 10.0.

Para estimar a densidade dos indivíduos reprodutivos das espécies do estudo, foi utilizado o método da distância ordenada, um método que utiliza a distância ao vizinho mais próximo para estimar a densidade (Pollard 1971). Análise realizada no software Ecological Methodology 7.0 (Krebs 1999). Para verificar se há diferenças entre a densidade populacional das duas espécies mais abundantes nas áreas amostradas: *P. hoffmannseggiana* (distílica típica) e *P. prunifolia* (monomórfica longistílica) foi efetuado um teste t para duas amostras. Já, para analisar se há relação entre a densidade das populações de *Psychotria* L. amostradas no estudo e o somatório do conjunto de impactos antrópicos das áreas do estudo foi efetuado um teste de correlação de Pearson. Os dados de densidade populacional e os valores da perturbação antrópica passaram por uma transformação logarítmica para realização da análise de correlação. Testes estatísticos realizados utilizando o software Systat 10.2.

Resultados

Analisando as características distílicas das populações estudadas, as mesmas foram classificadas em dois grupos (Tab. 2.2):

Distília típica: engloba as populações com distília típica: presença dos dois morfos em isopleτία e incompatibilidade auto e intramorfo: *Psychotria capitata* (n=1), *P. hoffmannseggiana* (n=3), *P. deflexa* (n=2), *P. carthagenensis* (n=1) e *P. poeppigiana* (n=2).

Distília atípica: espécies monomórficas, aquelas com ocorrência de apenas um morfo floral e com presença de autocompatibilidade: *P. goyazensis* (n=3), *P. prunifolia* (n=5) e *P. carthagenensis* (n=1). Também abrange as espécies anisopléticas: *P. deflexa* (n=1) e *P. hoffmannseggiana* (n = 1); *P. trichophoroides* (n=3);

Nas populações analisadas, um número muito reduzido de pistilos apresentou carga de pólen estigmático. A maioria das populações distílicas típicas apresentou deposição de pólen em ambos os morfos florais, mas em algumas delas não foi registrada carga de pólen nos estigmas de suas flores. Quando houve diferenças significativas na carga estigmática de pólen entre os morfos florais das populações, a frequência de presença de pólen foi maior no morfo longistilo do que no brevistilo nas espécies distílicas típicas, exceto pela população de *P. deflexa* da área Monte Carmelo (tab. 3.2).

Não foi encontrada carga estigmática de pólen na população anisoplética de *P. hoffmannseggiana* do estudo. As populações anisopléticas de *P. trichophoroides* e de *P. deflexa* apresentaram carga estigmática em ambos os morfos florais. No entanto, em apenas uma delas, *P. trichophoroides* da área Cruzeiro, a carga estigmática de pólen foi maior no morfo longistilo, que é o morfo em menor proporção nessa população (tab. 3.2).

As populações monomórficas de *P. prunifolia* apresentaram as maiores frequências de presença de carga estigmática comparadas a todas as outras populações de *Psychotria* estudadas. Entretanto, as populações monomórficas de *P. goyazensis* apresentaram baixa frequência de carga estigmática de pólen e na população monomórfica de *P. carthagenensis* não foi registrada carga estigmática de pólen nos pistilos analisados (tab. 3.2). Não foi encontrada relação entre a presença ou ausência de carga estigmática de pólen nas populações e intensidade da perturbação antrópica ($t = 0,095$, $p=0.92$, $n=14$, MacFadden's Rho-Squared = 0.02).

Tabela 2.2: Características distílicas de populações de *Psychotria* L. de florestas estacionais semidecíduais do Triângulo Mineiro. Monomorfismo: ocorrência de apenas um morfo floral nas populações do estudo. Isopleitia considerada quando χ^2 com proporção esperada dos morfos de 1:1 $p > 0,05$.

Espécie	Monomorfismo	Isopleitia	Anisopleitia	Reação de Incompatibilidade	
				Morfo	
				L	B
<i>Psychotria capitata</i>					
Cruzeiro		X		-	-
<i>P. hoffmannseggiana</i>					
Irara		X			X
Cruzeiro			X ^d	-	
São José		X		X	X
<i>P. poeppigianna</i>					
Irara		X		X	X
Glória		X		X	0
<i>P. carthagenensis</i>					
Panga	X ^l		X ^a	X	
Água Fria		X		X	X
<i>P. prunifolia</i>					
Glória	X ^l			-	
Irara	X ^l			-	
Pereira	X ^l			-	
Uberaba	X ^l			-	
São José	X ^l			-	
<i>P. goyazensis</i>					
Irara	X ^l			-	
São José	X ^l			-	
Uberaba	X ^l			-	
<i>P. deflexa</i>					
Cruzeiro			X ^c	X	X
Monte Carmelo		X		X	X
Uberaba	X ^b			Não amostrada	
Panga		X		X	X
<i>P. trichophoroides</i>					
Cruzeiro			X ^c	X	X
Irara			X ^c	X	X
São José			X ^c	X	X

a População onde foi encontrado apenas 1 indivíduo do morfo brevistilo; *b*: população onde foi encontrado apenas 4 indivíduos do morfo brevistilo; *c*: populações anisopléticas com maior predominância do morfo brevistilo; *d*: população anisopléticas com maior predominância do morfo longistilo *l*: monomorfismo longistilo.

A maioria dos indivíduos reprodutivos de *Psychotria* L encontradas no sub-bosque apresentou distribuição espacial agregada. A distribuição espacial das espécies distílicas típicas diferiu das espécies distílicas com anisopleitia e as populações monomórficas apresentaram maior índice de agregamento do que as distílicas típicas (Tab. 4.2). A distribuição espacial dos morfos florais de espécies distílicas seguiu o mesmo o padrão espacial global das populações. As populações distílicas típicas *P. hoffmannseggiana*, *P. deflexa* e *P. carthagenensis* ocorrem de forma agregada nas áreas de estudo. No entanto *P. capitata* e *P. poeppigiana*, foram espécies tipicamente distílicas e apresentaram distribuição aleatória em duas áreas do estudo (Tab. 4.2). Exceto por uma população de *P. prunifolia* que apresentou distribuição uniforme na área São José, as outras populações monomórficas longistilas de *P. goyazensis* e *P. prunifolia* ocorreram de forma agregada nas áreas de estudo, porém apresentam maior índice de agregação quando comparadas às espécies distílicas. (Tab. 4.2).

Populações com desvios na isopleitia apresentaram padrões de distribuição espaciais distintos entre seus morfos florais. Na área Cruzeiro isso foi observado na população de *P. hoffmannseggiana*, anisoplética com maior número de indivíduos longistilos, tanto a população quanto o morfo longistilo apresentaram padrão de distribuição aleatório, enquanto o morfo brevistilo em menor proporção na população apresentou distribuição uniforme. Já em *P. deflexa*, o oposto foi observado, a população também da área Cruzeiro é anisoplética com maior proporção de indivíduos com flores brevistilas, no entanto a população e o morfo brevistilo apresentaram distribuição agregada, já o morfo longistilo apresentou distribuição aleatória (Tab 4.2).

Tabela 3.2: Carga estigmática de pólen de populações de *Psychotria* L. ocorrentes em 9 áreas de floresta estacional semidecidual do Triângulo Mineiro. Valores de $p < 0.05$ indicam frequência de carga estigmática de pólen em um dos morfos florais.

Espécie/área	Frequência de pistilos com carga estigmática de pólen (%) n = 50	Carga estigmática de pólen (n de pistilos)		χ^2	Valor de p
		Longistilo	Brevistilo		
<i>Psychotria capitata</i>					
Cruzeiro	0	-	-	-	-
<i>P. hoffmannseggiana</i>					
Irara	8	4			
Cruzeiro	0	-			
São José	16	7	1	7.5	0.006
<i>P. poeppigianna</i>					
Irara	14	5	2	0.171	0.679
Glória	26	13	0	18.98	0.01
<i>P. carthagenensis</i>					
Panga	0	-	-	-	-
Água Fria	46	17	6	6.62	0.01
<i>P. prunifolia</i>					
Glória	62	31			
Irara	28	14			
Cruzeiro	44	22			
Uberaba	24	12			
São José	56	28			
<i>P. goyazensis</i>					
Irara	6	3			
São José	0				
Uberaba	18	9			
<i>P. deflexa</i>					
Cruzeiro	38	11	8	0.42	0.514
Monte Carmelo	28	4	10	11.98	0.001
Panga	16	6	2	0.8	0.371
<i>P. trichophoroides</i>					
Cruzeiro	14	1	6	6.1	0.001
Irara	46	17	6	6.62	0.01
São José	32	11	5	0.66	0.416

Tabela 4.2: Padrão de distribuição de 8 espécies de *Psychotria* L. de sub-bosque de 10 áreas de florestas estacionais do Triângulo Mineiro e dos morfos florais distílicos que apresentam. Padrão de distribuição: C: agrupada; R: aleatória; D: uniforme. Ocorrência da distília: T: distílica típica; AL: anisopletia com predominância do morfo longistilo; AB: anisopletia com predominância do morfo brevistilo; M: Monomorfismo longistilo.

Espécie		Rn-score:	Padrão de distribuição	Ocorrência da distília
<i>Psychotria capitata</i>				
Cruzeiro	População	-0.91	R	T
	Brevistilo	0.35	R	
	Longistilo	0.1	R	
<i>Psychotria hoffmannseggiana</i>				
Cruzeiro	População	-1.24	R	AL
	Brevistilo	5.87	D	
	Longistilo	-0.44	R	
Irara	População	-7.5	C	T
	Brevistilo	-4.36	C	
	Longistilo	-3.18	C	
Pereira	População	-9.0	C	
	Brevistilo	-5.85	C	T
	Longistilo	-4.73	C	
São José	População	-15.37	C	
	Brevistilo	-3.83	C	T
	Longistilo	-5.12	C	
<i>Psychotria poeppigianna</i>				
Irara	População	-1.87	R	T
Glória	População	-1.74	R	T

Psychotria carthagenensis

Panga	População	-2.82	C	M
Água Fria	População	-7.12	C	T
	Brevistilo	-3.24	C	
	Longistilo	-3.75	C	

P. prunifolia

Glória	Longistilo	-6.60	C	M
Irara	Longistilo	-22.72	C	M
Pereira	Longistilo	-6.82	C	M
Uberaba	Longistilo	-9.16	C	M
São José	Longistilo	151.68	D	M

Psychotria goyazensis

Irara	Longistilo	-6.82	C	M
São José	Longistilo	-10.61	C	M
Uberaba	Longistilo	-9.16	C	M

Psychotria deflexa

Cruzeiro	População	-6.58	C	AB
	Brevistilo	-5.66	C	
	Longistilo	-1.53	R	
Monte Carmelo	População	-12.03	C	T
	Brevistilo	-8.1	C	
	Longistilo	-6.04	C	
Panga	População	-7.29	C	T
	Brevistilo	-3.29	C	
	Longistilo	-3.99	0.000065C	

<i>Psychotria trichophoroides</i>					
Cruzeiro	População	-7.16	0.000000C	AB	
	Brevistilo	-3.74	0.000181C		
	Longistilo	-2.16	0.030624C		
Irara	População	-10.14	0.000000C	AB	
	Brevistilo	-8.57	0.000000C		
	Longistilo	-5.02	0.000001C		
São José	População	-5.05	0.000000C	AL	
	Brevistilo	-2.18	0.029368C		
	Longistilo	-3.96	0.000076C		

As populações distílicas típicas e as com anisopleitia apresentaram baixas densidades de indivíduos reprodutivos (tab. 5.2). Em geral, as populações monomórficas de *P. prunifolia* apresentaram altos valores de densidade, no entanto esse padrão não foi encontrado em todas as populações de *P. goyazensis* do estudo (tab. 5.2). Avaliando isoladamente as duas espécies mais frequentes nas áreas de estudo, as populações de *P. prunifolia*, espécie distílica atípica com monomorfismo longistilo, apresentaram maior densidade de indivíduos reprodutivos que as de *P. hoffmannseggiana*, espécie distílica típica ($t_{(2,8)} = 3.2$, $p = 0,003$).

Tabela 5.2: Densidade de indivíduos reprodutivos em populações de espécies de *Psychotria* L. ocorrentes em 9 áreas de floresta estacional semidecidual do Triângulo Mineiro.

Área	Espécie	Densidade populacional (plantas/ha)	Número de indivíduos
Cruzeiro	<i>Psychotria trichophoroides</i>	6.87	33
	<i>P. hoffmannseggiana</i>	3.56	25
	<i>P. capitata</i>	2.47	22
São José	<i>P. prunifolia</i>	490.7	109
	<i>P. hoffmannseggiana</i>	132.05	67
	<i>P. goyazensis</i>	22.68	15
	<i>P. trichophoroides</i>	60.59	43
Irara	<i>P. hoffmannseggiana</i>	20.3	56
	<i>P. goyazensis</i>	1.3	9
	<i>P. prunifolia</i>	382.45	54
	<i>P. poeppigiana</i>	3.09	11
	<i>P. trichophoroides</i>	15.65	63
Pereira	<i>P. prunifolia</i>	668.17	105
	<i>P. hoffmannseggiana</i>	26.42	84
Uberaba	<i>P. goyazensis</i>	306.37	65
	<i>P. prunifolia</i>	44.18	70
Panga	<i>P. carthagenensis</i>	33.43	37
	<i>P. deflexa</i>	28.83	32
Glória	<i>P. poeppigiana</i>	40.36	22
	<i>P. prunifolia</i>	827.19	53
Monte Carmelo	<i>P. deflexa</i>	1.65	68
Água Fria	<i>P. carthagenensis</i>	242.16	99

A densidade populacional de plantas em reprodução das espécies estudadas demonstrou ser negativamente afetada pela intensidade da perturbação antrópica. Foi encontrada uma relação negativa, porém fraca, entre a densidade populacional de espécies do gênero *Psychotria* L. e a intensidade da perturbação antrópica das áreas do estudo ($r = -0.378$, $p < 0.05$, $n = 22$) (Fig 1.2).

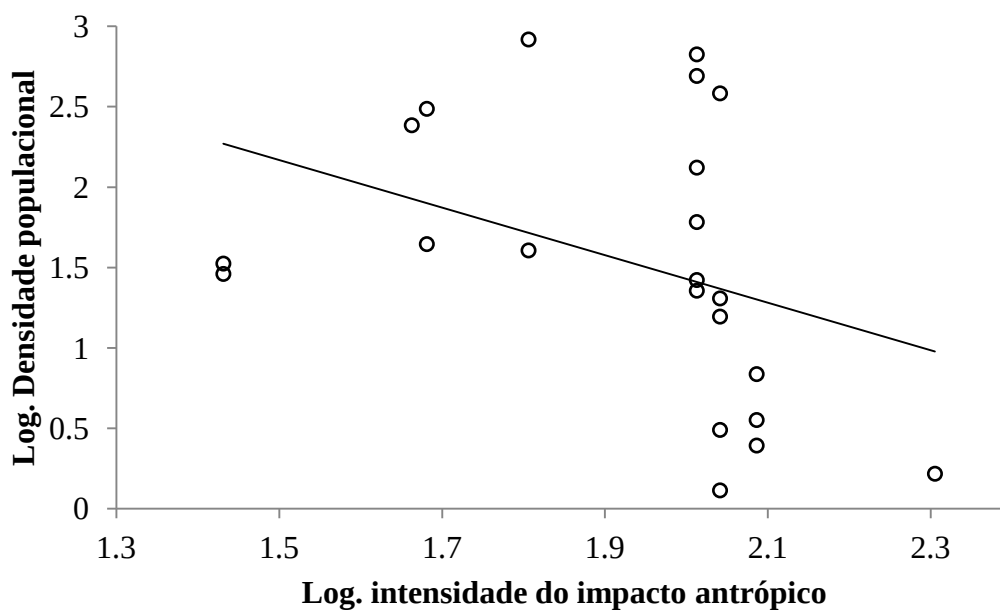


Figura 1.2: Relação entre a densidade populacional de indivíduos reprodutivos de espécies do gênero *Psychotria* L. e a intensidade da perturbação antrópica em florestas estacionais semidecíduais do Triângulo Mineiro, Brasil. ($r = -0.378$, $p < 0.05$, $n = 22$) : populações de *Psychotria* L.

Discussão

A maioria das populações de *Psychotria* do estudo apresentaram poucos pistilos com carga estigmática de pólen e em algumas a carga de pólen foi ausente. A limitação de pólen ocorre quando uma baixa quantidade ou qualidade de pólen (grãos de pólen incompatíveis ou interespecíficos) é recebida nos estigmas das flores, afetando negativamente a produção de sementes (Ashman *et al.* 2004). A baixa carga de pólen encontrada nos pistilos de *Psychotria* analisados pode ser um indício de limitação de pólen nas populações estudadas, ou evidências de falhas no serviço de polinização das espécies distílicas estudadas. Além disso, o reduzido tamanho populacional registrado nas *Psychotria* estudadas pode ser uma evidência de consequências de possíveis limitações de pólen, e caso essas espécies tenham seu crescimento populacional dependente da produção de sementes, isto pode representar riscos a persistência e regeneração dessas populações.

Foi encontrada uma maior carga de pólen estigmático em flores longistilas comparadas às brevistilas em algumas espécies como *P. carthagenensis* da área Água Fria e *P. hoffmannseggiana* em São José. A deposição assimétrica de pólen é comumente observada entre os morfos florais de espécies distílicas (Ganders 1974, Nicholls 1986, Feinsinger & Busby 1987, Stone 1996, Ree 1997, Nishihira & Washitani 1998). A maior frequência de pólen no morfo longistilo encontrada em algumas populações do estudo assemelha-se a encontrada em outros estudos, que apontaram que o posicionamento exserto do estigma no morfo longistilo pode aumentar a possibilidade do contato das papilas estigmáticas com o grão de pólen presente nos polinizadores (Nicholls 1985, Dulberger 1992).

A posição do estigma também pode ser uma característica que pode influenciar a carga de pólen em espécies monomórficas. Foi encontrada alta frequência de carga de pólen nas populações monomórficas longistilas de *P. prunifolia*, porém foi registrada uma baixa carga de pólen nas flores das populações monomórficas de *P. goyazensis*. As flores de *P. prunifolia* apresentam estigma exserto enquanto *P. goyazensis* possui flores em que a altura do estigma não ultrapassa a altura da corola das flores, e assim, seus estigmas podem ter maior contato com grãos de pólen presentes em seus visitantes.

As populações anisopléticas de *Psychotria* apresentaram baixa carga estigmática de pólen. Diferenças no fluxo de pólen entre morfos florais distílicos podem refletir em uma produção de frutos desproporcionais entre os morfos, experimentos com *P. suerrensis* demonstraram que a produção de sementes é limitada pela eficiência no fluxo de pólen intermorfo (Stone 1995). Assim, é possível que em populações anisopléticas, a ausência de morfos opostos possa ocasionar limitação de pólen e afetar a reprodução dessas espécies.

Um fluxo ótimo de pólen compatível disponível para a reprodução é esperado em populações que apresentam taxa de 1:1 na proporção de ocorrência de seus morfos florais (Washitani 2000, Kéry *et al.* 2003, Shibayama & Kadono 2003). No entanto, mesmo ocorrendo isopletia nas populações de *P. deflexa* da área Monte Carmelo, *P. carthagenensis* de Água Fria e *P. poeppigiana* da área Glória, foi registrada assimetria na deposição de pólen com maior presença de pólen no morfo brevistilo. A assimetria no fluxo de pólen em espécies distílicas pode ocasionar especialização de gênero em algumas espécies distílicas (García-Robledo 2007). No entanto foi observado em campo que as espécies distílicas de *Psychotria* amostradas nesse estudo apresentaram frutificação de ambos os morfos nas áreas em que elas ocorrem.

Na população de *P. capitata*, e em algumas populações de *P. hoffmannseggiana* não foi observado presença de pólen nos pistilos analisados. Populações distílicas típicas necessitam polinizações legítimas (polinização intermorfo) para a reprodução e isso é possível por meio de transferência de pólen entre estigmas e anteras da mesma altura em flores dos diferentes morfos (Barrett 1992, Kohn & Barrett 1992). A ausência de pólen nessas populações pode ser uma evidência de falhas no serviço de polinização dessas espécies, indícios de falhas na reciprocidade das espécies distílicas ou ainda um reflexo dos efeitos da reduzida densidade populacional de algumas espécies e da anisopletia encontrada em algumas populações do estudo.

A estrutura espacial de populações distílicas típicas diferiu de populações com desvios na manifestação da distilia. O morfo floral em maior proporção nas populações anisopléticas apresentou um padrão espacial diferente da estrutura global da população e também do morfo oposto. Já as populações monomórficas aparentemente são mais agregadas do que as populações distílicas típicas

O arranjo espacial afeta fortemente o sucesso reprodutivo em populações vegetais (Kunin 1993, Groom 1998, Richards *et al.* 1999). Fatores ecológicos como a estrutura espacial o tamanho e /ou a densidade populacional e a atividade dos polinizadores pode afetar a as taxas de transferência de pólen e ocasionar uma reprodução diferencial em espécies heterostílicas (Nishihira *et al.* 2000, Cesaro & Thompson 2004; Ornelas *et al.* 2004a,b). Foi observada em *Primula sieboldii*, espécie heterostílica, uma maior produção de sementes é maior em populações onde a densidade local do morfo com pólen compatível é maior e que a ausência de plantas do morfo oposto em uma escala local podem levar a sérias reduções na produção de sementes com maior sucesso reprodutivo quando as plantas avaliadas estavam entre dois e três metros do morfo oposto (Ishiyama *et al.* 2006).

Os diferentes padrões de distribuição dos morfos de populações anisopléticas como as de *Psychotria* do presente estudo, representam grandes distâncias entre os morfos distílicos nessas populações. Feldman (2008) encontrou que o aumento da distância intermorfo ocasionou uma redução no número de planas visitadas por polinizadores. A anisopleia e os distintos arranjos espaciais dos morfos florais de populações anisopléticas avaliadas podem representar riscos a reprodução dessas espécies nas áreas de estudo, uma vez que, a ausência de indivíduos do morfo oposto resulta em uma baixa disponibilidade de pólen compatível para a reprodução em populações com desvios na proporção dos morfos florais (efeito Allee) levando a uma redução no tamanho populacional das espécies em que isso ocorre e por consequência uma redução do sucesso reprodutivo (Matsumura & Washitani 2000, Shibayama & Kadono 2003, Brys *et al.* 2004), e ao aumento dos efeitos da deriva genética nessas populações (Byers & Meagher 1992, Richman & Kohn, 1996).

Foi encontrada uma segregação espacial dos morfos florais nas espécies do estudo. Em espécies distílicas típicas como as de *Psychotria*, que necessitam de um sistema de polinização cruzada intermorfo para a formação de frutos, diferenças nos padrões de distribuição dos morfos podem resultar num fluxo irregular de pólen intermorfo e a uma diminuição na distância de dispersão de pólen (Morris 1993, Karron *et al.* 1995, Cresswell 1997). Como visitantes florais tendem a visitar plantas adjacentes a primeira planta que visitaram (Morris 1993, Karron *et al.* 1995, Cresswell 1997), populações distílicas típicas que necessitam de polinizadores para a reprodução e para o fluxo intermorfo de pólen podem ter o serviço polinização afetado pelo agrupamento de populações e de seus morfos florais. Além disso, populações que ocorrem de forma agrupada e que possuem um número reduzido de indivíduos apresentaram baixas taxas de visitação e polinização em suas flores (Sih & Baltus 1987, Sowig 1989, Lopes & Buzato 2007).

Em geral tanto as espécies distílicas típicas quanto as com anisopleia apresentaram baixa densidade populacional de indivíduos reprodutivos. A baixa densidade populacional pode levar a altos níveis de autofertilização, redução no tamanho populacional e especiação por deriva genética em florestas tropicais (Federov 1966). Populações distílicas com tamanho reduzido de *Primula veris* (Primulaceae) em habitats fragmentados apresentaram erosão genética devido à deriva genética (Van Rossum *et al.* 2004). Além disso, populações com baixa densidade podem apresentar baixas em seu sucesso reprodutivo tornar-se sujeitas as consequências do "efeito Allee" (Allee 1931, Stephens *et al.* 1999) em que populações podem ser extintas devido densidades populacionais muito baixas (Groom 1998, Hackney & McGraw 2001)

As populações monomórficas de *P. prunifolia* apresentaram maior densidade do que as populações distílicas típicas de *P. hoffmannseggiana*. Em estudos no Panamá foi constatada uma maior frutificação de espécies monomórficas de *Psychotria* comparada a de populações distílicas típicas (Sakai & Wright 2008). Para *P. prunifolia* a autocompatibilidade pode ser uma característica benéfica ao crescimento populacional dessa espécie. Em ambientes onde a relação planta polinizador pode ser negativamente afetada pela perturbação antrópica, a autocompatibilidade pode ser uma característica vantajosa em populações monomórficas como as das áreas do estudo, uma vez que assim essas espécies podem evitar os efeitos negativos de falhas no serviço de polinização e assegurar a reprodução pela autogamia.

Foi encontrada uma relação negativa, porém fraca, entre a densidade populacional de indivíduos reprodutivos de espécies do gênero *Psychotria* L. e a intensidade da perturbação antrópica das áreas do estudo. Uma das consequências da fragmentação de habitat é o isolamento de populações e o declínio do tamanho populacional, que pode afetar a reprodução pela limitação no fluxo de pólen (Aisen & Feisinger 1994a), e acarretar dificuldades para a reprodução de espécies distílicas, sobretudo para populações com pequeno tamanho populacional (Eckert and Barrett, 1994, Baker *et al.* 2000).

A densidade populacional é um dos fatores espaciais que mais influenciam o fluxo de pólen (Morris 1993, Karron *et al.* 1995b, Kunin 1997, Richards *et al.* 1999), ocasionando baixas na produção de sementes em populações com reduzido tamanho populacional. (Silander 1978; Klinkhamer *et al.* 1989; Allison 1990). Um dos efeitos negativos da baixa densidade populacional em plantas distílicas, foi explicitado em *Piriqueta caroliniana* (Turneraceae), populações com baixa densidade populacional apresentaram baixo *fitness*, devido à redução no número de visitas e a baixa carga de pólen recebido nessas populações (Feldman 2008). No entanto, o *fitness* das populações estudadas não foi avaliado, e desse modo, não é possível avaliar as consequências da baixa densidade populacional na reprodução e na qualidade e quantidade de prole das espécies de *Psychotria* estudadas.

Desvios na isopletia, segregação espacial dos morfos, diferenças no fluxo regular de pólen ou diferentes estratégias reprodutivas entre os morfos podem indicar diferentes respostas do sistema distílico a condições ecológicas desfavoráveis nos diferentes ecossistemas dessas espécies (Levin 1974, Barrett *et al.* 1989, Eckert and Barrett 1995, McCall 1996, Mal & Lovett-Doust 1997, Larson & Barrett 1998, Matsumura & Washitani 2002, Kéry *et al.* 2003). O reduzido tamanho populacional e a evidência de limitação de pólen encontrados nas espécies estudadas podem representar reflexos da resposta do sistema reprodutivo distílico às perturbações recentes e históricas das áreas de ocorrência da espécies

estudadas, além de respostas aos efeitos fundadores e eventos estocásticos que as espécies foram expostas ao longo de sua história de vida. Entretanto, é necessário avaliar as consequências ecológicas e evolutivas da limitação de pólen, segregação espacial de morfos florais e da baixa densidade populacional na reprodução, crescimento e persistência de espécies distílicas de *Psychotria* para entender a funcionalidade e eficiência desse sistema reprodutivo nestas espécies.

Considerações finais

Dentre as populações estudadas, a maioria apresentou baixa frequência de pistilos com pólen e em algumas populações não foi registrada carga de pólen estigmático. Essas populações podem estar sujeitas a limitação de pólen o que pode afetar a produção de sementes e o *fitness* dessas espécies. A frequência de carga de pólen estigmático foi maior no morfo longistilo do que no brevistilo, e em populações com monomorfismo, espécies com pistilos mais exsertos a corola tiveram maior frequência de carga de pólen do que espécies com pistilos mais inclusos. Este aspecto da morfologia floral parece favorecer uma maior deposição de pólen em espécies com flores longistilas com pistilos mais exsertos.

A maioria das populações possui distribuição espacial agregada. Espécies com desvios na isopletia apresentaram segregação e distribuição espaciais distintas entre seus morfos florais. Devido às espécies de *Psychotria* estudadas necessitarem de polinizadores para o fluxo intermorfo de pólen e para a reprodução, estas podem ter o serviço polinização afetado pelo agregamento e segregação espacial dos morfos florais, devido ao comportamento dos polinizadores de visitar plantas próximas umas as outras, e ao aumento na distância de deslocamento dos polinizadores para que ocorra o fluxo de pólen intermorfo.

As espécies distílicas apresentaram densidades populacionais reduzidas. No entanto, a autocompatibilidade de populações monomórficas, pode ser uma vantagem reprodutiva comparada a espécies distílicas típicas com incompatibilidade intramorfo, devido à possibilidade de reprodução pela autogamia. A intensidade da perturbação antrópica influencia de forma negativa a densidade populacional das espécies. No entanto, é possível que a fragmentação tenha um impacto maior sobre estas espécies e populações mais dependentes de polinização especializada, como as distílicas típicas, enquanto populações monomórficas podem não ser afetadas de maneira semelhante pela intensidade da perturbação antrópica.

As populações estudadas ocorrem em ambientes sujeitos à perturbação antrópica, possuem evidências de limitação de pólen e apresentam reduzido tamanho populacional. Porém, é preciso avaliar a influência das pressões ecológicas históricas e recentes da história de vida dessas espécies, além de averiguar outros componentes do fluxo de pólen para determinar realmente se ocorre limitação de pólen nessas espécies e a influência desses fator e das perturbações antrópicas no tamanho populacional e na reprodução de espécies distílicas de *Psychotria*.

Referências Bibliográficas

- AGUILAR, R. & GALETTO, L. 2004. Effects of forest fragmentation on male and female reproductive success in *Cestrum parqui* (Solanaceae). *Oecologia* 138: 513-520.
- AIZEN, M.A. & P. FEINSINGER. 1994a. Forest fragmentation, pollination and plant reproduction in a chaco dry forest, Argentina. *Ecology* 75: 330-351.
- AIZEN, M.A. & P. FEINSINGER. 1994b. Habitat fragmentation, native insect pollinator, and feral honey bees in Argentina "Chaco Serrano." *Ecological Applications*. 4: 378– 392.
- ALLEE, W.C. 1931. Animal aggregations: a study in general sociology. University of Chicago Press, Chicago.
- ALLISON, T.D. 1990. Pollen production and plant density affect pollination and seed production in *Taxus canadensis*. *Ecology*, 71, 516–552
- ARANTES, A.A. 2002. Florística, fitossociologia e fenologia do estrato herbáceo-arbustivo de um gradiente florestal no Triângulo Mineiro. Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Área de Biologia Vegetal). 225p.
- ASHMAN, T.L., KNIGHT, T.M., STEETS, J. A., AMARASEKARE P., BURD, M., CAMPBELL, D.R., DUDASH, M.R., JOHNSTON, M.O., MAZER, S.J., MITCHELL, R.J., MORGAN, M.T., WILSON, W.G. 2004. Pollen limitation of plant reproduction: Ecological and evolutionary causes and consequences. *Ecology* 85: 2408–2421
- BAKER, H.G. 1958. Studies in the reproductive biology of West African Rubiaceae. *Journal of West African Scientific Association* 4: 9-24.
- BARRETT, S.C. H., MORGAN, M., HUSBAND, B. C. 1989. The dissolution of a complex genetic polymorphism: the evolution of self-fertilization in tristylous *Eichhornia paniculata* (Pontederiaceae). *Evolution* 43: 1398–1416.
- BARRETT, S.C.H. 1992. Evolution and Function of Heterostyly. Springer-Verlag, Berlin.
- BARRETT, S.C.H. & SHORE, J.S. 2008. New Insights on Heterostyly: Comparative Biology, Ecology and Genetics. In *Self-incompatibility in flowering plants - Evolution, Diversity and Mechanism*. Springer-Verlag Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, p.3-32.
- BRYN, R., JACQUEYN, H., ENDELS, P., VAN ROSSUM, F., HERMY, M., TRIEST, L., DEBRUYN, L., BLUST, G. D. E. 2004: Reduced reproductive success in small populations of the self-incompatible *Primula vulgaris*. *Journal of Ecology*, 92: 5–14.
- BYERS, D.L., MEAGHER, T.R., 1992. Mate availability in small populations of plant species with homomorphic sporophytic self-incompatibility. *Heredity* 68, 353–359.
- CESARO, A.C & THOMPSON, J.D. 2004. Darwin's cross-promotion hypothesis and the evolution of stylar polymorphism. *Ecology Letters*. 7:1209-1215.
- CLARK, P.J., EVANS, F.C. 1954. Distance to nearest neighbour as a measure of spatial relationships in populations. *Ecology* 35: 445-453.
- CLARK, D.A., CLARK, D.B., SANDOVAL, R.M., M.V.C. CASTRO. 1995. Edaphic and human effects on landscape scale distribution of tropical rain forest palms. *Ecology* 76: 2581-2594.

- CRESSWELL, J.E. 1997. Spatial heterogeneity, foraging behaviour and pollinator-mediated gene flow: bumblebee movements in variously aggregated rows of oil-seed rape. *Oikos*, 78, 546–556.
- CUNNINGHAM, S.A. 2000. Effects of habitat fragmentation on the reproductive ecology of four plant species in Mallee Woodland. *Conservation Biology* 14:758–768.
- DALE, MARK, R.T. 2004. Spatial Pattern analysis in Plant Ecology. 2004th ed., Cambridge University Press, Cambridge.
- DELPRETE P.G., SMITH, L.B., KLEIN, R.M. 2004 Rubiaceae. Pages 1–344. In: REIS, A. Ed. Flora ilustrada Catarinense. Herbário Barbosa Rodrigues, Santa Catarina.
- DULBERGER, R. 1992. Floral polymorphisms and their functional significance in the heterostylous syndrome. In: Barrett S. C. H. (ed.). *Evolution and Function of Heterostyly*. Springer, Berlin, pp. 41–84.
- ECKERT, C.G. & BARRETT, S.C.H. 1994. Inbreeding depression in partially self-fertilizing *Decodon verticillatus* (Lythraceae): population-genetic and experimental analyses. *Evolution* 48: 952–964.
- ECKERT, C.G. & BARRETT, S.C.H. 1995. Style morph ratios in tristylous *Decodon verticillatus* (Lythraceae): selection vs. historical contingency. *Ecology* 76: 1051–1066.
- FEDEROV, A.A. 1966. The structure of the tropical rain forest and speciation in the humid tropics. *Journal of Ecology*, 54: 1–11.
- FEINSINGER, P. & BUSBY, W. H. 1987. Pollen carryover: experimental comparisons between morphs of *Palicourea lasiorrachis* (Rubiaceae), a distylous, bird-pollinated, tropical treelet. *Oecologia* 73: 231–235.
- FELDMAN, T.S. 2008. The plot thickens: does low density affect visitation and reproductive success in a perennial herb, and are these effects altered in the presence of a co-flowering species? *Oecologia* 156:807–817.
- GANDERS F. R. 1974. Disassortative pollination in the distylous plant *Jepsonia heterandra*. *Canadian Journal of Botany* 52: 2401– 2406.
- GANDERS, F.R. 1979. The biology of heterostyly. *New Zealand Journal of Botany* 17: 607–635.
- GARCÍA-ROBLEDO, C. 2008. Asymmetry in pollen flow promotes gender specialization in morphs of the distylous neotropical herb *Arcytophyllum lamarum* (Rubiaceae). *Evolutionary Ecology* 22:743–755.
- GENTRY, A.H. & EMMONS, L.H. 1987. Geographical Variation in Fertility, Phenology, and Composition of the Understory of Neotropical Forests. *Biotropica* 19: 216–227.
- GRANDISOLI, E.A.C. 1997. Biologia reprodutiva e estrutura da população de *Psychotria suterella* Muell. Arg. (Rubiaceae) em um fragmento de mata secundária em São Paulo (SP). Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo.
- GRAVES, G.R. & GOTELLI, N.J. 1983. Neotropical land-bridge avifaunas: new approaches to null hypotheses in biogeography. *Oikos* 41, 322–333
- GROOM, M.J. 1998. Allee effects limit population viability of an annual plant. *American Naturalist* 151(6):487–496

- HACKNEY, E.E., MCGRAW, J.B. 2001. Experimental demonstration of an Allee effect in American ginseng. *Conservation Biology* 15(1):129–136.
- HAMILTON, C.W. 1990. Variations on a Distylous theme in Mesoamerican *Psychotria* subgenus *Psychotria* (Rubiaceae). *Memoirs of the New York Botanical Garden* 55: 62-75.
- ISHIHAMA, F., UENO, S., TSUMURA, Y., WASHITANI, I. 2006. Effects of density and floral morph on pollen flow and seed reproduction of an endangered heterostylous herb, *Primula sieboldii*. *Journal of Ecology* 94:846–855.
- KARRON, J.D., THUMSER, N.N., TUCKER, R. HESSENAUER, A.J. 1995a. The influence of population density on outcrossing rates in *Mimulus ringens*. *Heredity* 75: 175 180.
- KARRON, J.D., TUCKER, R., THUMSER, N.N., REINARTZ, J.A. 1995b. Comparison of pollinator flight movements and gene dispersal patterns in *Mimulus ringens*. *Heredity* 75: 612–617.
- KÉRY, M., MATTHIES, D., SCHMID, B. 2003. Demographic stochasticity in population fragments of the declining distylous perennial *Primula veris* (Primulaceae). *Basic Applied Ecology* 4:197–206.
- KLINKHAMER, P.G.L., DE JONG, T.J., DE BRUYN, G.J. 1989. Plant size and pollinator visitation in *Cynoglossum officinale*. *Oikos*, 54, 201–204.
- KOHN, J.R. & BARRETT S.C.H. 1992 Experimental studies on the functional significance of heterostyly. *Evolution* 46:43–55.
- KOZERA, C., RODRIGUES, R.R. DITTRICH, V.A. DE O. 2009. Composição florística do sub-bosque de uma floresta ombrófila densa montana, Morretes, PR, BR. *Floresta* 39:323-334.
- KREBS, C. 1999. *Ecological Methodology*. Addison Wesley Educational Publishers, Menlo Park.
- KUNIN W.E. 1993. Sex and the single mustard: population density and pollinator behavior effects on seed set. *Ecology* 74: 2145– 2160
- KUNIN, W.E. 1997. Population size and density effects in pollination: pollinator foraging and plant reproductive success in experimental arrays of *Brassica kaber*. *Journal of Ecology* 85: 225–234.
- LARSON B. M. H. & BARRETT S. C. H. 1998. Reproductive biology of island and mainland populations of *Primula mistassinica* (Primulaceae) on Lake Huron shorelines. *Canadian Journal of Botany* 76: 1819–1827.
- LAURANCE, W. F., DELAMONICA, P., LAURANCE, S. G., VASCONCELOS, H. L., LOVEJOY, T. E. 2000. Rainforest fragmentation kills big trees. *Nature* 404:836.
- LEVIN, D.A. 1974. Spatial segregation of pins and thrums in populations of *Hedyotis nigricans*. *Evolution* 28, 648–655.
- LOPES, L.E. & BUZATO, S. 2007. Variation in pollinator assemblages in a fragmented landscape and its effects on reproductive stages of a self-incompatible treelet, *Psychotria suterella* (Rubiaceae). *Oecologia* 154:305–14.

- MAL, T. & LOVETT-DOUST, J., 1997. Morph frequencies and floral variation in a heterostylous colonizing weed, *Lythrum salicaria*. *Canadian Journal of Botany* 75: 1034–1045.
- MARTIN, F. W., 1959. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Technology* 34, pp. 125-128.
- MARTINI, A.M.Z. 2002. Estrutura e composição da vegetação e chuva de sementes em sub-bosque, clareiras naturais e área perturbada por fogo em floresta tropical no sul da Bahia. Tese de doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Programa de Pós-graduação em Ecologia. 138p.
- MATSUMURA, C. & WASHITANI, I. 2002. Heterostylous morph differences in pollen transfer and deposition patterns in *Primula sieboldii* on a visitation by a queen bumblebee, measured with a semi-natural experiment system. *Plant Species Biology* 17: 1–12.
- MCCALL, C. 1996. Gender specialization and distyly in hoary puccoon, *Lithospermum croceum* (Boraginaceae). – *American Journal of Botany* 83: 162–168
- MORELLATO, L. P. C. 1992. Sazonalidade e dinâmica de ecossistemas florestais na Serra do Japi. Pp. 98- 110. In: L. P. C. Morellato (Org.), *História natural da Serra do Japi: ecologia e preservação de uma área florestal no sudeste do Brasil*. Editora da Unicamp, Campinas.
- MORRIS, W.F. 1993. Predicting the consequences of plant spacing and biased movement for pollen dispersal by honey bees. *Ecology* 74: 493–500.
- MURCIA, C. 1996. Forest fragmentation and the pollination of Neotropical plants. In J. Schelhas & R. Greenberg (Eds). *Forest patches in tropical landscapes*, pp. 19–36. Island Press, Washington, DC.
- MYERS, N. 1991. Tropical forests: present status and future outlook. *Climatic Change*, 19: 3-32.
- NICHOLLS, M.S. 1985 The evolutionary breakdown of distyly in *Linum tenuifolium* (Linaceae). *Plant Systematics Evolution* 150: 291–301.
- NICHOLLS, M.S. 1986. Population composition, gender specialization, and the adaptive significance of distyly in *Linum perenne* (Linaceae). *New Phytologist* 102: 209–217.
- NISHIHIRO, J. & WASHITANI, I. 1998 Patterns and consequences of self-pollen deposition on stigmas in heterostylous *Persicaria japonica* (Polygonaceae). *American Journal of Botany*, 85, 352–359.
- NISHIHIRO, J., WASHITANI, I., THOMSON, J.D., THOMSON, B.A. 2000. Patterns and consequences of stigma height variation in a natural population of a distylous plant, *Primula sieboldii*. *Functional Ecology* 14: 502–512.
- OLIVEIRA, A.N., AMARAL, I.L. 2005. Aspectos florísticos, fitossociológicos e ecológicos de um sub-bosque de terra firme na Amazônia Central, Amazonas, Brasil. *Acta Amazonica*, 35:1-16.
- ORNELAS, J. F., C. GONZÁLEZ., L. JIMÉNEZ., C. LARA, & A. J. MARTÍNEZ. 2004a. Reproductive ecology of distylous *Palicourea padifolia* (Rubiaceae) in a tropical montane forest. I. Hummingbirds' effectiveness as pollen vectors. *American Journal of Botany* 91: 1052–1060.

- ORNELAS, J. F., C. GONZÁLEZ., L. JIMÉNEZ., C. LARA, & A. J. MARTÍNEZ. 2004b. Reproductive ecology of distylous *Palicourea padifolia* (Rubiaceae) in a tropical montane forest. II. Attracting and rewarding mutualistic and antagonistic visitors. *American Journal of Botany* 91: 1061–1069.
- POLLARD JH. 1971. On distance estimators of density in randomly distributed forests. *Biometrics* 27:991–1002
- REE R. H. 1997. Pollen flow, fecundity, and the adaptive significance of heterostyly in *Palicourea padifolia* (Rubiaceae). *Biotropica* 29: 298–308.
- RICHARDS, C.M., CHURCH, S., MCCAULEY, D.E. 1999. THE INFLUENCE OF POPULATION size and isolation on gene flow by pollen in *Silene alba*. *Evolution*. 1999;53:63–73.
- RICHMAN, A.D., KOHN, J.R. 1996. Learning from rejection: the evolutionary biology of single-locus incompatibility. *Trends in Ecology and Evolution*. 11, 497–502.
- ROBBRECHT, E. 1988. Tropical woody Rubiaceae. *Opera Botanica Bélgica* 1:127.
- SAKAI, S. & WRIGHT, S.J. 2008. Reproductive ecology of 21 coexisting *Psychotria* species (Rubiaceae): when is heterostyly lost? *Biological Journal of the Linnean Society* 93:125–134.
- SHIBAYAMA, Y., KADONO, Y. 2003. Floral morph composition and pollen limitation in the seed set of *Nymphoides indica* populations. *Ecological Research*. 18: 725–737.
- SIH, A. & BALTUS, M.S. 1987. Patch size, pollinator behavior, and pollination limitation in catnip. *Ecology* 68:1679–1690.
- SILANDER, J.A. J.R. 1978. Density-dependent control of reproductive success in *Cassia biflora*. *Biotropica*, 10, 292–296.
- SOUZA, V.C., LORENZI, H., 2005. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em AGP II. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum.
- SOWIG, P. 1989. Effects of flowering plants patch size on species composition of pollinator communities, foraging strategies, and resource partitioning in bumblebees (Hymenoptera: Apidae). *Oecologia* 78: 550–558.
- STEPHENS, P.A., SUTHERLAND, W.J., FRECKLETON. R.P. 1999. What is the Allee effect? *Oikos* 87:185–190
- STONE J.L. 1995. Pollen donation patterns in a tropical distylous shrub (*Psychotria suerrensis*; Rubiaceae). *American Journal of Botany* 82:1390–1398.
- STONE, J.L. 1996. Components of pollination effectiveness in *Psychotria suerrensis*, a tropical distylous shrub. *Oecologia* 107: 504–512.
- VAN ROSSUM, F. & TRIEST, L. 2006. Within-population genetic variation in the distylous *Primula veris*: Does floral morph anisoplethy matter in fragmented habitats? *Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics* 7:263–273.
- WASHITANI, I. 1996. Predicted genetic consequences of strong fertility selection due to pollinator loss in an isolated population of *Primula sieboldii*. *Conservation Biology* 10: 59–64.

Considerações Gerais

Baseado nos resultados dos dois capítulos foi possível observar que a distília predomina nas espécies de *Psychotria* L. estudadas, mas, anomalias como a anisopleτία, ausência de hercogamia recíproca perfeita entre os morfos longistilo e brevistilo e também populações monomórficas estão presentes nessas espécies. Foi possível observar que variações podem se manifestar nessas espécies, mesmo entre populações de fragmentos próximos como os estudados, como em *Psychotria carthagenensis* e *P. trichophoroides*. O monomorfismo parece ser uma característica das populações de *P. goyazensis* e *P. prunifolia* nas áreas em que essas espécies ocorreram. Observações em diferentes herbários brasileiros não mostraram divergências marcadas na ocorrência da distília entre as espécies estudadas. Mas estes dados têm limitações e observações diretas num maior número de populações serão necessárias para constatar se estas espécies são estritamente monomórficas ou não.

Apesar das anomalias encontradas na distília de algumas populações, a morfologia floral parece assegurar o fluxo de pólen nas populações, porém devido à baixa frequência de carga estigmática de pólen, é possível que as populações estudadas estejam sujeitas a limitação de pólen. Já a autocompatibilidade de espécies monomórficas parece ser vantajosa a essas espécies, em situações que ocorram ausência de polinizadores nas áreas em que as espécies ocorrem. As populações também apresentam tamanho populacional reduzido, que pode ser uma consequência da possível limitação de pólen ou de falhas no serviço de polinização.

O agregamento de morfos e os diferentes padrões de distribuição espacial entre os morfos de uma população podem ser reflexos da anisopleτία em algumas espécies. Esses fatores também podem envolver riscos a reprodução, devido ao aumento nas distâncias entre plantas de morfos opostos e por consequência um aumento na distância que os polinizadores tem que percorrer no sub-bosque destas florestas para que grãos pólen compatíveis sejam transportados entre flores longistilas e brevistilas. Dessa forma, o *fitness* reprodutivo dessas plantas pode ser afetado pela deposição diferencial de pólen entre os morfos.

Mesmo com os diferentes níveis de perturbação antrópica nas áreas amostradas, as anomalias na distília registradas em algumas populações parecem não ser diretamente influenciadas por esses distúrbios. No entanto, é preciso considerar outros distúrbios antrópicos, eventos estocásticos, biogeográficos e evolutivos que as espécies são sujeitas ao longo de sua história de vida, e a influência desses fatores nas características populacionais e distílicas das espécies de *Psychotria* e as consequências na reprodução das mesmas.

Os caminhos evolutivos que acarretam a manutenção ou quebra do sistema reprodutivo distílico, particularmente para Rubiaceae ainda necessitam ser esclarecidos, e o estudo da persistência dessas populações típicas e anômalas em seus ecossistemas, permitiriam uma maior compreensão da real eficiência desse sistema reprodutivo nesses *taxa* e se as anomalias registradas apresentam efeitos positivos ou negativos à reprodução dessas espécies.