



Universidade Federal de Uberlândia
Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de
Recursos Naturais

SISTEMA REPRODUTIVO, DISTILIA E GRAUS DE RECIPROCIDADE EM
RUBIACEAE ARBUSTIVAS DO SUB-BOSQUE DE FORMAÇÕES FLORESTAIS
DO CERRADO

CHRISTIANO PERES COELHO

Uberlândia (MG), 2013

**SISTEMA REPRODUTIVO, DISTILIA E GRAUS DE RECIPROCIDADE EM
RUBIACEAE ARBUSTIVAS DO SUB-BOSQUE DE FORMAÇÕES FLORESTAIS
DO CERRADO**

**Tese apresentada ao Programa de
Pós-Graduação em Ecologia e
Conservação de Recursos Naturais da
Universidade Federal de Uberlândia
(UFU), como requisito parcial para
obtenção do título de Doutor em
Ecologia**

CHRISTIANO PERES COELHO

ORIENTADOR: DR. PAULO EUGÊNIO ALVES MACEDO OLIVEIRA

Uberlândia (MG), 2013

CHRISTIANO PERES COELHO

**SISTEMA REPRODUTIVO, DISTÍLIA E GRAUS DE RECÍPROCIDADE EM
RUBIACEAE ARBUSTIVAS DO SUB-BOSQUE DE FORMAÇÕES FLORESTAIS
DO CERRADO**

Tese apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais da Universidade Federal de Uberlândia (UFU), como requisito parcial para obtenção do título de Doutor em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais.

Aprovada em 18 de dezembro de 2013

Membros Titulares

Dra. Francielle Paulina de Araújo
Universidade Federal de Uberlândia



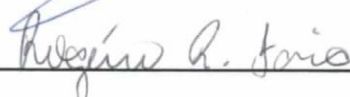
Dra. Maria del Rocío Pérez Barrales
University of Portsmouth - Inglaterra



Dr. Hélder Nagai Consolaro
Universidade Federal de Goiás



Dr. Rogério Rodrigues Faria
Universidade Federal do Mato Grosso do Sul



Membros Suplentes

Dra. Diana Salles Sampaio
Universidade Federal de Uberlândia

Dra. Helena Maura Torezan Silingardi
Universidade Federal de Uberlândia


Prof. Dr. Paulo Eugênio Alves Macedo Oliveira
Universidade Federal de Uberlândia
Orientador

Uberlândia (MG)
Dezembro- 2013

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

Sistema de Bibliotecas da UFU, MG, Brasil.

C672s Coelho, Christiano Peres, 1978-
2013 Sistema reprodutivo, distília e graus de reciprocidade em rubiaceae
arbustivas do sub-bosque de formações florestais do cerrado / Christiano
Peres Coelho. -- 2013.
175 f. : il.

Orientador: Paulo Eugênio Alves Macedo Oliveira.

Tese (doutorado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de
Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais.

Inclui bibliografia.

1. Ecologia - Teses. 2. Rubiaceae - Teses. 3. Ecologia do cerrado - Teses.
I. Oliveira, Paulo Eugênio Alves Macedo. II. Universidade Federal de
Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de
Recursos Naturais. III. Título.

CDU: 574

DEDICATÓRIA

*Ser biólogo é amar a vida em todas as suas formas,
É querer um mundo mais justo e saudável,
É querer bem a todos que nos cercam
É compartilhar o que o planeta nos oferece.
Uma professora, bióloga, me ensinou isso muito bem...
Dedico esse trabalho a minha eterna professora,*

Minha mãe

Maria das Graças Peres Coelho (in memoriam)

Esse sonho também é seu...

AGRADECIMENTOS

A história dessa conquista que agora se concretiza, já tem mais de uma década, isso porque muitas coisas acontecem na vida e nos direcionam para caminhos um pouco tortuosos, os quais nos ensinam de outras maneiras. Saber aproveitar todos esses caminhos, creio, seja a maior dificuldade. Em todos esses anos, muitos aprendizados e amadurecimentos aconteceram, questões se tornaram mais significáveis e compreensíveis. Mas ao final, valeu a pena, e para que tudo se concluísse eu tive o apoio e a compreensão de inúmeras pessoas. Agradeço a cada uma, que, por menor que tenha sido a ajuda, colaborou para o desfecho e realização dessa obra. Espero que de alguma forma este trabalho possa retribuir aos futuros leitores toda essa colaboração recebida. Dessa forma queria agradecer:

Ao Prof. Dr. Paulo Eugênio Oliveira, que acima de tudo acreditou na possibilidade de execução desse trabalho e me ofereceu inúmeras oportunidades de crescimento, profissional e pessoal, obrigado Paulo.

A minha companheira e amiga Marcela, pelo apoio incondicional em todos esses anos de lutas, vitórias e crescimento. Te amo.

As minhas filhas Júlia e Sarah, que acompanharam muitos momentos dessa caminhada e me ensinaram que existem coisas simples e muito mais importantes nessa vida.

A meu pai e meus irmãos que, mesmo de longe, sempre me apoiaram em todas as minhas escolhas.

Ao professor Glein Monteiro Araújo o qual tomo como inspiração para minha carreira, sempre com alegria e paixão no ensino e na pesquisa.

Ao amigo e colega de Instituição Hélder Nagai Consolaro que com seu rigor e competência auxiliou de forma intensa toda a análise dos dados e principalmente compartilhou a grande experiência de um estágio na Universidad de Sevilla, Espanha, valeu Japonês, temos que voltar logo lá.

A todos do laboratório de Botânica e herbário da Universidad de Sevilla, pelo apoio, incentivo e amizade durante os 4 meses e meio de estágio sanduíche, em especial ao Prof. Salvador Talavera, Profa. Montse, Prof. Pedro Ortiz, Prof. Juan Arroyo, Profa. Rocio Pérez-Barrales, Prof. Fran, Maitê, Javi, Maria, José Ruiz (PEK) e demais amigos da Espanha.

Ao Pek, José Ruiz, por auxiliar em vários momentos de discussão sobre heterostilia e também por nos mostrar quanto a Espanha é bela e acolhedora, principalmente la Calle.

As amigas Roselia e Vale do Café Brasil, em Sevilla Espanha, por nos suportar por todo esse tempo de estágio, sempre com um excelente café e uma deliciosa tostada, muchas gracias.

Aos membros da banca de avaliação que aceitaram o convite e sem dúvida enriquecerão de forma marcante o trabalho.

Aos meus alunos, de Uberlândia, Itumbiara, Patos de Minas e Jataí, que ao longo desses 11 anos de docência me ensinaram muitas coisas e me fazem ser um educador cada vez mais responsável e estudioso.

Aos meus estagiários de Itumbiara e de Jataí que muito me auxiliaram na coleta de parte dos dados em especial a Cristiane Bolina, Rodrigo Carapina, Maxssuel, Ryla e Brunão.

A todos os professores e colegas de profissão da UFG que me auxiliaram dando apoio e incentivando em todos os momentos. E acima de tudo por acreditarem no meu trabalho, em especial ao Prof. Frederico Guilherme, Prof. Marlon Zortéa, e Prof. Alexandre Ceará, grande abraço.

Ao CNPq pela bolsa de doutorado durante parte do curso, a CAPES pela bolsa de doutorado sanduíche na Universidad de Sevilla, Espanha. E ao Programa de Ecologia e Conservação de Recursos Naturais da UFU pelo apoio em diversas etapas do curso.

Ao pessoal da Usina Alvorada pelo apoio no trabalho e liberação de uma das áreas de estudo, e também aos proprietários das áreas avaliadas, por cederem espaço para o conhecimento científico apoiando o projeto.

A todos aqueles que me esqueci de mencionar, mas que reconheço a participação na elaboração dessa obra.

A Deus por me proporcionar a alegria de mais uma etapa finalizada, depois de muitos desafios e vitórias.

SUMÁRIO

Resumo Geral.....	I
Abstract.....	III
Introdução Geral.....	1
Literatura citada.....	7

1.0 - CAPÍTULO 1 – RIQUEZA DE RUBIACEAE (*Psychotria* e *Palicourea*) E DISTILIA ATÍPICA EM FRAGMENTOS FLORESTAIS NA REGIÃO SUL DO ESTADO DE GOIÁS

1.1 – Resumo.....	16
1.2 – Abstract.....	17
1.3 - Introdução.....	18
1.4 – Material e Métodos.....	22
1.4.1 – Áreas de estudo.....	22
1.4.2 – Amostragem dos dados.....	22
1.4.3 – Análise da qualidade ambiental dos fragmentos.....	22
1.4.4 – Análises estatísticas.....	23
1.5 – Resultados.....	23
1.6 – Discussão	28
1.7 – Conclusão.....	35
1.8 - Referências Bibliográficas.....	36

2.0 CAPÍTULO 2 – BIOLOGIA FLORAL E SISTEMA REPRODUTIVO DE CINCO RUBIACEAE ARBUSTIVAS DO SUB-BOSQUE DE FORMAÇÕES FLORESTAIS DO CERRADO

2.1 – Resumo.....	46
2.2 – Abstract.....	47
2.3 - Introdução.....	48
2.4 – Material e Métodos.....	51
2.4.1 – Áreas de estudo.....	51
2.4.2 – Fenologia	51
2.4.3 – Biologia floral.....	51
2.4.4 – Morfometria floral e razão entre morfos	52
2.4.5 – Hercogamia recíproca.....	52
2.4.6 – Sistema reprodutivo e Imcompatibilidade.....	52
2.4.7 – Visitantes florais e avaliação de néctar.....	53
2.4.8 – Análises estatísticas.....	53
2.5 - Resultados	
2.5.1 – Fenologia	53
2.5.2 – Biologia floral.....	54
2.5.3 – Morfometria floral e razão entre morfos	56
2.5.4 – Hercogamia recíproca.....	56
2.5.5 – Sistema reprodutivo e Imcompatibilidade.....	56

2.5.6 – Visitantes florais e avaliação de néctar.....	59
2.6 – Discussão	64
2.7 – Conclusão.....	72
2.8 - Referências Bibliográficas.....	72

3.0 CAPÍTULO 3 – HERCOGAMIA INTRA E INTERESPECÍFICA EM RUBIACEAE DISTÍLICAS DO CERRADO

3.1 – Resumo.....	85
3.2 – Abstract.....	86
3.3 - Introdução.....	87
3.4 – Material e Métodos.....	90
3.4.1 – Áreas de estudo.....	90
3.4.2 – Espécies estudadas.....	90
3.4.3 – Morfometria floral e nível de hercogamia.....	92
3.4.4 – Análises estatísticas.....	93
3.5 - Resultados	
3.5.1 – Morfometria floral e nível de hercogamia.....	95
3.6 – Discussão	107
3.7 – Conclusão.....	113
3.8 - Referências Bibliográficas.....	114

4.0 CAPÍTULO 4 – REDUÇÃO DA HERCOGAMIA EM POPULAÇÕES MONOMÓRFICAS DE PLANTAS DISTÍLICAS. SERÁ UM CAMINHO PARA A HOMOSTILIA ?

4.1 – Resumo.....	123
4.2 – Abstract.....	124
4.3 - Introdução.....	125
4.4 – Material e Métodos.....	128
4.4.1 – Morfometria floral das espécies estudadas.....	128
4.4.2 – Hercogamia.....	128
4.5 – Resultados.....	128
4.6 – Discussão	143
4.7 – Conclusão.....	149
4.8 - Referências Bibliográficas.....	149

Conclusão Geral.....	160
-----------------------------	------------

RESUMO GERAL

COELHO, Christiano Peres 2013. Sistema reprodutivo, graus de reciprocidade e distília em Rubiaceae arbustivas do sub-bosque de formações florestais do Cerrado. Tese de Doutorado em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia-MG. 171p.

A heterostília é um polimorfismo floral geneticamente controlado onde populações de plantas apresentam dois ou três morfos, que em áreas naturais em equilíbrio, espera-se encontrar uma razão igual entre os morfos (isopleτία). Esses morfos se mostram com peças reprodutivas em alturas diferentes dentro da flor, ou seja, com uma separação espacial entre antera/estigma, denominada hercogamia. Na maioria das espécies distílicas, a hercogamia, geralmente se mostra de forma recíproca. Quanto maior a hercogamia intrafloral menor a interferência direta entre as peças sexuais, e menor a deposição de auto pólen no estigma, reduzindo o conflito entre os gêneros, em flores hermafroditas. A heterostília é uma das características mais estudadas em flores de angiospermas, isso devido a grande variação que se pode observar em diversas populações, principalmente na família Rubiaceae, que apresenta maior número de espécies distílicas, comparado com todas as demais famílias botânicas. Essas variações em formas distílicas, formando populações monomórficas e/ou homostílicas, pode ter uma relação direta com a perda de habitat e as diferentes pressões de seleção impostas em fragmentos florestais isolados. O objetivo do estudo foi avaliar a riqueza de *Psychotria* e *Palicourea* em 20 fragmentos florestais na região sul do estado de Goiás, caracterizando o sistema reprodutivo, as características heterostílicas, a fenologia e a polinização em cinco espécies arbustivas. Além desses objetivos, avaliações dos graus de hercogamia recíproca intra e interespecífica e também avaliações de hercogamia intrafloral em diversas espécies foram tabulados. Foram realizadas excursões em 20 fragmentos na região sul do estado de Goiás, onde avaliou-se a riqueza de *Psychotria* e *Palicourea* e a razão entre morfos das espécies distílicas em 10 dos 20 fragmentos, buscando indícios de relação entre a riqueza desses gêneros com a qualidade ambiental do fragmento. Em um desses fragmentos, avaliou-se o sistema reprodutivo, a partir de polinizações manuais, níveis e locais de incompatibilidade a partir de avaliação de crescimento de tubo polínico, visitantes florais e potenciais polinizadores e fenologia em cinco espécies de Rubiaceae, sendo elas: *Psychotria colorata*, *P. capitata*, *P. prunifolia*, *P. hoffmannseggiana* e *Palicourea croceoides*. Com os dados morfométricos dessas espécies, e mais a espécie *Psychotria gracilentia*, calculou-se os níveis de hercogamia recíproca intra e interespecífica, usando para isso, dois métodos distintos. A influência do tamanho da corola na altura das peças sexuais e consequentemente na reciprocidade também foi avaliada de forma intrafloral e interfloral. Os níveis de hercogamia intrafloral também foram registrados a partir de um levantamento bibliográfico em diversos trabalhos de Rubiaceae, encontrando 132 populações de 101 espécies de Rubiaceae distílicas, monomórficas e homostílicas, buscando indícios de uma tendência evolutiva para essas variações. Ao todo foram observadas, nos fragmentos avaliados, 64 populações de 10 espécies diferentes, sendo oito espécies de *Psychotria* e duas espécies de *Palicourea*. A espécie mais comum nos fragmentos foi *Psychotria prunifolia*, encontrada em 17 fragmentos, enquanto que *P. hoffmannseggiana* foi identificada em 15 fragmentos e *P. capitata* em 14 áreas, algumas áreas não apresentaram nenhuma espécie enquanto outras apresentaram somente uma ou duas espécies. Não foi evidenciada nenhuma relação entre riqueza de espécies com o tamanho e qualidade ambiental do fragmento. Os dados

reprodutivos demonstram que exceto *Psychotria prunifolia* todas as demais espécies avaliadas se mostraram distílicas, isopléticas e auto incompatíveis com inibição dos tubos polínicos no estigma para o morfo brevistílico e no estigma e estilete para o morfo longistílico. Os principais visitantes e potenciais polinizadores foram abelhas, mariposas e no caso da espécie de *Palicourea* também beija-flores. Os níveis de reciprocidade não foram perfeitos para nenhuma espécie avaliada, mas apresentaram ampla variação entre as espécies. As populações de *Palicourea croceoides*, *Psychotria colorata* e *Psychotria capitata* evidenciaram altos valores de reciprocidade, enquanto para a avaliação interespecífica, a espécie *Palicourea croceoides* apresentou ampla reciprocidade com órgãos de *Psychotria capitata*, *Psychotria colorata* e *Psychotria prunifolia*, o que pode gerar redução de fecundidade devido à contaminação do estigma por pólen interespecífico. O tamanho da corola influenciou de forma significativa na altura dos órgãos e consequentemente nos níveis de reciprocidade, sendo a influência na altura dos estames maior do que na altura dos pistilos em todas as espécies avaliadas. A avaliação da hercogamia recíproca interespecífica, pouco avaliada na literatura, se justificou devido às espécies avaliadas serem simpátricas, sobrepondo a floração e compartilharem os principais visitantes florais (abelhas e mariposas diurnas). Avaliação dos níveis de hercogamia recíproca entre indivíduos de uma população e entre espécies de uma área pode ser uma ferramenta importante na explicação dos padrões atípicos de distília encontrados em espécies do Cerrado. A floração de todas as espécies é anual, e ocorre entre os meses de novembro e março, com pico de floração em dezembro e janeiro, e floração variando de três a cinco meses. Para a avaliação da hercogamia intrafloral percebeu-se que os indivíduos brevistílicos apresentaram uma maior separação entre estigma/antera, comparado com a corola em 74 (56%) das 132 populações distílicas registradas, enquanto que o morfo longistílico apresentou hercogamia maior em 58 (44%) das populações amostradas. As populações monomórficas apresentaram uma redução de 50% da separação estigma/antera quando comparados com as populações distílicas, e as populações homostílicas reduziram em mais de 90% essa separação, comparado com populações distílicas. Os dados demonstram uma tendência evolutiva para a redução da separação estigma/antera (hercogamia) à medida que as populações se alteram de distílicas típicas para monomórficas e homostílicas. Esse comportamento pode ser resultado de pressões de seleção e estratégias de segurança reprodutiva para a manutenção das populações. Mesmo com essas tendências sendo observadas, esses caminhos evolutivos, principalmente em Rubiaceae necessitam de muitos estudos para serem elucidados, principalmente em áreas com histórico de pressões antrópicas mais antigas e com espécies filogeneticamente próximas.

Palavras-chave: Rubiaceae, fragmentação, distília, *Psychotria*, *Palicourea*

ABSTRACT

COELHO, Christiano Peres 2013. Breeding systems, levels reciprocity and distyly in shrub Rubiaceae in forest fragmentation in Cerrado. PhD Thesis in Ecology and Conservation of Natural Resources. University Federal de Uberlândia. Uberlândia-MG. 171p.

The heterostyly is genetically a flower polymorphism controlled where populations of plants present two or three morphs, that in natural areas in balance, it hopes to meet a same reason among the morphs (isoplethy). Those morphs are shown inside with reproductive pieces in different heights of the flower, in other words, with a space separation among anther/stigma, denominated herkogamy. In most of the species distylous, the herkogamy is usually shown in a reciprocal way. As larger the herkogamy smaller intrafloral the direct interference among the pieces sexual, and smaller the deposition of self pollen in the stigma, reducing the conflict among the sexual organs, in hermaphrodite flowers. The heterostyly is one of the characteristics more studied in flowering plant, that due to great variation that it can observe in several populations, mainly in the family Rubiaceae, that presents larger number of distylous species, compared with all the other botanical families. Those variations in forms distylous, forming populations monomorphic and/or homostylous, it can have a direct relationship with the habitat loss and the different selection pressures imposed in isolated forest fragments. The objective of the study was to evaluate the diversity of *Psychotria* and *Palicourea* in 20 forest fragments in the south area of the state of Goiás, characterizing the reproductive system, the characteristics heterostylous, the phenology and the pollination in five shrub species. Beyond of those objectives, evaluations of the degrees of reciprocal herkogamy intra and interspecific and also evaluations of herkogamy intrafloral in several species were tabulated. Trips were accomplished in 20 fragments in the south area of the state of Goiás, where it was evaluated the diversity of *Psychotria* and *Palicourea* and the reason among morphs of the species distylous in 10 of the 20 fragments, looking for relationship indications among the diversity of those goods with the environmental quality of the fragment. In one of those fragments, the reproductive system was evaluated, starting from manual pollinations, levels and incompatibility places starting from evaluation of growth of pollen tube, flower visitors and potential pollinators and phenology in five species of Rubiaceae, being them: *Psychotria colorata*, *P. capitata*, *P. prunifolia*, *P. hoffmannseggiana* and *Palicourea croceoides*. With the data morphometric of those species, and more the species *Psychotria gracilentia*, was calculated the levels of reciprocal herkogamy intra and interspecific, using for that, two different methods. The influence of the size of the corolla in the height of the sexual pieces and consequently in the reciprocity it was evaluated also of form intrafloral and interfloral. The levels of herkogamy intrafloral were also registered starting from a bibliographical rising in several works of Rubiaceae, finding 132 populations of 101 species of Rubiaceae distylous, monomorphic and homostylous, looking for indications of an evolutionary tendency for those variations. To the whole they were observed, in the appraised fragments, 64 populations of 10 different species, being eight species of *Psychotria* and two species of *Palicourea*. The most common species in the fragments was *Psychotria prunifolia*, found in 17 fragments, while *P. hoffmannseggiana* was identified in 15 fragments and *P. capitata* in 14 areas, some areas didn't present any species while another only presented one or two species. Any relationship was not evidenced among diversity of species with the size and environmental quality of the fragment. The reproductive data demonstrate that except *Psychotria prunifolia* all the other appraised species if they showed distylous, isoplethy and incompatible solemnity with inhibition of the pollen tubes in the stigma for the morph thrum and in the stigma and probe for the morph pin. The principal

visitors and potential pollinators were bees, moths and in the case of the species of *Palicourea* also hummingbirds. The reciprocity levels were not perfect for any appraised species, but they presented wide variation among the species. The populations of *Palicourea croceoides*, *Psychotria colorata* and *Psychotria capitata* evidenced high reciprocity values, while for the evaluation interspecific, the species *Palicourea croceoides* presented wide reciprocity with organs of *Psychotria capitata*, *Psychotria colorata* and *Psychotria prunifolia*, what can generate fecundity reduction due to contamination of the stigma for pollen interspecific. The size of the corolla influenced in a significant way in the height of the organs and consequently in the reciprocity levels, being the influence in the stamens adult's height than in the height of the pistils in all the appraised species. The evaluation of the herkogamy reciprocal interspecific, little appraised in the literature, it was justified due to the appraised species they be simpátricas, to superpose the flowering and they share the principal floral visitors (bees and moths of the day). Evaluation of the levels of reciprocal herkogamy among individuals of a population and enter species of an area it can be an important tool in the explanation of the atypical patterns of distilia found in species of the Savannah. The flowering of all the species is annual, and it happens between the months of November and March, with flowering pick in December and January, and flowering varying from three to five months. For the evaluation of the herkogamy intrafloral it was noticed that the individuals thrums presented a larger separation among stigma/anther, compared with the corolla in 74 (56%) of the 132 populations registered distylous, while the morph pin presented larger herkogamy in 58 (44%) of the populations sampled. The population monomorphic presented a reduction of 50% of the separation stigma/anther when compared with the population's distylous, and the populations homostylous they reduced in more than 90% that separation, compared with population's distylous. The data demonstrate an evolutionary tendency for the reduction of the separation stigma/anther (herkogamy) as the populations lose temper of typical distylous for monomorphic and homostylous. That behavior can be resulted of selection pressures and strategies of reproductive safety for the maintenance of the populations. Even with those tendencies being observed, those evolutionary roads, mainly in Rubiaceae they need many studies for they be elucidated, mainly in areas with report of pressures older anthropic and with species close phylogenetically.

Key-words: Rubiaceae, fragmentation, distyly, herkogamy, *Psychotria*, *Palicourea*

INTRODUÇÃO GERAL

As flores são estruturas fenotipicamente integradas que evoluíram para aumentar o sucesso na doação e recebimento de pólen entre indivíduos dentro de populações naturais, favorecendo o cruzamento e a manutenção da variabilidade genética. Essa variabilidade é básica para a sobrevivência em longo prazo de uma população, pois geram novas características que irão proporcionar caminhos evolutivos distintos diante das pressões seletivas impostas pelo ambiente, sendo adaptativamente vantajosa (STEBBINS, 1970; BELL, 1985; HARDER & BARRETT, 2006; ORDANO et al., 2008; ARMBRUSTER et al., 2009). Esse sucesso tem uma relação direta com o hermafroditismo, que coloca os órgãos sexuais (masculino e feminino) dentro da mesma flor e facilita a polinização biótica e o compartilhamento dos custos para a atração e recompensa floral entre as funções materna e paterna (CHARNOV et al. 1976, BARRETT & SHORE 2008). Mas também aumenta a autofertilização e a interferência entre as funções sexuais, o que pode reduzir o fitness feminino e as oportunidades de cruzamento com pólen de outros indivíduos (BARRETT 2002). Além disso, em algumas circunstâncias, a variabilidade proporcionada por cruzamento entre indivíduos diferentes não é tão favorável, gerando progênie que não apresenta a mesma aptidão dos indivíduos parentais. Nesse caso, a fixação das características genéticas, gerada por processos de endogamia, incluindo autofertilização e reprodução assexual, podem atender as necessidades de uma população mais adequadamente. Nessas plantas, o grau de polinizações cruzadas ou de autopolinização são controlados, amplamente, pelas características morfológicas e fisiológicas das flores, otimizando, ou não, uma polinização cruzada (BAKER, 1966).

A consequência mais direta da interferência entre as peças reprodutivas dentro de uma flor é a autopolinização, que pode causar a endogamia (fecundação entre indivíduos geneticamente aparentados). Essa autofecundação pode ocorrer de diferentes maneiras, dependendo se o processo de autopolinização ocorreu dentro da mesma flor (intrafloral) ou entre flores da mesma planta (geitonogamia) (LLOYD & SCHOEN, 1992). Geralmente está associada a efeitos negativos de fitness devido à sobrevivência reduzida e fertilidade da prole (CHARLESWORTH & CHARLESWORTH 1987; CHARLESWORTH & WILLIS 2009), bem como com as consequências negativas, em longo prazo, sobre a variabilidade genética e viabilidade das populações (TAKEBAYASHI & MORRELL 2001). Portanto, autogamia

pode diminuir a aptidão dos indivíduos, quando óvulos e pólen que poderiam ser cruzados são autofecundados (HERLIHY & ECKERT 2002; ECKERT & HERLIHY 2004).

Além dos efeitos diretos da endogamia, interferência entre funções pode atuar de maneiras mais sutis, que vão afetar processos pré-zigóticos, como por exemplo, estames ou estiletes obstruindo a deposição ou remoção de pólen, ou ainda o “entupimento” de estigmas e estiletes com grãos de pólen, ou tubos polínicos incompatíveis, respectivamente, além da redução na fertilização de óvulos. Todos esses processos afetam o sucesso reprodutivo masculino ou feminino (SHORE & BARRETT, 1984; WASER & PRICE, 1991; HARDER & BARRETT, 1995; SAGE et al., 1999, BAENA- DÍAZ et al. 2012).

Como o cruzamento é adaptativamente favorável, as duas forças contrárias, autofecundação e interferência entre as peças sexuais, têm sido descritas como importantes causas para a evolução de um sistema de incompatibilidade e também variações morfológicas nas funções sexuais das plantas (LLOYD & WEBB, 1986; WEBB & LLOYD, 1986; BARRETT et al., 2000).

Dentre as diversas variações fisiológicas e morfológicas, relacionadas à reprodução, que se destacam nas Angiospermas, podemos ressaltar as que comumente vêm sendo relatadas para favorecer a reprodução cruzada, como a autoincompatibilidade; a unissexualidade; a dicogamia e a hercogamia (LLOYD & WEBB 1986; WEBB & LLOYD 1986). Estudos com enfoque em comunidades observam um predomínio de plantas hermafroditas, seguido por plantas monoicas e depois dioicas (BULLOCK 1985; FLORES & SCHEMSKE, 1984; STEINER 1988), sendo que em alguns casos as plantas dioicas são mais comuns (KANG & BAWA 2003; KRESS & BEACH 1994). A dioicia é uma estratégia, que separa completamente os órgãos sexuais, apresentando indivíduos masculinos, com flores estaminadas, e indivíduos femininos, com flores pistiladas (BAWA 1980). Essa conformação torna obrigatório a polinização e a fecundação cruzada. Outros sistemas sexuais podem, em parte, permitir a autopolinização, como é o caso da monoicia (cerca de 5% das Angiospermas) (RICHARDS 1997), na qual apresentam flores masculinas e flores femininas localizadas no mesmo indivíduo, dessa forma evitam a autopolinização dentro da mesma flor (WILSON 1983; BAWA & BEACH 1981; MAYNARD SMITH 1979), uma característica muito comum em flores hermafroditas.

Outras estratégias são encontradas, geralmente em flores hermafroditas, as mais comuns dentro das Angiospermas, como a separação temporal na maturação dos órgãos reprodutivos (dicogamia), podendo se apresentar na forma de protândria (órgão masculino libera pólen antes da receptividade estigmática; e protoginia (órgão feminino esta pronto antes

da abertura das anteras) (LLOYD & WEBB 1986). Podem ainda apresentar uma separação espacial dos órgãos reprodutivos, chamada de hercogamia, podendo se apresentar na forma de heterostilia (GANDERS, 1979; WEBB & LLOYD 1986), enantioestilia (BARRETT 2002; JESSON & BARRETT 2003), inversostilia (PAUW 2005), ou ainda uma mistura de hercogamia com dicogamia chamada de flexistilia (LI et al. 2001; RENNER 2001; SUN et al. 2007; WU et al. 2010).

Podemos ainda, encontrar trabalhos com sistemas variados como o caso da espécie *Acer pictum* subsp. *mono* (Araceae) que apresenta um polimorfismo sexual temporal e ausência total de incompatibilidade. Mesmo sendo uma espécie monoica, apresenta um mecanismo semelhante à dicogamia, mas com uma variação de fenótipos. Além de apresentar indivíduos protândricos, indivíduos protogínicos, apresentam indivíduos com três fases (masculina, feminina e masculina), além de alguns indivíduos somente masculinos. Esse polimorfismo é uma Heterodicogamia (KIKUCHI et al. 2009) com a presença de indivíduos duodicogâmicos (SHANG et al. 2012).

Todos esses mecanismos ainda podem estar associados a um sistema de incompatibilidade, que é a incapacidade de uma planta fértil, hermafrodita ou monóica, formar sementes quando fertilizada com o seu próprio pólen. É um mecanismo fisiológico, com base genética que promove a alogamia e favorece a variabilidade genética (LEWIS & JONES 1992). Ocorre geralmente por fracasso do grão de pólen em aderir ou germinar no estigma, ou ainda, no fracasso dos tubos polínicos em penetrarem ou crescerem no estigma/estilete. É encontrado em um grande número de famílias de Angiospermas (NETTANCOURT 2000).

Dentre as estratégias citadas, uma que chama a atenção de vários pesquisadores, devido a grande variação de formas de apresentação, evolução e manutenção, e por isso sendo amplamente estudada a mais de um século, esta a heterostilia. Um polimorfismo floral geneticamente controlado, que pode apresentar populações com dois morfos (distilia) ou com três morfos (tristilia) com diferenças recíprocas no comprimento do estilete e das anteras e associado com um sistema de autoincompatibilidade dialélico esporofítico, onde somente cruzamentos entre os morfos correspondentes geram sementes férteis (GANDERS 1979). Ocorre em plantas hermafroditas que coexistem em uma população e apresentam, teoricamente, uma razão de equilíbrio entre os morfos (CHEN & ZANG 2010 e MARUYAMA et al. 2010). Essas características já foram descritas em pelo menos 193 gêneros de 30 famílias de angiospermas, muitas não relacionadas, o que demonstra origens independentes (CHEN et al. 2010). Em outra avaliação mais detalhada, seguindo as

informações de APG III (2009), Naiki (2012), cita não haver taxa heterostílicos em grupos basais das Angiospermas e Eudicotiledôneas. Descreve também a presença de heterostilia em 199 gêneros de 28 famílias e 15 ordens, excluindo algumas informações que causavam dúvidas e controvérsias. Informa ainda que a distília, o tipo mais comum de heterostilia, é encontrada em 13 ordens e em três clados: duas famílias em uma ordem das monocotiledôneas; 10 famílias em seis ordens das Rosidae e 14 famílias em sete ordens das Asteridae (APG III 2009; NAIKI 2012).

A distília ocorre em 26 famílias de angiospermas (REE 1997; WELLER 2009; NAIKI 2012). É um sistema reprodutivo de plantas em que flores com estiletes longos e curtos ocorrem em indivíduos diferentes e em frequências aproximadamente iguais em populações naturais. Os morfos florais diferem na altura dos estames e estigmas e tem uma reciprocidade entre as peças reprodutivas que apresentam auto e intra morfo incompatibilidade. Outros dimorfismos acessórios podem ser identificados, como tamanho e produção de grãos de pólen (DULBERGER 1992), tamanho da flor, tamanho do estigma, tamanho das papilas estigmáticas, etc. (VUILEUMIER 1967). A heterostilia surgiu pelo menos 28 vezes de forma independente dentro das angiospermas (ARROYO & BARRETT, 2000) e, pelo menos em alguns grupos, parece ser herdada por 3 locus dialélicos estreitamente ligados, formando um supergene (LEWIS & JONES, 1992).

A família com mais representantes distílicos dentre as Angiospermas, é a família Rubiaceae, que apresenta mais espécies distílicas do que todas as outras famílias juntas, o que reflete diferentes origens da síndrome (HAMILTON, 1990; FAIVRE & McDADE 2001). Cento e nove gêneros, ou seja, mais da metade dos gêneros heterostílicos reconhecidos pertencem à família Rubiaceae (NAIKI 2012).

Rubiaceae é considerada a quarta maior família dentro das Angiospermas, com cerca de 13.100 espécies distribuídas em 620 gêneros (GOEVARTS et al. 2006). Sua origem é aceita no Cretáceo médio (127 – 89 milhões de anos) (BREMER & ERIKSSON 2009).

A família é dividida em 4 subfamílias (Rubioideae; Cinchonoidae; Ixoroideae e uma subfamília que inclui *Luculia* – *Acrantera* e *Coptasapelta*). A subfamília Rubioideae apresenta 18 tribos, das quais foram criadas sessões ou alianças, como por exemplo, a aliança Psychotrieae *sensu* Bremer & Manen (2000); também conhecida por Psychotrieae s.l. (BREMER 1996); ou ainda complexo Gaertnereae–Morindeae–Psychotrieae (ANDERSSON & ROVA 1999); e por fim super-tribo Psychotriidinae (ROBBRECHT & MANEN 2006). Essa super tribo contém cerca de 54 gêneros e aproximadamente 3.000 espécies, preferencialmente lenhosas, abrangendo 25% das Rubiaceae (GOEVARTS et al. 2006), e

foram anteriormente classificadas em 4 ou 6 tribos dependendo dos autores (RAZAFIMANDIMBISON et al. 2008). É caracterizada por apresentar frutos carnosos (drupas ou bagas) muito importantes para a comunidade de aves frugívoras tropicais.

Dentro da super tribo, podemos distinguir a tribo Psychotrieae, onde estão os gêneros *Psychotria* e *Palicourea*, gêneros que vem demonstrando origens controversas, onde algumas *Palicourea* apresentam forte relação filogenética com algumas *Psychotria*, enquanto o grupo das *Psychotria*, em geral, se mostram com ampla divergência filogenética, não sendo muitas vezes filogeneticamente próximas entre si (BREMER 2009). Desta forma *Psychotria* é considerado um gênero parafilético, sendo subdividido nos subgêneros *Psychotria* e *Heteropsychotria* (NEPOKROEFF et al., 1999). Estudos filogenéticos atuais demonstram e sugerem que as espécies de *Psychotria* (subgênero *Heteropsychotria*) mais as espécies de *Palicourea* sejam agrupadas em um único gênero para formarem um táxon monofilético (NEPOKROEFF et al., 1999; BREMER 2009), explicando a importância desse grupo.

Vários trabalhos descrevem heterostilia em Rubiaceae. Em trabalho realizado por Barrett & Richards (1990) a distília foi identificada em 21 tribos de árvores, ervas, arbustos e lianas, tanto em ambiente tropical quanto temperado. Dessa forma os autores acreditam que essa característica não segue um padrão filogenético, tendo evoluído mais de uma vez na família, a partir de processos convergentes.

A família Rubiaceae forma um importante componente de arbustos e árvores de vários estratos de florestas tropicais (BURGER & TAYLOR 1993) e contém o maior número de espécies distílicas de todas as famílias onde essa característica é conhecida, e talvez mais espécies distílicas do que todas as outras famílias reunidas (GANDERS 1979). Essa característica de distília, na família Rubiaceae, torna as espécies mais dependentes de polinizadores e consequentemente mais susceptíveis aos efeitos da fragmentação (RAMOS et al. 2008; LOPES & BUZATO, 2007; RAMOS & SANTOS, 2006), apresentando muitas vezes variações dentro de populações de espécies distílicas (GANDERS 1979).

Essas variações dentro de grupos distílicos, têm envolvido derivações em sistemas reprodutivos, onde encontramos o monomorfismo e a homostilia (HAMILTON, 1990). Monomorfismo ocorre em populações heterostílicas, onde apenas um dos morfos é encontrado (longi-monomórfico ou brevi-monomórfico) (GANDERS, 1979). Esta variação na razão entre morfos pode ser explicada devido à presença de autocompatibilidade na população, e/ou uma elevada taxa de crescimento clonal (SOBREVILA et al. 1983). Homostilia ocorre em flores com anteras e estigmas no mesmo nível (COELHO & BARBOSA, 2003) e são evolutivamente derivados de plantas heterostílicas. Podemos

encontrar longi-homostílicas, quando anteras e estigmas são longos e brevi-homostílicas, quando anteras e estigma são curtos; estes últimos menos citados na literatura (GANDERS, 1979, CONSOLARO, 2008). A homostilia pode converter uma população xenógama, auto incompatível de plantas distílicas, a uma população autógena auto compatível, essa mudança no sistema reprodutivo pode ser uma consequência evolucionária, levando a uma rápida especiação (BAKER, 1958).

Essa característica homostílica, pode aparecer como caráter exclusivo de uma população ou espécie, ou dentro de uma população distílica, com apenas alguns indivíduos homostílicos (HAMILTON, 1990, COELHO & BARBOSA, 2004, CONSOLARO, 2008). Essas alterações na distília em populações e espécies podem ser um indício do processo evolutivo em direção a homostilia e a autocompatibilidade (CONSOLARO, 2008), o que pode ser comprovado também pela variação entre os morfos dentro de populações, e em alguns casos com o predomínio de um dos morfos (ENDELS et al. 2002). Todas essas variações podem também ser uma evidência dos efeitos indiretos da fragmentação de habitats sobre as populações de plantas, o que pode afetar diretamente o fluxo de pólen entre os morfos (ENDELS et al. 2002).

Estas variações dentro de sistemas heterostílicos podem afetar muito o sucesso reprodutivo das populações e pode ser identificado através de variações nos níveis de hercogamia recíproca entre os indivíduos (BRAMOW et al. 2012; BODBYL-ROELS & KELLY 2011) e também na razão entre os morfos dentro de populações isoladas em fragmentos florestais que funcionam como ilhas de vegetação (ZHOU et al. 2012) em meio a uma matriz agrícola como observado por Consolaro (2008) e Endels et al. (2002), em várias populações e espécies.

Identificar características reprodutivas em espécies distílicas que sobrevivam em fragmentos florestais pode trazer muitas informações a respeito da conservação e manejo das populações e principalmente das respostas que essas espécies oferecem as pressões ambientais e ecológicas sofridas nessas áreas. Baseado nisso a Tese apresentada a seguir foi dividida em quatro capítulos:

Capítulo 1 - RIQUEZA DE RUBIACEAE (*Psychotria* e *Palicourea*) EM FRAGMENTOS FLORESTAIS NA REGIÃO SUL DO ESTADO DE GOIÁS

Este capítulo traz uma visão geral das áreas avaliadas, trazendo a riqueza de espécies encontrada em cada uma das áreas e a razão entre morfos nas populações, buscando uma

relação direta entre o tamanho, a forma e algumas características ambientais (matriz dominante, grau de perturbação) com a riqueza dos grupos de *Psychotria* e *Palicourea*.

Capítulo 2 - BIOLOGIA FLORAL E SISTEMA REPRODUTIVO DE CINCO RUBIACEAE ARBUSTIVAS DO SUB BOSQUE DE FORMAÇÕES FLORESTAIS DO CERRADO

Este capítulo traz o estudo de todo o sistema reprodutivo (biologia floral, morfometria floral, cruzamentos controlados, crescimento de tubos polínicos, polinização e produção de néctar) em cinco espécies de Rubiaceae encontrada nos fragmentos avaliados. Todo o estudo foi realizado em um dos fragmentos, onde as espécies são simpátricas, com sobreposição da floração e compartilham muitos dos visitantes florais

Capítulo 3 - HERCOGAMIA INTRA E INTERESPECÍFICA EM RUBIACEAE DISTÍLICAS DO CERRADO

Este capítulo avalia os níveis de hercogamia recíproca, através dos graus de reciprocidade dentro das espécies estudadas e também entre espécies simpátricas que florescem simultaneamente e compartilham os mesmos visitantes florais. É o primeiro estudo que tenta demonstrar a hercogamia recíproca de forma interespecífica, ressaltando um ponto pouco observado dentro das comunidades distílicas do Cerrado.

Capítulo 4 - REDUÇÃO DA HERCOGAMIA EM POPULAÇÕES MONOMÓRFICAS DE PLANTAS DISTÍLICAS. SERÁ UM CAMINHO PARA A HOMOSTILIA ?

Com a avaliação da hercogamia em todas as espécies estudadas, buscou-se uma grande revisão visando encontrar indícios de possíveis caminhos evolutivos para as populações e espécies distílicas. Neste capítulo algumas hipóteses são testadas e uma discussão interessante sobre as variações da distília são pontuados.

Literatura citada

APG III 2009. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. Botanical Journal of the Linnean Society 161: 105–121.

- ARMBRUSTER, W. S., HANSEN, T. F., PÉLABON, C., PÉREZ-BARRALES, R., & MAAD, J. 2009. The adaptive accuracy of flowers - measurement and microevolutionary patterns.pdf. *Annals of Botany*, 103, 1529–1545.
- ANDERSSON L, & ROYA J.H. 1999.The rps16 intron and the phylogeny of the Rubioideae (Rubiaceae). *Plant Syst Evol* 214:161–186.
- ARROYO J, BARRETT SCH. 2000. Discovery of distyly in *Narcissus* (Amaryllidaceae). *American Journal of Botany* 87: 748–751.
- BAENA-DÍAZ, F.; FORNONI, J.; SOSENSK, P.; MOLINA-FREANER, F. E.; WELLER, S.G.; PEREZ-ISHIWARA, R. & DOMÍNGUEZ, C. A. D. 2012. Changes in reciprocal herkogamy during the tristily–distily transition in *Oxalis alpina* increase efficiency in pollen transfer. *Journal of evolutionary biology*, 25, 574–583.
- BAKER, H.G. 1958. Studies in the reproductive biology of West African Rubiaceae. *Journal of the West African Science Association*, 4:9-24.
- BAKER, H. G. 1966. The Evolution, Functioning and Breakdown of Heteromorphic Incompatibility Systems . I . The Plumbaginaceae. *Evolution*, 20(3), 349–368.
- BARRETT SCH. 2002. The evolution of plant sexual diversity. *Nature Genetics* 2: 274-284.
- BARRETT S.C.H., SHORE J.S. 2008. New insights on heterostyly: Comparative biology, ecology and genetics. In: V. Franklin-Tong, ed. *Self-incompatibility in flowering plants: Evolution, diversity and Mechanisms*. Berlin, GER. Springer-Verlag. 3-32.
- BARRETT, S. C. H., & RICHARDS, J. H. 1990. Heterostyly in Tropical plants. *Memoirs of The New York Botanical Garden*, 55, 35–61.
- BAWA, K.S. & BEACH, J.H. 1981. Evolution of sexual systems in flowering plants. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 68:254-274.
- BAWA, K. S. 1980. Evolution of dioecy in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* 11: 15-39.
- BELL, G. 1985. On the Function of Flowers. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 224(1235), 223–265.

- BODBYL-ROELS, S. A, & KELLY, J. K. 2011. Rapid evolution caused by pollinator loss in *Mimulus guttatus*. *Evolution; international journal of organic evolution*, 65(9), 2541–52.
- BRAMOW, C., HARTVIG, I., LARSEN, S. B., & PHILIPP, M. 2012. How a heterostylous plant species responds to life on remote islands: a comparative study of the morphology and reproductive biology of *Waltheria ovata* on the coasts of Ecuador and the Galápagos Islands. *Evolutionary Ecology*, jun, 1–18.
- BREMER, B. 1996. Phylogenetic studies within Rubiaceae and relationships to other families based on molecular data. *Opera Botanica Belgica*, 7, 33–50.
- BREMER, B., & ERIKSSON, T. 2009. Time Tree of Rubiaceae: Phylogeny and Dating the Family, Subfamilies, and Tribes. *International Journal of Plant Sciences*, 170(6), 766–793.
- BREMER, B., & MANEN, J. 2000. Phylogeny and classification of the subfamily Rubioideae (Rubiaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 225, 43–72.
- BREMER, B. 2009. A Review of Molecular Phylogenetic Studies of Rubiaceae 1. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 96(1), 4–26.
- BULLOCK, S. H. 1985. Breeding Systems in the Flora of a Tropical Deciduous Forest in Mexico. *Biotropica*, 17(4), 287–301.
- BURGER, W.C. & TAYLOR, C.M. 1993. *Flora costaricensis*. *Fieldiana* 33: 1-333.
- CHARLESWORTH, D., & WILLIS, J. H. 2009. The genetics of inbreeding depression. *Nature reviews. Genetics*, 10(11), 783–96.
- CHARLESWORTH, D., & CHARLESWORTH, B. 1987. Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Reviews*, 18, 237–268.
- CHARNOV, E. L., SMITH, J. M., & BULL, J. J. 1976. Why be an hermaphrodite. *Nature*, 263(5573), 125–126.
- CHEN, M.L.; YOU, Y.L.; ZHANG, X.P. 2010. Advances in the research of heterostyly. *Acta Pratacult. Sin.*, 19, pp. 226–239
- CHEN, M.-L., & ZHANG, X.-P. 2010. Distyly in *Polygonum jucundum* Meisn. (Polygonaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 288(3-4), 139–148.

- COELHO, C.P. & ALMEIDA, 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(3): 403-413.
- COELHO, C.P. & ALMEIDA, A.A. 2004. Biologia reprodutiva de *Psychotria poeppigiana* Muell. Arg. (Rubiaceae) em mata de galeria. Acta Bot. Bras. 18(3): 481-489.
- CONSOLARO, H.N. 2008. A distilia em espécies de Rubiaceae do Bioma Cerrado. Tese de Doutorado. Universidade de Brasília. Programa de Pós-Graduação em Ecologia. 96p.
- DULBERGER, R. 1992. Floral polymorphisms and their functional significance in the heterostylous syndrome. In Evolution and function of heterostyly. Monographs on theoretical and applied genetics (S.C.H. Barrett, ed.). Springer-Verlag, Berlin, p.41-84.
- ECKERT, C. G., & HERLIHY, C. R. 2004. Using a cost–benefit approach to understand the evolution of self-fertilization in plants- the perplexing case of *Aquilegia canadensis* (Ranunculaceae). Plant Species Biology, 19, 159–173.
- ENDELS, P., JACQUEMYN, H., BRYN, R. & HERMY, M. 2002. Changes in pin-thrum ratios in populations of heterostyled *Primula vulgaris* Huds: Does imbalance affect populations persistence ? Flora 197:326-331.
- FAIVRE, A. E., & MCDADE, L. A. 2001. Population - level variation in the expression of heterostyly in three species of Rubiaceae : reciprocal placement of anthers and stigmas characterize heterostyly? American journal of botany, 88(5), 841–853.
- FLORES S. D. W. SCHEMSKE 1984. Dioecy and monoecy in the flora of Puerto Rico and the Virgin Islands: ecological correlates. Biotropica 16: 132-139.
- GANDERS, F.R., 1979. The biology of heterostyly. New Zealand Journal of Botany. 17:607-35.
- GOEVARTS, R, M., RUHSAM, L., ANDERSSON, E., ROBBRECHT, D., BRIDSON, A., DAVIS, I., SCHANZER, B., SONKE´ 2006 World checklist of Rubiaceae. Royal Botanic Gardens, Kew. <http://www.kew.org/wcsp/rubiaceae/>
- HAMILTON, C.W. 1990. Variation on a distylous Theme in Mesoamerican *Psychotria* subgenus *Psychotria* (Rubiaceae). Mem. New York Bot. Gdn. 55:62-75.

- HARDER LD, BARRETT SCH. 2006. Ecology and evolution of flowers. Oxford: Oxford University Press.
- HARDER, L. D., & BARRETT, S. C. H. 1995. Mating cost of large floral displays in hermaphrodite plants. *Nature*, 373, 512–515.
- HERLIHY, C. R., & ECKERT, C. G. 2002. Genetic cost of reproductive assurance in a self-fertilizing plant. *Nature*, 416(6878), 320–3.
- JESSON, L. K., BARRETT, S. C. H. 2003. The comparative biology of mirror-image flowers. *International Journal of Plant Sciences*, 164 (5 Supl.): S237-S249.
- KANG, H., & BAWA, K. S. 2003. Effects of successional status, habit, sexual systems, and pollinators on flowering patterns in tropical rain forest trees. *American journal of botany*, 90(6), 865–76.
- KRESS, W.J. & BEACH, J.H. 1994. Flowering plant reproductive systems. In *La Selva - Ecology and natural history of a neotropical rain forest* (L.A. MacDade, K.S. Bawa, H.A. Hespenheide & G.S. Hartshorn, eds.). University of Chicago Press, Chicago, p.161-182
- LEWIS D, JONES DA 1992. The genetics of heterostyly. In: Barrett SCH (ed) *Evolution and Function of Heterostyly*. Springer-Verlag: New York, pp 129–150.
- LI, Q.-J., XU, Z.-F., KRESS, W. J., XIA, Y.-M., ZHANG, L., DENG, X.-B., BAI, Z.-L. 2001. Flexible style that encourages outcrossing. *Nature*, v. 410 p. 432.
- LLOYD, D. G., & WEBB, C. J. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms I . Dichogamy of pollen and stigmas in angiosperms. *New Zealand Journal of Botany*, 24, 135–162.
- LLOYD, D. G., & SCHOEN, D. J. 1992. Self and cross fertilization in plants I Functional Dimensions. *International Journal of Plant Sciences*, 153(3), 358–369.
- 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* 154:305–314

- MARUYAMA, P. K., AMORIM, F. W., & OLIVEIRA, P. E. 2010. Night and day service: Distyly and mixed pollination system in *Faramea cyanea* (Rubiaceae). *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 205(12), 818–824.
- MAYNARD-SMITH, J. 1979. *The evolution of sex*. Cambridge University Press, New York, New York, USA.
- NAIKI, A. 2012. Heterostyly and the possibility of its breakdown by polyploidization. *Plant Species Biology* 27, 3–29.
- NEPOKROEFF, M.; BREMER, B.; SYTSMA, K. J.; BOTANY, S. S.; MAR, N. J. Reorganization of the genus *Psychotria* and tribe *Psychotrieae* (Rubiaceae) inferred from ITS and rbcL sequence data. *Systematic Botany*. 24: 5–27. 1999.
- NETTANCOURT, D. 2000. Incompatibility in Angiosperms. *Spring-Verlag. Sex Plant Reprod.*, (10): 185-199
- ORDANO, M., FORNONI, J., BOEGE, K., & DOMÍNGUEZ, C. A. 2008. The adaptive value of phenotypic floral integration. *The New phytologist*, 179(4), 1183–92.
- PAUW, A. 2005. Inversostyly: A New Styler Polymorphism in an Oil-Secreting Plant , *Hemimeris racemosa* (Scrophulariaceae). *American journal of botany*, 92(11), 1878–1886.
- RAMOS, F.N.; ZUCCHI, M.I.; SOLFERINI, V.N. & SANTOS, F.A.M. 2008. Mating systems of *Psychotria tenuinervis* (Rubiaceae): Distance from Anthropogenic and Natural Edges of Atlantic Forest Fragment. *Biochem Genet* 46:88–100
- RAMOS, F.N. & SANTOS, F.A.M. 2006. Floral Visitors and Pollination of *Psychotria tenuinervis* (Rubiaceae): Distance from the Anthropogenic and Natural Edges of an Atlantic Forest Fragment. *BIOTROPICA* 38(3): 383–389
- RAZAFIMANDIMBISON, S.G; RYDIN, C.; BREMER, B. 2008. Evolution and trends in the *Psychotrieae* alliance (Rubiaceae): a rarely reported evolutionary change of many-seeded carpels from one-seeded carpels. *Mol Phylogenet Evol* 48:207–223.
- REE, R. 1997. Pollen flow, fecundity and the adaptive significance of heterostyly in *Palicourea padifolia* (Rubiaceae). *Biotropica* 29:298-308.

- RENNER, S. S. 2001. How common is heterodichogamy? *Trends in Ecology & Evolution*, 16(11), 595–597.
- RICHARDS, A.J. 1997. *Plant breeding systems*. Chapman & Hall, Londres.
- ROBBRECHT E, CF MANEN 2006. The major evolutionary lineages of the coffee family (Rubiaceae, angiosperms). *Syst Geogr Plants* 76: 85–146.
- SAGE, T. L., STRUMAS, F., COLE, W. W., & BARRETT, S. C. 1999. Differential ovule development following self- and cross-pollination: the basis of self-sterility in *Narcissus triandrus* (Amaryllidaceae). *American journal of botany*, 86(6), 855–70.
- SHANG, H., LUO, Y.-B., & BAI, W.-N. 2012. Influence of asymmetrical mating patterns and male reproductive success on the maintenance of sexual polymorphism in *Acer pictum* subsp. *mono* (Aceraceae). *Molecular ecology*, 21, 3869–3878.
- SHORE, J. S., & BARRETT, S. C. H. 1984. The effect os pollination intensity and incompatible pollen on seed set in *Turnera ulmifolia* (turneraceae). *Canadian Journal of Botany*, 62, 1298–1303.
- SOBREVILA, 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.
- STEBBINS, L. 1970. Adaptive Radiation of Reproductive Characteristics in Angiosperms , I : Pollination Mechanisms. *Annual Review of Ecology and Systematics*, 1, 307–326.
- STEINER, K. E. 1988. Dioecism and its correlates in the Cape flora of South Africa. *American Journal of Botany* 75: 1742–1754.
- SUN, S., GAO, J.-Y., LIAO, W.-J., LI, Q.-J., & ZHANG, D.-Y. 2007. Adaptive Significance of Flexistyly in *Alpinia blepharocalyx* (Zingiberaceae) A Hand-pollination Experiment. *Annals of botany*, 99, 661–666.
- TAKEBAYASHI, N., & MORRELL, P. L. (2001). Is self - fertilization an evolutionary dead end? Revisiting an old hypothesis with genetic theories and a macroevolutionary approach. *American Institute of Biological Science*, 88(7), 1143–1150.

- VUILLEUMIER, B.S. 1967. The origin and evolutionary development of heterostyly in the angiosperms. *Evolution* 21:210-226.
- WASER, N. M., & PRICE, M. V. 1991. Outcrossing Distance Effects in *Delphinium nelsonii* : Pollen Loads , Pollen Tubes , and Seed Set. *Ecology*, 72(1), 171–179.
- WEBB, C. J., & LLOYD, D. G. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms II . Herkogamy. *New Zealand Journal of Botany*, 24, 163–178.
- WELLER, S. G. 2009. The different forms of flowers – what have we learned since Darwin. *Botanical Journal of Linnean Society*, 160, 249–261.
- WILSON, M.F. 1983. *Plant Reproductive Ecology*. John Wiley and Sons, Inc., New York. NY.
- WU, X.; LI, A, & ZHANG, D. 2010. Cryptic self-incompatibility and distyly in *Hedyotis acutangula* Champ. (Rubiaceae). *Plant biology (Stuttgart, Germany)*, 12(3), 484–94.
- ZHOU, W., BARRETT, S. C. H., WANG, H., & LI, D. Z. 2012. Loss of floral polymorphism in heterostylous *Luculia pinceana* (Rubiaceae): a molecular phylogeographic perspective. *Molecular ecology*, 21, 4631–4645.

CAPÍTULO 1

RIQUEZA DE RUBIACEAE (*Psychotria e Palicourea*) E DISTILIA ATÍPICA EM FRAGMENTOS FLORESTAIS NA REGIÃO SUL DO ESTADO DE GOIÁS

1.1 - Resumo

A perda de habitat é a ameaça mais séria para a maioria das espécies de animais que atualmente enfrentam a extinção, e também para diversos grupos de plantas que dependem de reprodução cruzada para manutenção de suas populações, sendo mais sensível espécies com sistemas mais complexos de reprodução como a heterostilia. O objetivo do trabalho foi avaliar a riqueza de *Psychotria* e *Palicourea* em fragmentos florestais na região sul do estado de Goiás, comparando com registros de fragmentação. O trabalho foi realizado em 20 fragmentos florestais na região sul do estado de Goiás, entre os municípios de Itumbiara (sudeste do estado) e o município de Jataí (sudoeste do estado). Em todas as áreas, caminhadas aleatórias foram realizadas no interior do fragmento e todas as espécies dos gêneros *Psychotria* e *Palicourea* foram registradas. Em dez fragmentos foi também avaliado a razão entre morfos, visto que as espécies são distílicas. Como forma de comparação foi também avaliado o tamanho e formato dos fragmentos, e sua relação com a riqueza de *Psychotria* e *Palicourea*. Ao todo foram observadas 64 populações de 10 espécies diferentes, sendo oito espécies de *Psychotria* e duas espécies de *Palicourea*. A espécie mais comum nos fragmentos foi *Psychotria prunifolia*, encontrada em 17 fragmentos, enquanto que *P. hoffmannseggiana* foi identificada em 15 fragmentos e *P. capitata* em 14 áreas. Algumas espécies como *Palicourea croceoides*; *Palicourea macrobotrys*; *Psychotria poeppigianna* e *Psychotria goiazensis* foram encontradas em somente um fragmento, enquanto *Psychotria gracilentia* e *Psychotria colorata* foram identificadas em somente dois fragmentos. O fragmento com maior riqueza se mostrou com oito espécies, enquanto outros fragmentos apresentaram nenhuma, uma ou duas espécies. Não foi evidenciado relação entre tamanho e grau de perturbação do fragmento com a riqueza de espécies, visto que grandes fragmentos apresentaram poucas espécies, enquanto pequenos fragmentos apresentaram maior riqueza. A razão entre morfos foi isoplética para todas as espécies distílicas, enquanto que *Psychotria prunifolia* se mostrou monomórfica em todas as áreas onde foi identificada e *Palicourea macrobotrys* homostílica em apenas um fragmento. Os dados reforçam a importância desses estudos em fragmentos florestais, afim de entender o comportamento reprodutivo de plantas sob diferentes pressões de seleção.

Palavras-chaves: *Psychotria*, *Palicourea*, Rubiaceae, Fragmentação

1.2 - Abstract

The habitat loss is the most serious threat for most of the species of animals that now face the extinction, and also for several groups of plants that depend on outcrossing for maintenance of their populations, being more sensitive the species with more complex breeding systems as the heterostylous species. The objective of the work was to evaluate the diversity of *Psychotria* and *Palicourea* in forest fragments in the southern area of the state of Goiás, comparing with area size and degree of disturbance. The work was accomplished in 20 forest fragments in Itumbiara (Southeast of Goiás) and Jataí (Southwest of Goiás). In all the areas, random walks were accomplished inside each fragment and all the species of the genera *Psychotria* and *Palicourea* were registered. In ten fragments it was also evaluated the morph ratio, because the species were distylous. It was also evaluated the size and form of the fragments, and their relationship with the diversity of *Psychotria* and *Palicourea*. As a whole, 64 populations of 10 different species were observed, eight species of *Psychotria* and two species of *Palicourea*. The most common species in the fragments was *Psychotria prunifolia*, found in 17 fragments, while *P. hoffmannseggiana* was identified in 15 fragments and *P. capitata* in 14 areas. Some species as *Palicourea croceoides*; *Palicourea macrobotrys*; *Psychotria poeppigianna* and *Psychotria goiazensis* were found in one fragment only, while *Psychotria gracilentia* and *Psychotria colorata* were identified in only two fragments. The fragment with larger diversity showed eight species, while other fragments presented only one or two species. Relationship was not evidenced between size and degree of disturbance of the fragments and the diversity of species, because greater fragments presented often fewer species than smaller fragments. The morph ratio showed isoplethy to all distylous species, while *Psychotria prunifolia* was monomorphic in all the areas it occurred and *Palicourea macrobotrys* was homostylous in the fragment it was observed. The data reinforce the importance of those studies in forest fragments in order to understand the reproductive behavior of these plants under different selection pressures.

Key-words: *Psychotria*, *Palicourea*, Rubiaceae, fragmentation

1.3 - Introdução

A perda de habitat é a ameaça mais séria para a maioria das espécies de animais que atualmente enfrentam a extinção, e também para diversos grupos de plantas que dependem de reprodução cruzada para manutenção de suas populações (PRIMACK & RODRIGUES, 2002; TABARELLI & GASCON, 2005). A maneira mais importante de proteger esta diversidade é preservando os habitats naturais. Mas a preservação de fragmentos florestais não garante necessariamente a manutenção da diversidade funcional e pode afetar a estrutura e manutenção de comunidades e espécies (GIRÃO et al. 2007).

Além de serem destruídos rapidamente, os habitats que anteriormente ocupavam grandes áreas, como os Cerrados, são frequentemente divididos em pequenos fragmentos, pelas estradas, campos, cidades, e um grande número de outras atividades humanas, inclusive agricultura e principalmente a monocultura em extensas áreas, como é o caso da cana-de-açúcar, soja e milho (PRIMACK & RODRIGUES, 2002).

Para essa ocupação, principalmente com agricultura, é necessário um processo de desmatamento de áreas florestais que leva a formação de fragmentos isolados que funcionam como “ilhas” de floresta, cercadas por habitats não florestados. Em algumas situações esse processo de formação dos fragmentos é natural e a zona de transição entre os fragmentos e os habitats não florestados é menos abrupta. Mas, no geral, essa transição é brusca e afeta diretamente toda a comunidade (PÉRICO, et al. 2005).

Nos últimos anos, muitos estudos têm buscado entender a situação das interações ecológicas mutualísticas em um contexto mais amplo, sob um enfoque da paisagem (FARWIG et. al. 2009). Isto devido aos riscos da quebra das principais interações entre animais e plantas. A reprodução da maioria das espécies vegetais é um processo biológico dependente de mutualistas: polinizadores e dispersores. Isto faz com que as plantas se tornem duplamente susceptíveis à fragmentação, uma vez que alterações na composição e abundância de grupo de polinizadores e dispersores podem afetar sua fecundidade (RAMOS & SANTOS, 2006). A expressão do sucesso reprodutivo de espécies vegetais em populações fragmentadas tem sido diversa, não havendo consenso sobre a resiliência da interação planta-polinizador bem como fecundidade de espécies vegetais à fragmentação de habitat e/ou conexão estrutural (RAMOS et. al. 2008; HARRIS & JOHNSON 2004). Um dos ambientes que vem sendo

avaliado é o de sub-bosque de vegetação florestal, visto que compõem um grupo de espécies essenciais a manutenção de polinizadores e dispersores, e um grupo muito diverso nesse ambiente é a família Rubiaceae (GENTRY & EMMONS 1987, LASKA 1997).

A família Rubiaceae forma um importante componente de arbustos e árvores de vários estratos de florestas tropicais (BURGER & TAYLOR 1993), principalmente sub-bosque (OLIVEIRA & AMARAL 2005, KOZERA et al 2008) além de ambientes savânicos como o Cerrado. A família contém o maior número de espécies distílicas de todas as famílias onde essa característica é conhecida, e talvez mais espécies distílicas do que todas as outras famílias reunidas (GANDERS 1979). A diversidade da família se aproxima de 650 gêneros, que apresentam mais de 13.100 espécies (GOEVARTS et al. 2006), sendo representada no Brasil por mais de 1.400 espécies distribuídas em 120 gêneros (SOUZA & LORENZI 2012), e mais especificamente no Cerrado podemos identificar cerca de 376 espécies, sendo a sétima família mais rica desse bioma (MENDONÇA et al. 2008). Trabalhos atuais (Consolaro et al. em fase de submissão) indicam que cerca de 41% das espécies de Rubiaceae do Cerrado são distílicas. Essa característica de distília, na família Rubiaceae, torna as espécies mais dependentes de polinizadores e consequentemente mais susceptíveis aos efeitos da fragmentação (RAMOS et. al. 2008; LOPES & BUZATO, 2007; RAMOS & SANTOS, 2006)

Heterostilia é um polimorfismo floral geneticamente controlado, que pode apresentar dois (distília) ou três (tristília) morfos, os quais produzem flores que diferem reciprocamente no tamanho do estilete e do estame. Este polimorfismo está ligado a um sistema dialélico de auto-incompatibilidade esporofítica, onde somente cruzamentos intermorfos produzem frutos e sementes viáveis (GANDERS, 1979). A distília apresenta flores com longos estiletos e estames curtos, chamadas de longistiladas ou pin, e flores com estilete curto e estames longos, chamadas brevistiladas ou thrum. Dimorfismos no tamanho e número de grãos de pólen, superfície estigmática, papilas estigmáticas, entre outros, são também citados (HAMILTON, 1990, COELHO & BARBOSA, 2004).

Um dos gêneros mais importantes da família é o gênero *Psychotria*, comumente representado por arbustos, pequenas árvores, ervas e raramente por epífitas. É um gênero pantropical e subtropical, encontrado nos dois hemisférios. É comum no sub-bosque de matas tropicais (TAYLOR 1996; HAMILTON 1990) como importante fonte de recursos para polinizadores e dispersores. Apresenta aproximadamente 2.000 espécies, sendo o maior gênero da tribo Psychotrieae e da família Rubiaceae, e o maior gênero de espécies lenhosas

(DAVIS et al. 2001). No Brasil são descritas 264 espécies do gênero (TAYLOR 2013). Outro gênero também importante e pertencente a tribo Psychotriae é o gênero *Palicourea*. Compreende cerca de 200 espécies de arbustos e pequenas árvores, distribuídos somente nos trópicos do Novo Mundo, tipicamente membros do sub-bosque de matas tropicais, mas com algumas espécies em savanas (TAYLOR 1997). No Brasil encontram-se 55 espécies de *Palicourea* (ZAPPI & TAYLOR 2013), distribuídas em florestas e savanas. Existem três centros de riqueza de espécies de *Palicourea*, todos na América do Sul, sendo um deles a região do Planalto Centro-Sul do Brasil, com cerca de 37 espécies (TAYLOR 1989, 1997). Esse gênero apresenta flores com corola tubular, sem odor, de cores fortes e polinizadas principalmente por beija-flores, sendo os frutos carnosos, azuis a púrpuras, e dispersos por aves (TAYLOR 1997). A maioria das espécies é distílica, uma condição considerada ancestral no gênero (TAYLOR 1997). Os trabalhos avaliando filogeneticamente os dois gêneros, sugerem que algumas *Psychotria* (subgênero *Heteropsychotria*) e as *Palicourea* sejam agrupadas em um único gênero para formarem um táxon monofilético (NEPOKROEFF et al., 1999, BREMER, 2009), destacando a importância do estudo integrado destes dois gêneros atuais.

Estudos avaliando o efeito do tamanho da população sobre o sucesso reprodutivo, destacam a importância dos polinizadores nas espécies distílicas e mostra uma autocompatibilidade parcial no morfo longistílico de *Primula sieboldii*, o que pode acarretar desvios na distília típica (MATSUMURA & WASHITANI 2000). Os autores destacam que espécies com sistemas sofisticados de reprodução, como heterostilia são mais vulneráveis aos efeitos de escassez dos polinizadores ou isolamento, resultando em baixa produção de frutos devido a limitação de pólen compatível. Tais limitações poderiam acarretar na seleção para morfos autoférteis ou em variações nos sistemas de incompatibilidade, como compatibilidade intramorfo, tudo isso contribuindo para a segurança reprodutiva das populações. Tais modificações seriam selecionadas pelas pressões diferenciadas nos diferentes fragmentos florestais.

A variação dentro de grupos distílicos envolvem variações na distribuição dos morfos ou características das flores como o monomorfismo e a homostilia (HAMILTON, 1990). Monomorfismo ocorre em populações heterostílicas, onde apenas um dos morfos é encontrado (longi-monomórfico ou brevi-monomórfico) (GANDERS, 1979). Esta variação na razão entre morfos pode ser explicada devido à presença de autocompatibilidade na população, e/ou uma elevada taxa de crescimento clonal (SOBREVILA et al. 1983).

Homostilia ocorre em flores com anteras e estigmas no mesmo nível (COELHO & BARBOSA, 2003) e parecem ser derivados de plantas heterostílicas. Podemos encontrar flores longi-homostílicas, quando anteras e estigmas são longos e brevi-homostílicas, quando anteras e estigma são curtos; estes últimos menos citados na literatura (GANDERS, 1979, CONSOLARO, 2008). A homostilia comumente envolve ainda a conversão de uma população xenógama, auto-incompatível de plantas distílicas, a uma população autógama autocompatível, essa mudança no sistema reprodutivo pode ter consequências evolutivas, levando a uma rápida especiação (BAKER, 1958).

Essa característica homostílica, pode aparecer como caráter exclusivo de uma população ou espécie, ou dentro de uma população distílica, com apenas alguns indivíduos homostílicos (HAMILTON, 1990, COELHO & BARBOSA, 2004, CONSOLARO, 2008). Essas alterações na distília em populações e espécies podem ser um indício do processo evolutivo em direção a homostilia e a autocompatibilidade (CONSOLARO, 2008), o que pode ser comprovado também pela variação entre os morfos dentro de populações, e em alguns casos com o predomínio de um dos morfos (ENDELS et al. 2002). Todas essas variações podem também ser uma evidência dos efeitos indiretos da fragmentação de habitats sobre as populações de plantas, o que pode afetar diretamente o fluxo de pólen entre os morfos (ENDELS et al. 2002).

Estas variações dentro de sistemas heterostílicos podem afetar muito o sucesso reprodutivo das populações e pode ser identificado através de variações na razão entre os morfos dentro de populações isoladas em fragmentos florestais que funcionam como ilhas de vegetação em meio a uma matriz agrícola como observado por Consolaro (2008) e Endels et al. (2002), em várias populações e espécies.

Com base nessas variações dos sistemas reprodutivos o estudo tem o objetivo de avaliar a riqueza de *Psychotria* e *Palicourea* (Rubiaceae), identificando a razão entre morfos e a ocorrência de distília atípica em fragmentos florestais na região sul do Estado de Goiás. Anomalias na distília poderiam ser indícios do efeito da fragmentação sobre as características desses gêneros nas áreas estudadas.

1.4 - Material e métodos

1.4.1 - Área e período de estudo - o trabalho foi realizado em 20 fragmentos florestais na região sul do estado de Goiás, entre os municípios de Itumbiara (sudeste do estado) e o município de Jataí (sudoeste do estado) (**Figura 1**), entre os anos de 2009 e 2011. As áreas apresentam diferentes tamanhos, formatos e estão associadas a áreas de cultivo agrícola e pastagens. Todas as áreas apresentam vegetação florestal, com característica de vegetação estacional semidecidual. O clima da região é do tipo AW (KÖPPEN 1928) com estação seca de maio a setembro e chuvosa de outubro a abril. As áreas foram mapeadas através de imagens de satélite, obtendo-se seu tamanho, formato e informações da matriz dominante na região, usando para isso o software de análise de imagem ImageJ© 1.45S.

1.4.2 - Amostragem – Entre os anos de 2009 e 2011, procedeu-se visita nos 20 fragmentos, nos quais foram realizadas caminhadas aleatórias, identificação de todas as espécies de *Psychotria* e *Palicourea* encontrados nessas áreas e registros ao acaso dos indivíduos. Foi realizada a avaliação da razão entre os morfos das espécies distílicas identificadas em apenas 10 áreas, devido a questões logísticas e de época de floração das espécies avaliadas. Para isso realizou-se caminhadas aleatórias e o registro ao acaso de todos os indivíduos floridos, definindo qual a morfologia floral desses indivíduos, classificando-os em longistílico, brevistílico ou homostílico.

1.4.3 - Avaliação da qualidade ambiental dos fragmentos – Foi realizada uma avaliação qualitativa nos fragmentos buscando indícios de qualidade ambiental. Para essa avaliação os fragmentos foram visitados e informações como densidade das espécies arbóreas, clareiras e trilhas, efeito de borda e condição interna do fragmento (presença de lixo e indícios de exploração de madeira e caça) foram anotados e a partir dos dados estabeleceu-se uma pontuação sobre a condição ambiental dos fragmentos. Essa pontuação foi subjetiva e seguiu uma pontuação de 1 a 5, sendo considerados: **1.** fragmento pequeno (<30ha), isolado (>5km), alongado, possivelmente com grande efeito de borda, presença de clareiras e trilhas e alta intervenção antrópica (presença de lixo e indícios de caça); **2.** fragmento pequeno (31 - 80ha), isolado (>3km), alongado, grande efeito de borda, presença de clareiras e trilhas e média intervenção antrópica (presença de lixo e indícios de caça); **3.** fragmento pequeno (81-130ha), isolado (>3km), arredondado, menor efeito de borda, presença de poucas clareiras e trilhas e média intervenção antrópica (presença de lixo e indícios de caça); **4.** fragmento médio (151-200ha), próximo a outros fragmentos, arredondado, menor efeito de borda, presença de

poucas clareiras e trilhas e baixa intervenção antrópica (presença de lixo e indícios de caça) e 5. fragmento médio (>200ha), próximo a áreas preservadas, arredondado, menor efeito de borda, ausência de clareiras e trilhas e baixa intervenção antrópica (presença de lixo e indícios de caça).

1.4.4 - Análises estatísticas – os dados do tamanho dos fragmentos, riqueza de *Psychotria* e *Palicourea* presentes neles e a qualidade ambiental dos fragmentos foram correlacionados usando regressão linear, para identificar possíveis efeitos da fragmentação e qualidade ambiental do fragmento na riqueza de espécies presentes. Também realizou-se uma análise de qui-quadrado para avaliar a razão entre morfos em todas as populações avaliadas, para tanto foi usado o programa Bioestat 3.0 (AYRES *et al.* 2003).

1.5 - Resultados

Após avaliação em 20 fragmentos florestais na região sul do estado de Goiás, identificou-se 64 populações de 10 espécies de *Psychotria* e *Palicourea*, demonstrando uma riqueza baixa, quando comparados com outros trabalhos (SAKAI & WRIGHT 2008). A área com maior número de espécies identificadas apresentou oito espécies, enquanto duas áreas se mostraram com apenas uma espécie e uma área não apresentou espécies de *Psychotria* e *Palicourea* (**Tabela 01**). A espécie mais comum nos fragmentos foi *Psychotria prunifolia*, encontrada em 17 fragmentos, enquanto que *P. hoffmannseggiana* foi identificada em 15 fragmentos e *P. capitata* em 14 áreas, Algumas espécies como *Palicourea croceoides*; *Palicourea macrobotrys*; *Psychotria poeppigianna* e *Psychotria goiazensis* foram encontradas em somente um fragmento, enquanto *Psychotria gracilentia* e *Psychotria colorata* foram identificadas em somente dois fragmentos (**Tabela 02**). Os fragmentos avaliados apresentaram características muito distintas, sendo fragmentos que variam de 17 ha até mais de 320 ha, sendo diversos também quanto ao formato (**Figura 01**) e quanto aos graus de perturbação antrópica (**Tabela 01**).

Realizou-se uma correlação para avaliar se o tamanho do fragmento interferia na riqueza de *Psychotria* e *Palicourea* encontrada, o que se mostrou não significativo (**Figura 02**), avaliou-se também se existia relação entre o grau de perturbação do fragmento com a riqueza de espécies identificadas o que não se mostrou significativo também (**Figura 03**).

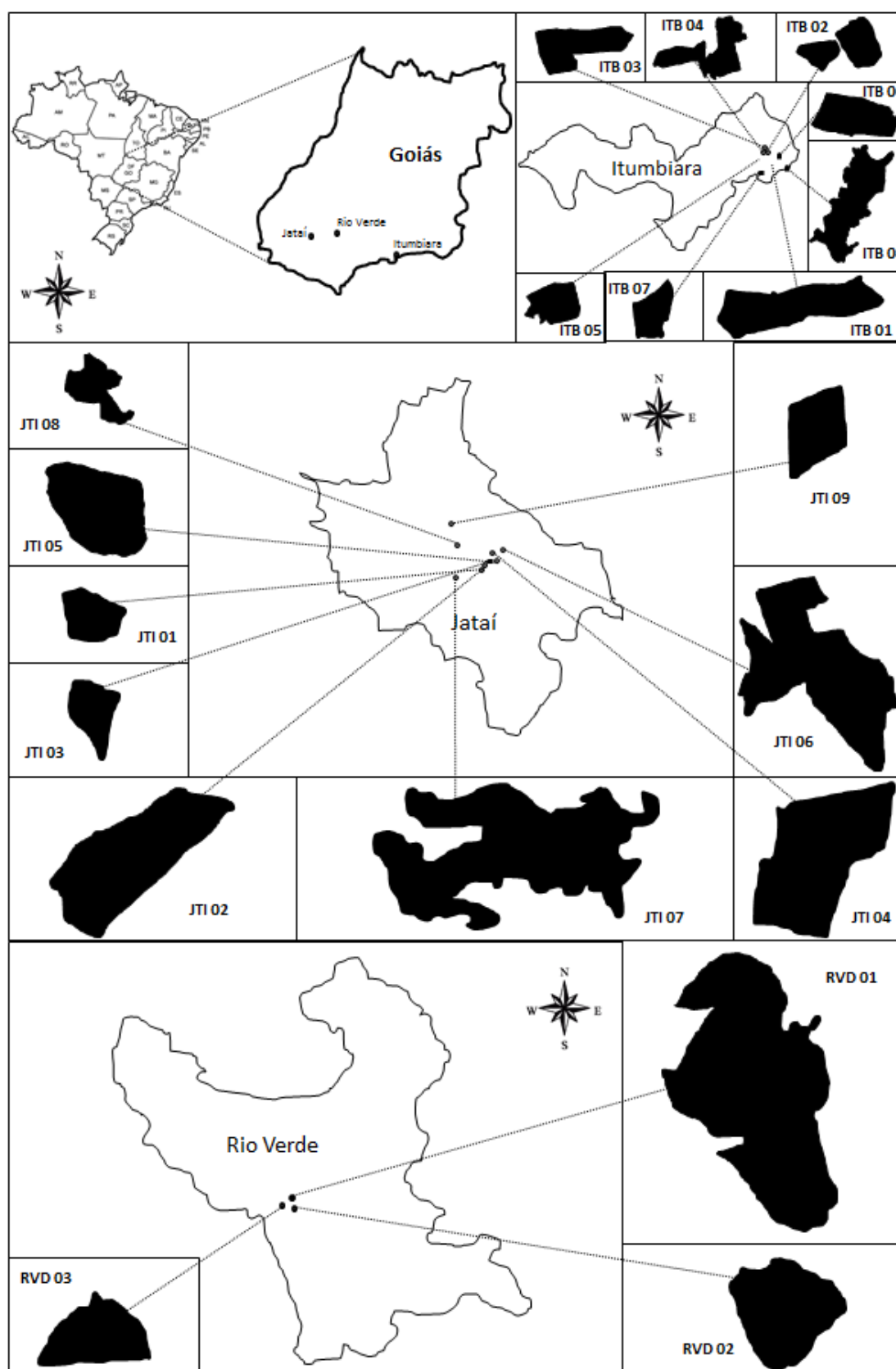


Figura 01 – Localização e tamanho relativo dos fragmentos florestais avaliados quanto a presença de espécies de *Palicourea* e *Psychotria* (Rubiaceae) na região sul do estado de Goiás.

Tabela 1 – Relação dos fragmentos estudados e características de tamanho, altitude, coordenadas geográficas, qualidade ambiental e riqueza de *Psychotria* e *Palicourea* na região Sul do estado de Goiás.

Fragmentos	Município	Tamanho (ha)	Altitude (m)	Coordenadas		Qualidade Ambiental	Riqueza de Rubiaceae
				Latitude (S)	Longitude (W)		
ITB 01	Itumbiara	61.21	581	18°20'59"	49°04'18"	2	8
ITB 02	Itumbiara	26.15	591	18°18'35"	49°05'18"	1	2
ITB 03	Itumbiara	31.97	551	18°17'44"	49°05'57"	2	3
ITB 04	Itumbiara	33.47	526	18°18'30"	49°06'12"	2	2
ITB 05	Itumbiara	19.14	556	18°19'57"	49°06'18"	1	1
ITB 06	Itumbiara	31.26	544	18°19'13"	49°02'48"	2	4
ITB 07	Itumbiara	17.18	448	18°22'55"	49°06'55"	1	0
ITB 08	Itumbiara	41.15	524	18°22'57"	49°01'07"	2	1
JTI 01	Jataí	27.78	823	17°56'28"	51°38'41"	1	4
JTI 02	Jataí	163.25	831	17°55'51"	51°38'04"	3	3
JTI 03	Jataí	26.11	814	17°54'52"	51°37'33"	1	4
JTI 04	Jataí	166.76	825	17°53'09"	51°36'31"	3	4
JTI 05	Jataí	79.52	810	17°54'55"	51°35'26"	2	4
JTI 06	Jataí	165.23	802	17°52'37"	51°34'04"	2	3
JTI 07	Jataí	302.06	629	17°48'55"	51°47'56"	4	4
JTI 08	Jataí	23.78	783	17°51'34"	51°43'33"	1	3
JTI 09	Jataí	43.41	765	17°47'14"	51°45'13"	2	2
RVD 01	Rio Verde	326.25	834	17°47'31"	51°08'52"	4	5
RVD 02	Rio Verde	96.05	838	17°49'42"	51°08'10"	3	3
RVD 03	Rio Verde	59.43	870	17°48'56"	51°10'18"	2	4

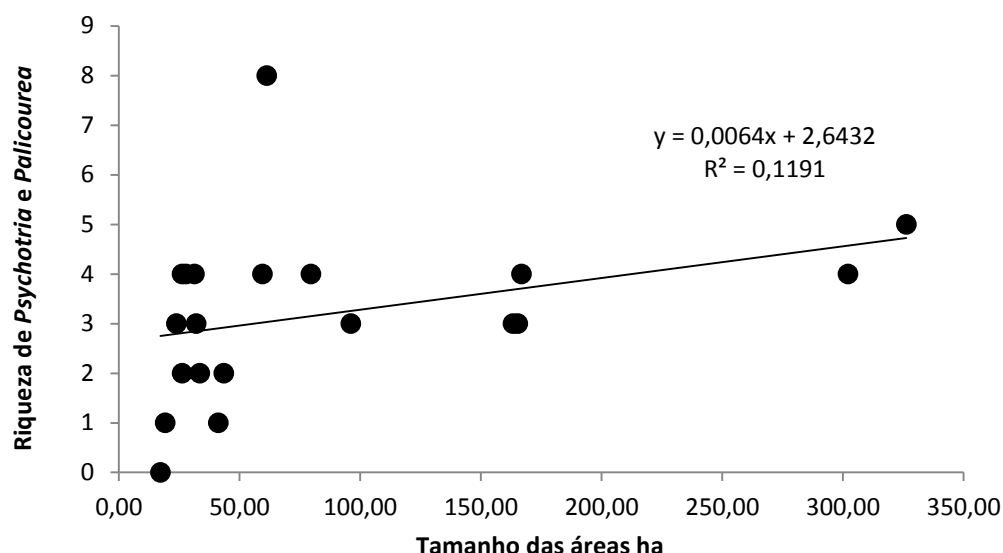


Figura 02 – Relação entre o tamanho dos fragmentos florestais avaliados e a riqueza de espécies de *Palicourea* e *Psychotria* (Rubiaceae) na região sul do estado de Goiás.

Tabela 2 – Relação dos fragmentos e das espécies de *Psychotria* e *Palicourea* encontradas nas áreas da região Sul do estado de Goiás. CO - *Psychotria colorata*; CA – *Psychotria capitata*; HO – *Psychotria hoffmannseggiana*; - PR – *Psychotria prunifolia*; GO – *Psychotria goiazensis*; CT – *Psychotria carthagenensis*; GR – *Psychotria gracilentia*; PO – *Psychotria poeppigiana*; PA – *Palicourea croceoides*; PM – *Palicourea macrobotrys*.

Fragmentos	Espécies									
	CO	CA	HO	PR	GO	CT	GR	PO	PA	PM
ITB 01	X	X	X	X	X	X	X		X	
ITB 02	X			X						
ITB 03		X	X	X						
ITB 04		X		X						
ITB 05				X						
ITB 06		X	X			X		X		
ITB 07										
ITB 08				X						
JTI 01		X	X	X		X				
JTI 02		X	X	X						
JTI 03		X	X	X		X				
JTI 04		X	X	X		X				
JTI 05		X	X	X		X				

continua

JTI 06	X	X	X			
JTI 07	X	X	X	X		
JTI 08		X		X		X
JTI 09		X	X			
RVD 01	X	X	X	X	X	
RVD 02	X	X	X			
RVD 03	X	X	X	X		

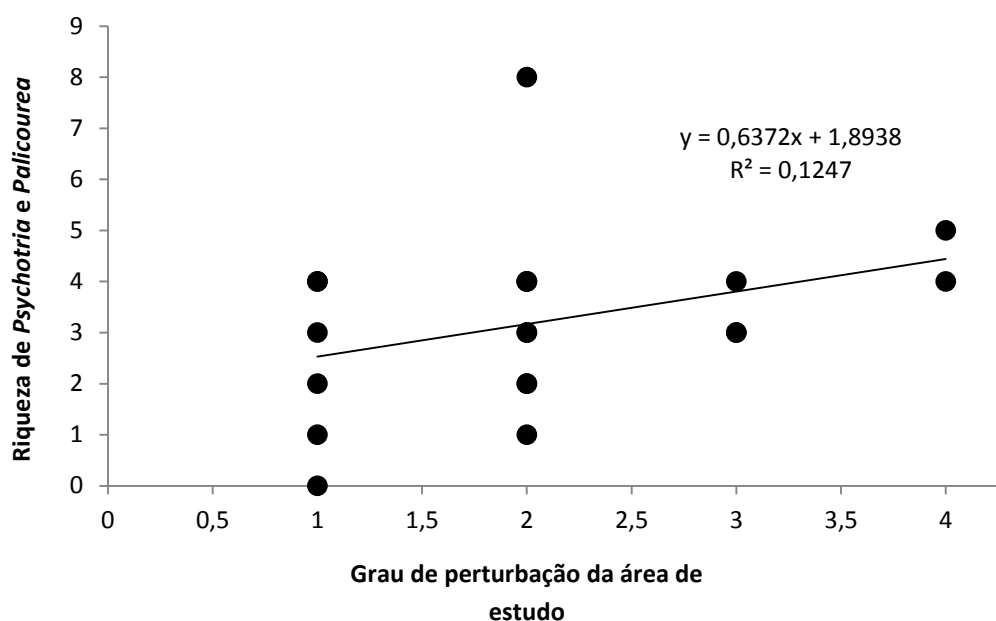


Figura 03 – Relação entre o grau de perturbação dos fragmentos florestais avaliados e a riqueza de espécies de *Palicourea* e *Psychotria* (Rubiaceae) na região sul do estado de Goiás.

Com relação a razão entre morfos nas áreas amostradas (10 fragmentos), observou-se que em todas as áreas de ocorrência, *Psychotria prunifolia* mostrou-se monomórfica, com somente morfos longistílicos, enquanto as demais espécies distílicas se mostraram isopléticas, com pouca variação entre o número de indivíduos longistílicos e brevistílicos (**Tabela 03**). *Palicourea macrobotrys* na área JTI 08 (**Figura 01**) apresentou apenas um indivíduo e com flores homostílicas.

Tabela 3 – Razão entre morfos nas espécies de *Psychotria* e *Palicourea* encontradas em fragmentos florestais na região Sul do estado de Goiás. CO - *Psychotria colorata*; CA – *Psychotria capitata*; HO – *Psychotria hoffmannseggiana*; - PR – *Psychotria prunifolia*; GR – *Psychotria gracilentia*; PO – *Psychotria poeppigiana*; PA – *Palicourea croceoides*.

Espécies	CO	CA	HO	PR	GR	PO	PA
Fragmentos	Número de indivíduos longistílicos/brevistílicos						
ITB 01	96 / 115	251 / 217	54 / 63	171 / 0 *	12 / 14		16 / 15
ITB 02	13 / 9			54 / 0 *			
ITB 03		112 / 96	27 / 35	38 / 0 *			
ITB 06		72 / 56	26 / 31			9 / 7	
JTI 01		31 / 42	32 / 19	73 / 0 *			
JTI 02		48 / 39	27 / 19	54 / 0 *			
JTI 03		42 / 49	9 / 2	63 / 0 *			
JTI 05		39 / 31	36 / 29	58 / 0 *			
RVD 01		118 / 135	51 / 47	102 / 0 *	4 / 5		
RVD 03		42 / 31	21 / 26	53 / 0 *			

Espaços em branco indicam que a espécie não foi encontrada no fragmento.

* espécie com razão entre morfos em desequilíbrio (anisopleia) $X^2 p < 0,05$.

1.6 - Discussão

Muitas Angiospermas têm sua reprodução e dispersão efetivada localmente, devido seu hábito séssil e comportamento particular dos visitantes. Como consequência disso, a distribuição espacial dos indivíduos dentro da população passa a ser muito importante na determinação do sucesso reprodutivo (LEVIN & KERSTER 1969; ANTONOVICS & LEVIN 1980; KUNIN 1993; GROOM 1998; DAVIS et al. 2004; SAKAI & WRIGHT 2008). Plantas que apresentam dimorfismos sexuais são provavelmente mais sensíveis aos efeitos da distribuição espacial. Isto ocorre, pois populações polimórficas são subdivididas com relação ao sexo, apresentando sexos separados (como as plantas dioicas) ou ainda grupos distintos de morfos florais (como a heterostilia em plantas hermafroditas). Como resultado desse processo, o sucesso reprodutivo dos morfos florais pode depender não somente da densidade

local, mas também da frequência com que os morfos opostos se distribuem na população (WYATT & HELLWIG 1979; BARRETT & THOMSON 1982; MEAGHER 1991; HEILBUTH et al. 2001; WILSON & HARDER 2003). Pensando nessa questão em fragmentos florestais, alterações nos padrões de distribuição espacial dessas populações, relacionadas a alterações de habitat e pressões antropogênicas, como observados, porém não testados, em diversos fragmentos analisados, podem ser bons indícios para a presença de populações com desvios dos padrões distílicos típicos, como observado em *Psychotria prunifolia*, nesse estudo, e *P. gracilentia* em Araguari, MG (OLIVEIRA 2008).

Quando se avalia os fragmentos florestais pode-se dizer que o isolamento gerado faz com que populações de plantas até então contínuas e estáveis, passem a viver de forma discreta e instável (METZGER 1999). Isso faz com que seja possível a identificação de diferenças e mudanças nos padrões de atividade reprodutiva entre as populações que possam estar em condições climáticas e ecológicas distintas (RAMOS & SANTOS 2005), isso não foi evidenciado no trabalho, pois todas as espécies distílicas típicas se mostraram isopléticas e teoricamente estáveis. Mas, analisando o fragmento, sob o ponto de vista de habitat, a formação de limites abruptos, ou bordas, entre áreas florestadas e desmatadas (matriz) pode alterar as condições abióticas dentro de manchas (POULIN et al, 1999; DEBINSKI & HOLT, 2000) e influenciar interações de polinização e dispersão, afetando os processos reprodutivos. Portanto, as mudanças abióticas e alterações na composição e comportamento dos visitantes florais podem afetar diretamente a reprodução das plantas nos fragmentos florestais (RAMOS & SANTOS 2005), o que pode não estar ocorrendo ainda, devido ao tempo de fragmentação da região, que não é maior que 40 anos. Mas alguns indícios desse processo pode ser notados a partir de algumas espécies que se mostraram muito mais densas nas bordas e em poucos fragmentos, demonstrando possíveis efeitos dessas variações para essas espécies, como é o caso de *Palicourea croceoides*.

Em trabalho similar, desenvolvido no Triângulo Mineiro, Rodrigues (2013) encontrou 24 populações de oito espécies de *Psychotria*, sendo que algumas se mostraram anisopléticas e a maioria com isopletia. Esses dados reforçam a importância de avaliação em fragmentos florestais, devido essas áreas serem um local de intensa pressão ecológica e onde se observam diversas variações em comportamentos reprodutivos de plantas, principalmente espécies distílicas.

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 e dessa forma influenciar a resposta às pressões de seleção. Quando pensamos em populações distílicas, como as espécies avaliadas, esses efeitos podem ser ainda maiores, como já demonstrado por outros trabalhos (MATSUMURA & WASHITANI 2000; SAKAI e WRIGHT 2008, RODRIGUES & CONSOLARO, 2013). 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).

Thompson et al. (2012) destacam a importância da seleção dependente de frequência negativa para a manutenção de polimorfismos sexuais, onde os cruzamentos compatíveis e a frequência em um morfo beneficiam a presença do outro morfo. Isto é interessante, pois a frequência entre morfos em populações distílicas típicas, onde os dois morfos estão presentes e o sistema de auto e intra morfo incompatibilidade equilibrado, dependem das taxas e eficiência de polinização cruzada entre os morfos, fazendo com que a aptidão de um morfo seja maior quando sua frequência for menor e quando a frequência do morfo oposto for maior, essa questão pode estar diretamente relacionada com as respostas observadas nas populações e nas áreas avaliadas, visto que na maioria das populações avaliadas a razão entre morfos não apresentou diferença significativa. Somente a espécie *P. prunifolia*, sendo monomórfica contradiz esse ponto, isso devido a compatibilidade.

Em trabalho discutindo esse assunto, Stehlik et al. (2006) estudando *Narcissus assoanus*, encontraram uma relação direta entre a densidade e a identidade do morfo circunvizinho, ao sucesso reprodutivo de determinado morfo, ou seja, quanto maior a densidade e a frequência de morfos opostos próximos a um indivíduo, maior será o fitness reprodutivo deste indivíduo. Dessa forma a distribuição e a razão entre os morfos florais em uma população são essenciais na manutenção da fecundidade da espécie, e isso pode ser afetado por processos antrópicos e também por questões ecológicas (RAMOS & SANTOS 2005). Situação similar foi encontrado por Rodrigues (2013), avaliando populações de *Psychotria* em florestas estacionais semi decíduais no triângulo mineiro. O autor identificou, em algumas poucas populações, uma distribuição agrupada por morfo, isso devido provavelmente a um crescimento vegetativo. Essa distribuição afeta de forma direta o fluxo

de pólen intramorfo, visto que a agregação de apenas um morfo facilita a polinização intramorfo e reduz a fecundidade em espécies intramorfo incompatíveis.

A situação esperada em populações distílicas típicas seria então uma razão entre os morfos florais de 1:1, ou seja, isoplética. Essa razão equilibrada é favorecida pela genética da distília que destaca que indivíduos Thrum, ou brevistílicos apresentam no supergene a constituição “Ss” sendo considerados heterozigotos, enquanto os indivíduos Pin, ou longistílicos são homozigotos “ss”. Cruzamentos legítimos entre os indivíduos sempre vão gerar uma descendência de 1:1, mantendo o equilíbrio populacional (LEWIS & JONES 1992; BOYD et al. 1990). Mas é importante notar que nunca foi feito um estudo específico que comprovasse as regulações dialélicas da distília em Rubiaceae (CONSOLARO et al. 2011, FARIA et al. 2011; RODRIGUES & CONSOLARO 2013) e em alguns grupos a regulação da distília pode ser diferente (BARRETT & SHORE 2008).

A variação na razão de morfos, como observado em algumas populações de plantas distílicas avaliadas, e também nas populações da espécie *P. prunifolia*, pode ocorrer por um fator ou a combinação de vários fatores tais como: autofertilização, polinização ilegítima e intramorfo compatibilidade, propagação vegetativa diferencial, idade diferencial na primeira floração, sobrevivência diferencial e fatores históricos (PAILLER & THOMPSON 1997).

Algumas hipóteses foram levantadas para explicar a existência do longi monomorfismo nessas espécies. Uma das hipóteses é a ecológica, que destaca a dificuldade dos indivíduos brevistílicos ocuparem novos ambientes devido a constituição floral e a dificuldade dos grãos de pólen chegarem ao estigma, sendo necessário a presença de polinizadores de língua longa (especialistas), muitas vezes inexistentes nessas áreas fragmentadas (BEACH & BAWA 1980, ARROYO et al 2002). Por outro lado o estigma das flores longistilas esta acessível a qualquer visitante facilitando a polinização (BEACH & BAWA 1980). No trabalho de Arroyo et al (2002) com *Narcissus papyraceus* essa hipótese pode ser comprovada, uma vez que os autores não observaram polinizadores com aparelho bucal longo nas populações monomórficas.

Outra hipótese é a genética, que destaca que devido os indivíduos brevistílicos serem heterozigotos (Ss), qualquer população que se originasse desses indivíduos, após algumas gerações, já apresentariam indivíduos longistílicos, pois estes são homozigotos (ss) e qualquer cruzamento possível entre indivíduos brevistílicos iria produzir 25% de indivíduos longistílicos, enquanto em uma população inicial longistílica, somente indivíduos desse morfo

seriam produzidos (ARROYO et al. 2002), podendo dessa forma explicar o surgimento de populações monomórficas em fragmentos florestais do sudoeste goiano. Mas é importante notar que para o estabelecimento de tais populações seria necessário a quebra do sistema de incompatibilidade.

Outras questões que afetam a razão entre os morfos, podem ter uma relação com eventos históricos e processos estocásticos, como por exemplo, efeitos do fundador, gargalos populacionais e deriva genética, em especial quando a reprodução clonal domina (MORGAN & BARRETT, 1988; BARRETT 1993; ECKERT & BARRETT, 1995), como observado para a espécie *P. prunifolia*. Esses processos podem causar significativos efeitos ecológicos e evolutivos na população, uma vez que causam perda de morfos florais em populações distílicas e com isso afetam todo o sistema reprodutivo (BARRETT et al 1989; ECKERT & BARRETT, 1992; ZHOU et al. 2012).

Em trabalhos com espécies de Rubiaceae distílicas do Bioma Cerrado, Consolaro (2008), encontrou espécies com distília típica, espécies com grande variação entre os morfos (anisopléticas), espécies monomórficas e espécies homostílicas. Com base nesta diversidade, propôs caminhos evolutivos, onde a condição ancestral seria a distília típica, a condição intermediária, seriam populações monomórficas e a condição derivada, seriam populações e/ou espécies homostílicas. Essa proposta está ligada a transformação de uma população xenógama, autoincompatível de plantas distílicas, que se mantinham estáveis em ambientes equilibrados, em uma população autógama autocompatível de plantas homostílicas, geralmente associadas a ambientes perturbados (GANDERS 1979; COELHO & BARBOSA 2003), como o caso da maioria dos fragmentos florestais avaliados nesse estudo.

Também estudando espécies do gênero *Psychotria*, Sakai & Wright (2008), avaliaram 21 espécies na Costa Rica, encontraram 14 espécies heterostílicas e sete espécies monomórficas, sendo que das sete espécies monomórficas, cinco apresentavam somente um dos morfos florais, sendo longi monomórficas e duas espécies apresentavam a característica de homostilia, reforçando ainda mais as variações que ocorrem dentro da família.

Estudos realizados em Viçosa, MG, pesquisando espécies de Rubiaceae, entre elas seis *Psychotria* e uma *Palicourea*, encontraram anisopleitia em duas espécies de *Psychotria* e monomorfismo brevistílico em uma espécie, *Psychotria hygrophiloides* (PEREIRA et al. 2006). Uma informação interessante é que nessa espécie monomórfica não existe formação de frutos na área de estudo, mas os autores observaram intenso crescimento vegetativo, o que

deve estar mantendo a população viva, e também pode ser uma das explicações para as populações atípicas encontradas no Cerrado sul goiano.

Um outro trabalho com foco em Rubiaceae, realizado em Mato Grosso do Sul, avaliando a biologia reprodutiva de oito espécies, dentre elas duas *Palicourea* e quatro *Psychotria* (PEREIRA 2007), encontrou anisopleitia em cinco espécies, sendo mais plantas brevistílicas em *Coussarea platyphylla*, *Palicourea croceoides* e *Psychotria leiocarpa*; mais plantas longistílicas em *Psychotria capillaceae* e *Psychotria carthagenensis*, enquanto que a espécie *Psychotria deflexa* se mostrou longi monomórfica e auto e intramorfo compatível, formando alta proporção de sementes nesses tratamentos, comparados ao tratamento controle. A autora encontrou também certo grau de auto e intramorfo compatibilidade nas populações anisopléticas de *Palicourea croceoides* e *Psychotria capillaceae*, além, de uma variação diferente do tamanho dos estiletes de *Psychotria leiocarpa*. Nas flores longistilas das plantas dessa última espécie os estiletes se mostravam, também, com um tamanho intermediário, apresentando assim três alturas distintas dentro da população, reforçando ainda mais as variações dentro das Rubiaceae.

Um trabalho que trouxe informações interessantes foi o realizado com *Psychotria carthagenensis* em Mato Grosso do Sul, onde os autores avaliaram a razão entre morfos, a hercogamia recíproca e o sistema reprodutivo, identificando populações distílicas, isopléticas, mas auto e intra morfo compatíveis, tudo isso em fragmentos florestais (FARIA et al. 2011), demonstrando quanto flexíveis podem se mostrar os sistemas reprodutivos das Rubiaceae. Resultado similar foi encontrado por Consolaro et al. (2011) com a mesma espécie, mas em populações longi-monomórficas e autocompatíveis.

O trabalho com espécies de *Psychotria* em Araguari, MG, encontrou 3 espécies com distília típica (Oliveira 2008), mas com variação entre os morfos, com predomínio do morfo longistilo em *P. trichophoroides*, enquanto que para *P. cephalantha* e *P. hoffmannseggiana* a razão foi isoplética. Já as espécies *P. prunifolia* e *P. gracilenta* apresentaram todos os indivíduos longistílicos sendo consideradas dessa forma monomórficas, resultado similar foi encontrado para *P. prunifolia* nas áreas avaliadas, e mais uma vez demonstra as variações em fragmentos florestais no Bioma Cerrado.

Em trabalho realizado na China, avaliando 25 populações de *Luculia pinceana* (Rubiaceae), buscando a influência de fatores históricos, a partir de informações moleculares, que afetam a razão entre morfos em populações naturais, Zhou et al. (2010 e 2012)

identificaram 19 populações isopléticas, e das 6 populações não isopléticas, duas apresentaram maior frequência de indivíduos longistílicos, e quatro eram populações monomórficas longistílicas. Todas essas populações que apresentaram variação na razão entre morfos estavam associadas a ambientes marginais na distribuição da espécie. Os autores indicam que influências históricas podem estar direcionando a distribuição de morfos em populações recém formadas. Limitação de pólen e padrões de transferência de pólen assimétricos, comum em locais isolados como fragmentos florestais, combinados com diferenças específicas no sistema de incompatibilidade entre os morfos, pode afetar o sucesso reprodutivo feminino, e consequentemente, desempenhar um papel importante na regulação da razão entre os morfos (BRYN et al. 2008).

Comparando os resultados com os parâmetros de fragmentação, não foi encontrada relação entre a ocorrência das características distílicas e suas variações nas populações, principalmente o monomorfismo e a homostilia, com os diferentes níveis de interferência e perturbação antrópica nos fragmentos avaliados. Mas uma questão que vale ser mencionada é a ampla distribuição e ocupação da espécie *Psychotria prunifolia*, encontrada em 17 dos 20 fragmentos avaliados. A autocompatibilidade torna a espécie independente de visitantes florais mais especialistas, diferente das demais espécies distílicas e autoincompatíveis (ver capítulo 2), e consequentemente menos afetada pelo processo de fragmentação (WILCOCK & NEILAND 2002, JACQUEMYN *et al.* 2003, OOSTERMEIJER *et al.* 2003, WAITES & AGREN 2004). Vale ressaltar que a avaliação dos níveis de interferência e perturbação antrópica realizada nesse trabalho é muito superficial, e avaliada de forma qualitativa, não averiguando diretamente o efeito da fragmentação no sistema reprodutivo e na polinização das espécies de *Palicourea* e *Psychotria* estudadas. Além disso, as respostas do sistema distílico às perturbações podem não se manifestar de forma tão rápida, e/ou as características encontradas nas populações estudadas, como o monomorfismo e a homostilia podem representar reflexos de outros processos ecológicos e evolutivos independentes (RODRIGUES 2013).

Essa questão fica evidente quando se descreve o trabalho de Sedio *et al.* (2013) que destaca que as espécies de *Psychotria* do neotrópico descendem de uma única linhagem que se diversificou na América Central, e provavelmente, a partir de dois eventos geológicos recentes (surgimento dos Andes e Istmo do Panamá) colonizaram a América do Sul. Além do mais, as *Psychotria* coexistentes demonstram conservação de nicho filogenético e 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).

Esse aspecto pode ser explicado de forma análoga pelo trabalho de Prado & Gibbs (1993) que relatam que as florestas estacionais secas, quando avaliados a partir da biogeografia histórica das florestas neotropicais, faziam parte de formações muito maiores e contínuas e que nos últimos milênios vem se retraindo e alterando o comportamento reprodutivo das espécies vegetais que colonizaram essas áreas. O trabalho citado, mesmo se tratando de florestas secas, gera uma ideia de processos que podem ter ocorrido com as florestas estacionais, que fazem parte do Bioma Cerrado. Isto porque o Cerrado, da forma como o que conhecemos, apresenta cerca de 32000 anos (MIRANDA *et al.* 2002) e sua ocupação só se intensificou no século XX (KLINK & MOREIRA 2002), 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 destes táxons 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 (RODRIGUES 2013).

1.7 - Conclusão

Todos esses dados destacam a importância de uma avaliação em larga escala e a importância de estudos de filogenia do grupo para se entender os padrões evolutivos de determinadas características. Além disso, comparar os mecanismos reprodutivos, histórico das áreas (fragmentos) e principalmente gama de visitantes florais associados é essencial para entender o comportamento reprodutivo das espécies e as variações que estas mostram ao longo da sua distribuição geográfica. Isso tudo, para se tentar descrever, com maior segurança, os reais fatores que afetam as variações em populações distílicas.

1.8 - Referências bibliográficas

- ANTONOVICS, J. & LEVIN, D.A. 1980. The ecological and genetic consequences of density-dependent regulation in plants. *Ann Rev Ecol Syst* 11:411–452
- ARROYO, J., BARRETT, S.C.H, HIDALGO R, COLE WW. 2002. Evolutionary maintenance of stigma-height dimorphism in *Narcissus papyraceus* (Amaryllidaceae). *American Journal of Botany* 89: 1242–1249.
- AYRES, M.; AYRES JR., M.; AYRES, D.L. & SANTOS, A.S. 2003. BioEstat 3.0. Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Sociedade Civil Mamirauá /MCT-CNPq /Conservation International.
- BAKER, H.G. 1958. Studies in the reproductive biology of West African Rubiaceae. *Journal of the West African Science Association* 4: 9-24.
- BARRETT S.C.H., SHORE J.S. 2008. New insights on heterostyly: Comparative biology, ecology and genetics. In: V. Franklin-Tong, ed. *Self-incompatibility in flowering plants: Evolution, diversity and Mechanisms*. Berlin, GER. Springer-Verlag. 3-32.
- BARRETT, S.C.H. 1993. The evolutionary biology of tristily. In: *Oxford Surveys in Evolutionary Biology* (Eds. D. Futuyma & J. Antonovics), Vol. 9: pp. 283–326. Oxford University Press, Oxford, U.K.
- BARRETT, S.C.H & THOMSON, J.D. 1982. Spatial pattern, floral sex ratios, and fecundity in dioecious *Aralia nudicaulis*. *Can. J. Bot.* 60:1662–1670
- BARRETT, S.C.H., MORGAN, M.T. & HUSBAND, B.C. 1989. The dissolution of a complex polymorphism: the evolution of self-fertilization in tristylous *Eichhornia paniculata* (Pontederiaceae). *Evolution* 43: 1398–1416.
- BEACH, J. H. & BAWA, K. S. 1980. Role of pollinators in the evolution of dioecy from distily. *Evolution* 34: 1138-1142.

- BOYD, M., SILVERTOWN, J., & TUCKER, C. 1990. Population ecology of heterostyle and homostyle *Primula vulgaris*: growth, survival and reproduction in field populations. *J. Ecol.* 78: 799–813.
- BREMER, B. 2009. A review of molecular phylogenetic studies of Rubiaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 96: 4-26.
- BRYN, R.; JACQUEMYN, H.; HERMY, M.; BEECKMAN, T. 2008. Pollen deposition rates and the functioning of distyly in the perennial *Pulmonaria officinalis* (Boraginaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 273, 1-12.
- BURGER, W. & TAYLOR, C.M. 1993. Rubiaceae. In *Flora Costaricensis* (Burger, W. ed.). Fieldiana: Botany, New Series 33: 1-333.
- 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. 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. SILVA, S.C.S.; OLIVEIRA, P. E. 2011. Breakdown of distyly and pin-monomorphism in *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae). *Plant Species Biology* 26: 24–320.
- DALE, M.R.T. 2004. *Spatial Pattern analysis in Plant Ecology*. 4th ed., Cambridge University Press, Cambridge.
- DAVIS, H.G.; TAYLOR, C.M.; CIVILLE, J.C.; STRONG, D.R. 2004. An Allee effect at the front of a plant invasion: *Spartina* in a Pacific estuary. *Ecology*, 92:321–327
- DAVIS, A.P.; BRIDSON, D.; JARVIS, C. & GOVAERTS, R. 2001. The typification and characterization of genus *Psychotria* L. (Rubiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 135: 35-42.

- DEBINSKI, D. M., HOLT, R. D. 2000. A survey and overview of habitat fragmentation experiments. *Conservation Biology*, 14 (2): 342-355.
- 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.
- ECKERT, C.G. & BARRETT, S.C.H. 1995. Style morph ratios in tristylous *Decodon verticillatus* (Lythraceae): selection vs. historical contingency. *Ecology* 76: 1051–1066
- ENDELS, P., JACQUEMYN, H., BRYN, R., & HERMY, M. 2002. Changes in pin-thrum ratios in populations of the heterostyle *Primula vulgaris* Huds.: Does imbalance affect population persistence? *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 197(5), 326–331.
- FARIA, R.R.; FERRERO, V.; NAVARRO, L. & ARAÚJO, A.C., 2011. Flexible mating system in distylous populations of *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae) in Brazilian Cerrado. *Plant Systematics and Evolution*, 298(3), pp.619–627.
- FARWIG, N., BAILEY, D., BOCHUD, E., HERRMANN, J., KINDLER, E., REUSSER, N., SCHUEPP, C., SCHMIDT-ENTLING, M.H., 2009. Isolation from forest reduces pollination, seed predation and insect scavenging in Swiss farmland. *Landscape Ecol.* 24, 919–927.
- 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.
- GIRÃO, L.C., A.V. LOPES, M. TABARELLI & E. BRUNA. 2007. Changes in tree reproductive traits reduce functional diversity in a fragmented Atlantic Forest landscape. *PLoS ONE*, 9:1-12.
- GOEVARTS R; RUHSAM, M.; ANDERSSON, L.; ROBBRECHT, E.; BRIDSON, D.; DAVIS, A.; SCHANZER, I.; SONKE, B. 2006 World checklist of Rubiaceae. Royal Botanic Gardens, Kew. <http://www.kew.org/wcsp/rubiaceae/>

- GROOM, M.J. 1998. Allee effects limit population viability of an annual plant. *Am. Nat.* 151:487–496.
- HAMILTON, C.W. 1990. Variations on a distylous theme in Mesoamerican *Psychotria* subgenus *Psychotria* (Rubiaceae). *Memoirs of the New York Botanical Garden* 55: 65–75.
- HARRIS, L.F. & JOHNSON, S.D. 2004. The consequences of habitat fragmentation for plant-pollinator mutualisms. *Int. J. Trop. Insect Sci.*, 24, 29–43.
- HEILBUTH J.K; ILVES K.L, OTTO S.P. 2001. The consequences of dioecy for seed dispersal: modeling the seed-shadow handicap. *Evolution*. 55:880–888
- JACQUEMYN, H.; BUTAYE, J.; HERMY, M. 2003. Influence of environmental and spatial variables on regional distribution of forest herbs in a fragmented and changing landscape. *Ecography*, 26, 768– 776
- 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.
- KÖPPEN, W.; GEIGER, R. 1928. *Klimate der Erde*. Gotha: Verlag Justus Perthes. Wall-map 150cmx200cm.
- KOZERA, C.; RODRIGUES, R.R.; DITTRICH, V.A. de O. 2008. Composição florística do sub-bosque de uma floresta Ombrófila Densa Montana, Morretes, PR, BRASIL. *Floresta*, 39 (2): 323–334.
- KUNIN W.E. 1993. Sex and the single mustard seed: population density and pollinator behaviour effects on seed set. *Ecology*. 74:2145–2160
- LASKA, M.S. 1997. Structure of understory shrub assemblages in adjacent secondary and old growth tropical wet forests, Costa Rica. *Biotropica* 29: 29–37.
- LEVIN, D. & KERSTER, H. 1969. Density-dependent gene dispersal in *Liatris*. *Am. Nat.* 103: 61–74.

- LEWIS, D. & JONES D.A. 1992. The genetics of heterostyly. Pp 129-150. In: Barrett, S.C.H. (Ed.). *Evolution and Function of Heterostyly*. New York, Springer-Verlag.
- 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.
- MATSUMURA, C.; WASHITANI, I. 2000. Effects of population size and pollinator limitation on seed set of *Primula sieboldii* populations in a fragmented landscape. *Ecol Res* 15: 307–322
- MEAGHER T.R. 1991. Analysis of paternity within a natural population of *Chamaelirium luteum*. II. Patterns of male reproductive success. *Am. Nat.* 137:738–752
- MENDONÇA, R. C.; FELFILI, J. M.; WALTER, B. M. T.; SILVA JÚNIOR, M. C.; REZENDE, A. V.; FILGUEIRAS, T. S. & NOGUEIRA, P. E. 2008. Flora Vascular do Cerrado. Pp. 289-556. In: S. M. Sano & S. P. Almeida (eds). *Cerrado: ambiente e flora*. Planaltina, EMBRAPA-CPAC.
- METZGER, J.P. 2003. Como restaurar a conectividade de paisagens fragmentadas? In: KAGEYAMA, P.Y.; OLIVEIRA, R.E.; MORAES, L.F.D.; ENGEL, V.L.; GANDARA, F.B. (Ed). *Restauração Ecológica de Ecossistemas Naturais Botucatu: FEPAF*, p. 49-76.
- 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.
- MORGAN, M.T. & BARRETT, S.C.H. 1988. Historical factors and anisoplethic population structure in tristylous *Pontederia cordata* L. , a re-assessment. *Evolution* 42: 496–504.
- NEPOKROEFF, M.; SYTSMA, K.J.; BREMER, B. 1999 Reorganization of the genus *Psychotria* and tribe Psychotrieae (Rubiaceae) inferred from ITS and rbcL sequence data. *Syst Bot* 24:5–27.
- OLIVEIRA, A.S. 2008. Biologia reprodutiva de *Psychotria* L. (Rubiaceae) em floresta estacional semidecidual no sudeste brasileiro. Dissertação de Mestrado. Unicamp.

- 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.
- OOSTERMEIJER, J.G.B.; LUIJTEN, S.H.; DEN NIJS, J.C.M. 2003. Integrating demographic and genetic approaches in plant conservation *Biological Conservation* 113:389–398
- PAILLER, T., & THOMPSON, J. D. 1997. Distyly and Variation in Heteromorphic Incompatibility in *Gaertnera vaginata* (Rubiaceae) Endemic To La Reunion Island. *American journal of botany*, 84(3), 315–327.
- 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 Botânica* 29: 471-480.
- PEREIRA, Z. V. 2007. Rubiaceae Juss. do Parque Estadual das Várzeas do Rio Ivinhema, Mato Grosso do Sul: florística, sistema reprodutivo, distribuição espacial e relações alométricas de espécies distílicas. Tese de Doutorado em Biologia Vegetal. Universidade Estadual de Campinas.
- PÉRICO, E.; CEMIN, G.; LIMA, D.; F. B.; REMPEL, C.. Efeitos da fragmentação de habitats sobre comunidades animais: utilização de sistemas de informação geográfica e de métricas de paisagem para seleção de áreas adequadas a testes. In: XII SIMPÓSIO BRASILEIRO DE SENSORIAMENTO REMOTO, 2005, Goiânia. Anais... Goiânia:INPE, 2005. p. 82-99.
- PRADO, D.E. & GIBBS, P.E. 1993. Distributions in the dry seasonal forests of South America. *Annals of Missouri Botanical Garden* 80:902–927.
- POULIN, B.; WRIGHT, S.; LEFEBVRE, G.; CALDERON, O. 1999. Interspecific synchrony and asynchrony in the phenologies of congeneric bird-dispersed plants in Panama. *Journal Tropical Ecology* 15: 213-217.

- RAMOS, F.N.; ZUCCHI, M.I.; SOLFERINI, V.N. & SANTOS, F.A.M. 2008. Mating Systems of *Psychotria tenuinervis* (Rubiaceae): Distance from Anthropogenic and Natural Edges of Atlantic Forest Fragment. *Biochem Genet* 46:88–100
- RAMOS, F.N. & SANTOS, F.A.M. 2006. Floral Visitors and Pollination of *Psychotria tenuinervis* (Rubiaceae): Distance from the Anthropogenic and Natural Edges of an Atlantic Forest Fragment. *BIOTROPICA* 38(3): 383–389
- RAMOS, F.N.; SANTOS, F.A.M. 2005. Phenology of *Psychotria tenuinervis* (Rubiaceae) in Atlantic Forest fragments: fragment and habitat scales. *Canadian Journal of Botany* 83:1305-1316.
- PRIMACK, R.B. & RODRIGUES, E. 2002. *Biologia da Conservação*, E. Rodrigues. Londrina.
- RODRIGUES, E. B. 2013. Ecologia Reprodutiva de Espécies Distílicas 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.
- RODRIGUES, E.B.; CONSOLARO, H.N. 2013. Atypical distyly in *Psychotria goyazensis* Mull. Arg. (Rubiaceae), an intramorph self-compatible species. *Acta Botanica Brasilica* 27(1): 155-161.
- SAKAI S. & WRIGHT S. J. 2008. Reproductive ecology of 21 coexisting *Psychotria* species (Rubiaceae): heterostyly lost? *Biological Journal of the Linnean Society* 93: 125–134.
- 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.
- SOBREVILA, C.; RAMIREZ, N. & ENRECH, N. X. 1983. Reproductive biology of *Palicourea fendleri* and *P. petiolares* (Rubiaceae), heterostylous shrubs of a tropical cloud forest in Venezuela. *Biotropica* 15: 161-169.

- SOUZA, V. C.; LORENZI, H.. Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III. 3. ed. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 2012.
- STEHLIK, I., CASPERSEN, J. P., & BARRETT, S. C. H. 2006 . Spatial ecology of mating success in a sexually polymorphic plant. *Proceedings of the Royal Society of London, B, Biological Sciences* 273:387 – 394 .
- TABARELLI, M. & GASCON, C., 2005. Lessons from fragmentation research: improving management and policy guidelines for biodiversity conservation. *Conservation Biology*, vol. 19, no. 3, p. 734-739.
- TAYLOR, C. 2013. *Psychotria* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB14153> acesso em 30 de outubro de 2013, 15:40h.
- TAYLOR, C. M. 1989. Revision of *Palicourea* (Rubiaceae) in Mexico and Central America. *Systematic Botanical Monograph*, v. 26, p. 1-102,
- TAYLOR, C. M. 1996. Overview of the Psychotrieae (Rubiaceae) in the Neotropics. *Opera Botanica Belgica*, v. 7, p. 261-270,
- TAYLOR, C. M. 1997. Conspectus of the genus *Palicourea* (Rubiaceae: Psychotrieae) with the description of some new species from Ecuador and Colombia. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, v. 84, p. 224-262,
- THOMPSON, J.D.; CESARO, A.C. & ARROYO, J. 2012. Morph ratio variation and sex organ reciprocity in style-dimorphic *Narcissus assoanus*. *International Journal of Plant Sciences*, 173(8), pp.885–893.
- 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.

- WILSON W.G. & HARDER L.D. 2003. Reproductive uncertainty and the relative competitiveness of simultaneous hermaphroditism versus dioecy. *Amer. Naturalist* 162: 220–241.
- WYATT, R., & R. L. HELLWIG. 1979. Factors determining fruit set in heterostylous bluets, *Houstonia caerulea* (Rubiaceae). *Syst. Bot.* 4:103-114.
- ZAPPI, D.; TAYLOR, C. 2013. *Palicourea* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB14133> acesso em 30 de outubro de 2013, 15:40h.
- ZHOU, W., BARRETT, S. C. H., WANG, H., & LI, D. Z. 2012. Loss of floral polymorphism in heterostylous *Luculia pinceana* (Rubiaceae): a molecular phylogeographic perspective. *Molecular ecology*, 21, 4631–4645.
- ZHOU, W. & WANG, H., 2010. Isolation and Characterization of 13 Microsatellite Loci from *Luculia pinceana* (Rubiaceae), a Typical Distylous Species. *HortScience*, 45(5), pp.840–841.

CAPÍTULO 2

BIOLOGIA FLORAL E SISTEMA REPRODUTIVO DE CINCO RUBIACEAE ARBUSTIVAS DO SUB BOSQUE DE FORMAÇÕES FLORESTAIS DO CERRADO

2.1 – Resumo

A heterostilia é um polimorfismo floral geneticamente controlado onde populações de plantas apresentam dois ou três morfos com peças reprodutivas em alturas recíprocas entre os morfos. Em populações naturais, em equilíbrio, espera-se encontrar uma razão igual entre os morfos (isopletia). O objetivo do estudo foi caracterizar o sistema reprodutivo, as características heterostílicas, a fenologia e a polinização em cinco espécies arbustivas do sub bosque de formações florestais do Cerrado. Para tal foram medidas estruturas florais, realizado cruzamentos controlados, observado os visitantes florais, além de acompanhamento fenológico. As espécies avaliadas foram *Psychotria capitata*; *P. colorata*; *P. prunifolia*, *P. hoffmannseggiana* e *Palicourea croceoides*. Todas as espécies, exceto *P. prunifolia*, se mostraram distílicas, com dois morfos em equilíbrio na população. A hercogamia recíproca não foi perfeita para nenhuma das espécies distílicas, que apresentaram distintos níveis de reciprocidade. *P. prunifolia* foi caracterizada como monomórfica e autocompatível, enquanto as demais espécies foram auto incompatíveis, com inibição do tubo polínico nos estigmas (morfo brevistílico) e no estigma e estilete (morfo longistílico). Houve formação de frutos em todos os tratamentos (polinização cruzada intermorfo e intramorfo, além de autopolinização) em *P. prunifolia*, enquanto as demais espécies formaram um número significativamente maior de frutos em polinizações cruzadas intermorfos. A floração de todas as espécies é anual, e ocorre entre os meses de novembro e março, com pico de floração em dezembro e janeiro, e floração variando de três a cinco meses. Os dados reprodutivos das espécies avaliadas se mostram similares a outras espécies de Rubiaceae do sub bosque de ambientes florestais do Cerrado, demonstrando uma variação de sistemas reprodutivos que podem ser efeitos das pressões antrópicas sofridas nos fragmentos onde as populações se encontram.

Palavras-chaves: Rubiaceae, *Psychotria*, *Palicourea*, polinização

2.2 - Abstract

The heterostyly is a floral polymorphism genetically controlled where populations of plants present two or three morphs with reproductive structures in reciprocal heights among the morphs. In stable natural populations, a balanced ratio between morphs (isoplethy) is expected. The objective of the study was to characterize the breeding system, the characteristics of heterostyly, the phenology and the pollination in five shrub species of the understory of forest formations of Cerrado, the Neotropical Savanna areas in Brazil. For such studies, floral structures were measured, controlled hand pollinations were carried out, floral visitors were observed, and phenological behavior was observed. The studied species were *Psychotria capitata*; *P. colorata*; *P. prunifolia*, *P. hoffmannseggiana* and *Palicourea croceoides*. All the species, except *P. prunifolia*, were distylous with two morphs in balance in the population. The reciprocal herkogamy was not perfect for any of the distylous species, which presented different reciprocity levels. *P. prunifolia* was characterized as monomorphic and self-compatible, while the other species were self-incompatible, with inhibition of the pollen tube in the stigma (thrum morph) and in the stigma or style (pin morph). There was formation of fruits in all the hand pollination treatments (intermorph and intramorph cross pollination, and self-pollination) in *P. prunifolia*, while the other species formed a number significantly larger of fruits after intermorph cross pollinations. The flowering of all the species was annual, between November and March, with flowering peak in December and January, and flowering span varying from three to five months. The reproductive data of the studied species were similar to other species of Rubiaceae in understory of forests in the Cerrado Bioma, demonstrating a variation of reproductive systems that can be result of the anthropic pressures suffered by the fragments where the populations occur.

Key-words: Rubiaceae, *Psychotria*, *Palicourea*, pollination

2.3 - Introdução

Uma das estratégias utilizada pelas plantas e que trouxe muitas vantagens ao sucesso reprodutivo foi o hermafroditismo, mas esta característica não está isenta de desvantagens. Isto porque as plantas podem apresentar conflitos de interesse entre as funções sexuais, produzindo dessa forma interferência entre as estruturas sexuais quando estas compartilham espaço e tempo (BARRETT 2000). Uma forma de reduzir ou evitar o conflito de interesses são alterações morfológicas na estrutura floral, como é o caso da hercogamia – separação espacial entre os órgãos sexuais (WEBB & LLOYD 1986) ou a dicogamia – separação temporal entre a maturação dos órgãos sexuais (LLOYD & WEBB 1986). Estas estratégias são muito úteis, mas não são totalmente seguras para evitar a autopolinização ou a geitonogamia. Estratégias fisiológicas, como sistemas de incompatibilidade, surgem então, para permitir que as estruturas sexuais estejam na mesma flor, mas sem que interfiram no sucesso reprodutivo (PÉREZ-BARRALES 2005).

Entre as estratégias que evitam o conflito de interesses nas flores hermafroditas está a heterostilia, um polimorfismo floral geneticamente controlado, onde populações podem apresentar dois morfos (distilia) ou três morfos (tristilia) com diferenças recíprocas no comprimento do estilete e das anteras. Este polimorfismo é associado com um sistema de autoincompatibilidade dialélico esporofítico, onde somente cruzamentos entre os morfos correspondentes geram sementes férteis (GANDERS 1979a). Variações de incompatibilidade em espécies distílicas podem ser resultado do relaxamento ou da perda da incompatibilidade (BARRETT & RICHARDS 1990; LLOYD & WEBB 1992a), muitas vezes relacionados com a quebra da heterostilia e a formação de formas variantes (BARRETT & SHORE 2008). Além das características primárias da heterostilia, outras diferenças acessórias são observadas, como tamanho e forma das papilas estigmáticas, tamanho e número dos grãos de pólen, tamanho do estigma, tamanho da corola (BARRETT & RICHARDS 1990). Esse polimorfismo ocorre em plantas hermafroditas que coexistem em uma população e apresentam, teoricamente, uma razão de equilíbrio entre os morfos (CHEN & ZANG 2010; MARUYAMA et al. 2010). A heterostilia já foi descrita em pelo menos 193 gêneros de 30 famílias de angiospermas, muitas não relacionadas, o que demonstra origens independentes (CHEN et al. 2010). Um levantamento mais detalhado, seguindo as informações de APG III (2009), Naiki (2012), descreveu a presença de heterostilia em 199 gêneros de 28 famílias e 15 ordens, excluindo algumas informações que causavam dúvidas e controvérsias.

A variação no tamanho do estilete e das anteras tem levado alguns pesquisadores a identificarem diversos tipos de hercogamia. Lloyd & Webb (1992a) definem distilia como “*hercogamia recíproca*”, uma vez que envolve a separação entre as anteras e o estigma dentro da mesma flor e a reciprocidade desses órgãos em morfos distintos entre indivíduos. Dessa forma os autores destacam que a heterostilia envolve dois morfos dentro de uma única população: alguns indivíduos com a característica denominada

“*approach herkogamy*” onde o estigma é posicionado acima das anteras (longistílico); e outros indivíduos com a característica denominada “*reverse herkogamy*” com estigma posicionado abaixo das anteras (brevistílico). Esta distinção entre esses dois tipos é morfológica, mas pode ter importantes consequências funcionais (FERRERO et al. 2011a).

Todo esse posicionamento recíproco entre os órgãos sexuais dentro da flor pode ser avaliado como uma estratégia para aumentar a polinização legítima, visto que visa depositar grãos de pólen em locais específicos do corpo do visitante e reduzir o desperdício de pólen, ao mesmo tempo que evita uma interferência direta entre as funções masculina e feminina dentro da flor (LLOYD & WEBB 1992 a, b; BARRETT 2002) e consequentemente uma autopolinização.

Diferentes abordagens têm sido usadas para caracterizar a distília, tal como a separação igual entre as anteras e estiletos em ambos os morfos (RICHARDS & KOPTUR 1993; PAILLER & THOMPSON 1997; REE 1997; FAIVRE & McDADE 2001); separação entre verticilos sexuais recíprocos mais próximos (PÉREZ et al. 2004) representação gráfica (PASSOS & SAZIMA 1995); ou em alguns casos, diferenças significativas na posição recíproca dos órgãos entre os morfos (BAKER et al. 2000; ARROYO et al. 2002; SÁNCHEZ et al. 2008). Para que a distília seja considerada típica algumas características básicas devem ser observadas nas populações ou espécies, tais como: presença de hercogamia recíproca; populações isopléticas e a presença de um sistema de incompatibilidade auto e intramorfo (BARRETT 1992; GANDERS 1979a). Mesmo assim, de acordo com Ferrero et al. (2011a) a dificuldade na real caracterização da distília e na diferenciação de outros polimorfismos estilares é grande, sendo necessário medidas minuciosas das características florais para chegar a conclusões adequadas, proposta já apresentada antes por Sánchez et al. (2008).

A presença de dois morfos, de estiletos e anteras recíprocas, tem sido considerada como condição necessária e suficiente para que a distília seja caracterizada como típica, desde que seja suficiente para determinar níveis mínimos de polinização legítima (LLOYD & WEBB 1992 b), devido a alta reciprocidade entre os morfos (CESARO & THOMPSON 2004). Mas muitas espécies heterostílicas, têm sido definidas somente como “*approach herkogamy*” (Pin-longistílicas) ou “*reverse herkogamy*” (Thrum-brevistílicas) quando ocorrem juntas dentro da população, sem ter conta do grau de reciprocidade entre os órgãos sexuais (BAKER 1964; O'BRIEN & CALDER 1989; GOLDBLATT & BERNHARDT 1990). Além disso, a reciprocidade é a característica morfológica chave que distingue a distília de outros dimorfismos, como o polimorfismo estilar (BAKER et al. 2000; BARRETT et al. 2000; ARROYO et al. 2002; FERRERO et al. 2011a e b).

Caso essas características não estejam presentes na população em estudo, pode-se caracterizar uma distília atípica (HAMILTON 1990), onde a ausência de hercogamia recíproca pode ser acompanhada de autocompatibilidade, anisopleia, populações monomórficas e populações homostílicas. Dentre as várias

causas que podem gerar esses desvios e caracterizar uma distília atípica, podemos destacar a disponibilidade e comportamento dos polinizadores (FAIVRE & McDADE 2001; KULBABA & WORLEY 2008; VALOIS-CUESTA et al. 2012), mutações e recombinações genéticas (BARRETT & RICHARDS 1990), distúrbios ambientais (JANZEN 1974; BARRETT 1988; AGREN 1996), populações reduzidas (JENNERSTEN 1988, KÉRY et al. 2000) e isolamento geográfico (SOBREVILA et al. 1983; JENNERSTEN 1988; WASHITANI et al. 1994; MATSUMURA & WASHITANI 2000; BRAMOW et al. 2012), todos agindo na força de seleção da distília, o que pode causar sua quebra.

Entre as famílias que apresentam a heterostília, a que apresenta mais representantes distílicos dentre as angiospermas é a família Rubiaceae, que soma mais espécies distílicas do que todas as outras famílias juntas, sem necessariamente demonstrar uma relação filogenética dessa característica, o que reflete diferentes origens da síndrome (HAMILTON 1990; FAIVRE & McDADE 2001). De acordo com Naiki (2012) cento e nove gêneros, ou seja, mais da metade dos gêneros heterostílicos reconhecidos, pertencem a família Rubiaceae. Vários trabalhos descrevem heterostília em Rubiaceae, por exemplo Barrett & Richards (1990), avaliando a heterostília em Rubiaceae, encontraram a distília em 21 tribos de árvores, ervas, arbustos e lianas, tanto em ambiente tropical quanto temperado. Dessa forma os autores acreditam que essa característica não segue um padrão filogenético, tendo evoluído mais de uma vez na família, a partir de processos convergentes.

De acordo com Delprete (2004) a família Rubiaceae é uma das maiores famílias dentro das Angiospermas, com aproximadamente 650 gêneros e cerca de 13.100 espécies (GOEVARTS et al. 2006). Dentre os gêneros mais bem representados está o gênero *Psychotria*, com cerca de 2000 espécies, sendo o maior gênero de espécies lenhosas (Davis et al. 2001) e que apresenta diferentes sistemas de reprodução. Entre esses sistemas, podemos destacar a heterostília que é considerada uma condição primitiva na Tribo Psychotrieae, que inclui também o gênero *Palicourea*. De acordo com Hamilton (1990), variações da distília originaram outros sistemas de reprodução presentes na tribo. Espécies de Psychotrieae são muito comuns no sub bosque de florestas tropicais de uma maneira geral (OLIVEIRA & AMARAL 2005, KOZERA et al 2009) e em fisionomias florestais do bioma Cerrado em particular (MENDONÇA et al. 2008). Neste bioma, estes ambientes méxicos de floresta contrastam com a sazonalidade marcada da matriz de savanas. O relativo isolamento destas áreas de floresta, e especialmente do sub bosque, tem sido ampliado pela fragmentação e degradação ambiental resultantes da ocupação humana na região (AQUINO & MIRANDA 2008).

A fim de identificar padrões distílicos e suas variações em fragmentos florestais no bioma Cerrado, o presente estudo tem o objetivo de caracterizar o sistema reprodutivo, as características heterostílicas (hercogamia, dimorfismos acessórios), a fenologia e a polinização em cinco espécies arbustivas de Rubiaceae do sub bosque de formações florestais.

2.4 - Material e métodos

2.4.1 – Área, período de estudo e espécies - o trabalho foi realizado em uma área particular entre os municípios de Itumbiara e Buriti Alegre de Goiás, e abrange cerca de 60 hectares (18°20'59,56"S e 49°4'18,38"W), pertencente a Usina de Açúcar e Alcool Alvorada S/A, tendo como vegetação predominante uma Floresta Estacional Semidecidual, em meio a áreas de cultivo (cana-de-açúcar) e pastagens. A coleta dos dados ocorreu entre os períodos de floração 2008/2009; 2009/2010; 2010/2011 e 2011/2012. O clima da área é do tipo AW (KÖPPEN 1928) com estação seca de maio a setembro e chuvosa de outubro a abril. As espécies avaliadas foram: *Psychotria colorata*; *Psychotria capitata*; *Psychotria hoffmannseggiana*; *Psychotria prunifolia* e *Palicourea croceoides*. Todas as espécies se apresentam de forma pouco dominante na área, com indivíduos ocupando o sub-bosque da vegetação, com uma arquitetura arbustiva/arbórea com no máximo 4 metros de altura.

2.4.2 - Fenologia - para o registro fenológico, foram marcados, aleatoriamente, 16 indivíduos de cada espécie distantes no mínimo 20 metros entre si e bem amostrados na área de estudo, sendo oito indivíduos brevistílicos e oito indivíduos longistílicos de cada espécie. As observações fenológicas foram realizadas mensalmente durante as atividades vegetativas e quinzenalmente quando os indivíduos se encontravam na fase reprodutiva. Foram registradas as seguintes fenofases: brotamento, emissão de botões florais, flores abertas, presença de frutos verdes e presença de frutos maduros. As fenofases foram avaliadas seguindo um padrão de notas de intensidade de acordo com Fournier (1974), onde 0-indica ausência de fenofase; 1- de 1% a 25% da fenofase; 2- de 26% a 50% da fenofase; 3- de 51% a 75% da fenofase e 4- de 76% a 100% da fenofase. Os dados foram coletados individualmente e depois se obteve média das fenofases. Para evitar erros na avaliação, todos os dados foram coletados pelo mesmo observador. Nas observações também foram avaliados o sincronismo entre os indivíduos e possíveis diferenças entre os morfos.

2.4.3 - Biologia floral - 60 botões florais em pré-antese, de cada espécie, foram marcados ao acaso, em 20 indivíduos, sendo três botões por indivíduo, usando linhas e fitas coloridas. Registrou-se o horário de abertura floral (definido pela separação dos lóbulos da corola), tempo de vida da flor-antese (avaliada pelas características de cor e brilho da corola), receptividade estigmática (a partir da separação dos lóbulos estigmáticos) e liberação de grãos de pólen (observação direta das anteras e visualização de pólen). Além dessas observações, foram registrados características de cor e odor das flores. Os métodos foram seguidos de Coelho & Barbosa (2003), Coelho & Barbosa (2004) e Consolaro *et al.* (2009).

2.4.4 - Morfometria floral e razão entre morfos- os caracteres florais, incluindo a distília, foram avaliados em 80 flores (40 flores de cada morfo), em todas as cinco espécies avaliadas, coletadas de

forma aleatória em cerca de 20 indivíduos de cada morfo. As medidas realizadas foram feitas usando-se paquímetro manual com medições em milímetros. Obteve-se medidas do tamanho da corola (da base do ovário até o ápice das pétalas); do comprimento dos estames (da base da corola até a região mais alta das anteras); tamanho das anteras (medida a partir de uma antera por flor); comprimento do pistilo (da base da corola até a parte mais alta do estigma) e tamanho do estigma. Para a avaliação da razão entre morfos realizou-se caminhadas aleatórias e o registro ao acaso de todos os indivíduos floridos, definindo qual a morfologia floral desses indivíduos, classificando-os em longistílico, brevistílico ou homostílico.

2.4.5 - Hercogamia recíproca – As medidas de altura de estilete de um morfo com a altura dos estames de outro morfo (hercogamia recíproca) foram avaliadas usando-se dois métodos: **a)** avaliando o nível de hercogamia em órgãos separadamente, onde R_H (índice de reciprocidade de órgãos recíprocos altos são avaliados a partir de anteras de flores brevistiladas e estigma de flores longistiladas) e R_L (índice de reciprocidade de órgãos recíprocos baixos, avaliados a partir de anteras de flores longistiladas e estigma de flores brevistiladas), a partir da seguinte equação: altura das anteras de um morfo menos a altura do estigma do morfo oposto, dividido pela altura das anteras de um morfo mais a altura do estigma do morfo oposto (RICHARDS & KOPTUR 1993). Os valores de um indivíduo foram calculados com os valores de todos os demais indivíduos amostrados, obtendo-se posteriormente a média do índice. **b)** obteve-se um único valor de R (índice de reciprocidade) *sensu* Sánchez et al. (2013) para a população, não havendo diferença entre os morfos.

2.4.6 - Sistema reprodutivo e incompatibilidade – o sistema reprodutivo foi testado a partir de polinizações manuais realizadas em flores previamente ensacadas para evitar a contaminação com pólen. Foram realizados testes de autopolinização manual, polinização cruzada intramorfo (ilegítima), polinização cruzada intermorfo (legítima) apomixia e polinização natural (controle) para avaliar a eficiência dos polinizadores. Foi calculado o Índice de Auto-Incompatibilidade (ISI), determinado pela razão entre a proporção da produção de frutos por autopolinização e por polinização cruzada legítima (BULLOCK 1985). Também foi realizado o cálculo do Índice de Eficiência Reprodutiva dos polinizadores (IER), dado pela razão entre a produção de frutos do tratamento controle e da polinização cruzada intermorfo (legítima) (RUIZ & ARROYO 1978). Foi observado o crescimento de tubos polínicos em 60 pistilos polinizados manualmente, sendo 20 de polinizações cruzadas legítimas (dez brevistiladas e dez longistiladas), 20 de polinizações cruzadas ilegítimas (dez de cada morfo) e 20 de autopolinizações (dez de cada morfo), sendo estes pistilos de 20 indivíduos, e coletados dez horas após a polinização manual. Toda essa metodologia foi repetida para as cinco espécies avaliadas. Esses pistilos foram submetidos à coloração com azul de anilina (MARTIN 1959) e observados em microscopia de

epifluorescência para verificar o crescimento dos tubos polínicos e identificar possíveis barreiras de incompatibilidade.

2.4.7 - Visitantes florais e avaliação de néctar – foram realizadas observações diretas para definição dos visitantes florais, totalizando 60 horas de observação por espécie, distribuídas ao longo de todo o dia. Como as flores duram cerca de 12 horas, antes de mudar de cor e perder o brilho, não foram realizadas observações noturnas. Cada toque do visitante na flor foi considerado uma visita, sendo possível registrar o número de visitas por intervalo de tempo. Insetos visitantes foram coletados para posterior identificação. Para registro do volume de néctar, foram ensacadas flores brevistiladas e flores longistiladas em pré-antese e, ao final da tarde do dia seguinte (ca. 16h), o néctar era totalmente retirado, com auxílio de capilares de vidro (10µl). A concentração média em equivalentes de sacarose foi medida com o auxílio de refratômetro manual (Atto, WYT- 32ATC) e os dados transformados em miligramas de açúcar disponível por flor (KEARNS & INOUE 1993; DAFNI et al. 2005).

2.4.8 - Análises estatísticas - para verificar diferenças entre os dados da morfometria foi utilizado o teste t de Student. Também foi aplicado o teste Exato de Fisher para comparar a frequência de formação de frutos entre autopolinização manual e polinizações cruzadas, além do teste de Qui-quadrado (frequências iguais) para avaliar a razão entre os morfos nas áreas. O teste não paramétrico Kruskal-Wallis foi utilizado para avaliação das médias de produção de néctar. Para os cálculos de hercogamia recíproca foram utilizadas planilhas disponibilizadas pelos autores dos testes (SÁNCHEZ et al. 2013; RICHARDS e KOPTUR 1993). As análises dos dados foram realizadas utilizando os programas estatísticos Systat 10.2 e Bioestat 5.0 (AYRES et al. 2003).

2.5 - Resultados

2.5.1 - Fenologia - as espécies avaliadas apresentaram um padrão fenológico muito similar, com caducifolia reduzida, mas contínua ao longo do ano. A brotação ocorreu no início da estação úmida, com os primeiros brotos surgindo no início de outubro e se mantendo com intensa brotação até o mês de fevereiro, sendo que durante o restante do ano o brotamento foi baixo. Após o brotamento, iniciou-se o processo de formação das inflorescências, que sofreu pequenas alterações entre as espécies. Uma das espécies iniciou esse processo na segunda quinzena de outubro, com o surgimento dos primeiros botões florais (*Psychotria capitata*), enquanto outras apresentaram essa fase já no mês de novembro (*Psychotria prunifolia*; *Psychotria hoffmannseggiana* e *Palicourea croceoides*) e outra espécie somente em dezembro (*Psychotria colorata*). As primeiras flores abertas surgiram no início de novembro para a maioria das espécies avaliadas, permanecendo até o mês de março, com pico de floração em dezembro e janeiro para

quatro das cinco espécies avaliadas (**Figura 1**). Os frutos verdes já estavam formados em dezembro e se mantiveram até março para quatro das cinco espécies estudadas. A dispersão dos frutos iniciou-se em fevereiro e se manteve até junho, com pico no mês de abril, no início da estação seca para a maioria das espécies avaliadas. Os frutos estavam dispostos para dispersão em média 3 meses após a polinização. A floração das espécies foi intermediária, totalizando de três a cinco meses. O sincronismo entre os indivíduos foi alto, com cerca de 80% dos indivíduos na mesma fenofase dentro das espécies avaliadas, conforme análise dos dados fenológicos. A fenologia reprodutiva das espécies parece estar intimamente relacionada com o regime de chuva da região, apresentando uma única floração anual e diretamente após as primeiras chuvas, entre os meses de outubro e dezembro.

2.5.2 - Biologia floral – Das cinco espécies de Rubiaceae avaliadas três apresentaram características florais muito similares como flores brancas, tetrâmeras ou pentâmeras, dispostas em inflorescências cimosas piramidais pequenas, ou em forma de pequenos capítulos (*Psychotria capitata* (**Figura 2 B**); *Psychotria hoffmannseggiana* (**Figura 2 D**) e *Psychotria prunifolia* (**Figura 2 E**)). As outras duas espécies apresentaram flores coloridas, sendo flores amarelas, com raque e pedicelos muito avermelhados, como foi o caso de *Palicourea croceoides* (**Figura 2 A**) ou ainda flores roxas, dispostas em inflorescências capitadas com grandes brácteas da mesma cor das pétalas, como em *Psychotria colorata* (**Figura 2 C**)). Todas as espécies apresentaram longevidade floral de, aproximadamente, 12 horas. Algumas espécies como *P. prunifolia* e *P. capitata* apresentaram odor adocicado, sendo que o néctar e o pólen foram os principais recursos disponíveis aos visitantes em todas as espécies. Outra característica comum a todas as espécies avaliadas foi a presença de um anel de tricomas na abertura ou na região medial do tubo da corola, o que impede a entrada de pilhadores para roubar néctar, principalmente formigas. A abertura das flores ocorreu entre 05h00 e 07h30 horas para todas as espécies, dependendo da temperatura e umidade, variando entre os dias observados e entre as espécies estudadas. A distília foi bem evidente em quatro das cinco espécies estudadas (**Figura 2**) e o monomorfismo foi encontrado em uma das espécies (*Psychotria prunifolia*). Os estames eram sempre epipétalos e se encontrou uma relação interessante entre o tamanho da corola e o comprimento dos estames em todas as espécies (ver capítulo 3). As flores permaneceram vistosas até por volta das 16:00 horas, perdendo o brilho e murchando após esse horário, característica comum para todas as espécies avaliadas. No dia seguinte já se encontravam sem a corola e estames, restando apenas o pistilo, sendo esse comportamento registrado para quatro das cinco espécies avaliadas. Em *Psychotria colorata* a corola murcha e permanece na inflorescência até o início da formação dos frutos. Logo após a abertura da flor o estigma separa os lóbulos estigmáticos e o pólen já estava disponível, não apresentando dessa forma nenhum tipo de dicogamia, característica essa, observada nas cinco espécies estudadas. O ovário ínfero apresentava dois óvulos que se desenvolveram em sementes em grande parte dos frutos formados em todas as espécies.

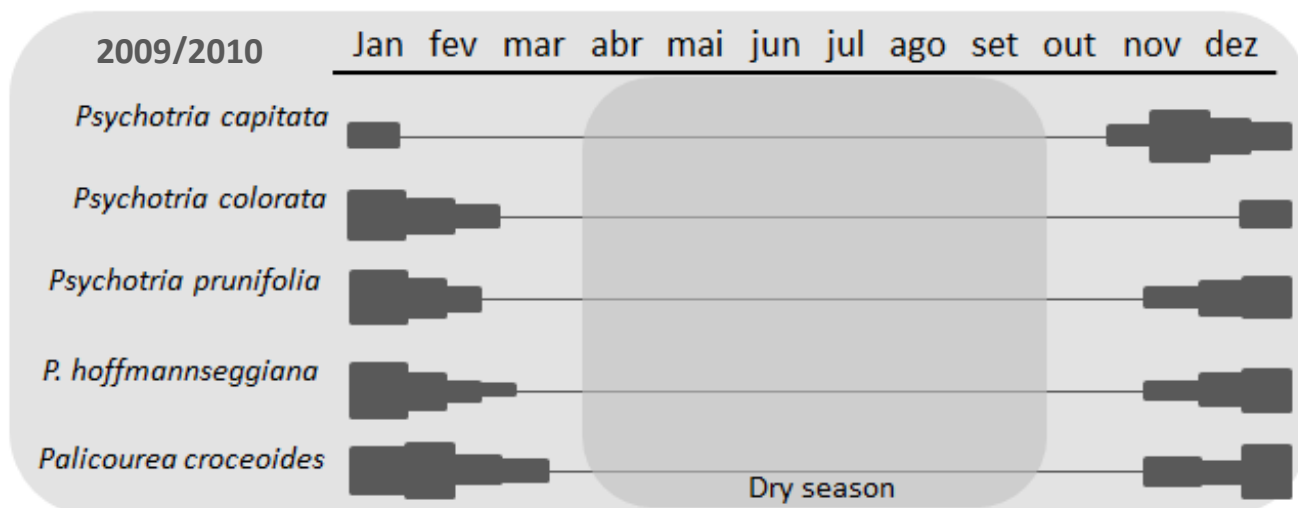


Figura 01 – Fenologia de floração de cinco espécies de Rubiaceae em área de Mata Estacional semidecidual na região Sul do estado de Goiás-Brasil. A largura da linha indica a intensidade da fenofase de acordo com Fournier (1974), com 4 níveis de intensidade – 0-25%; 26-50%; 51-75% e 75-100% de intensidade de floração.

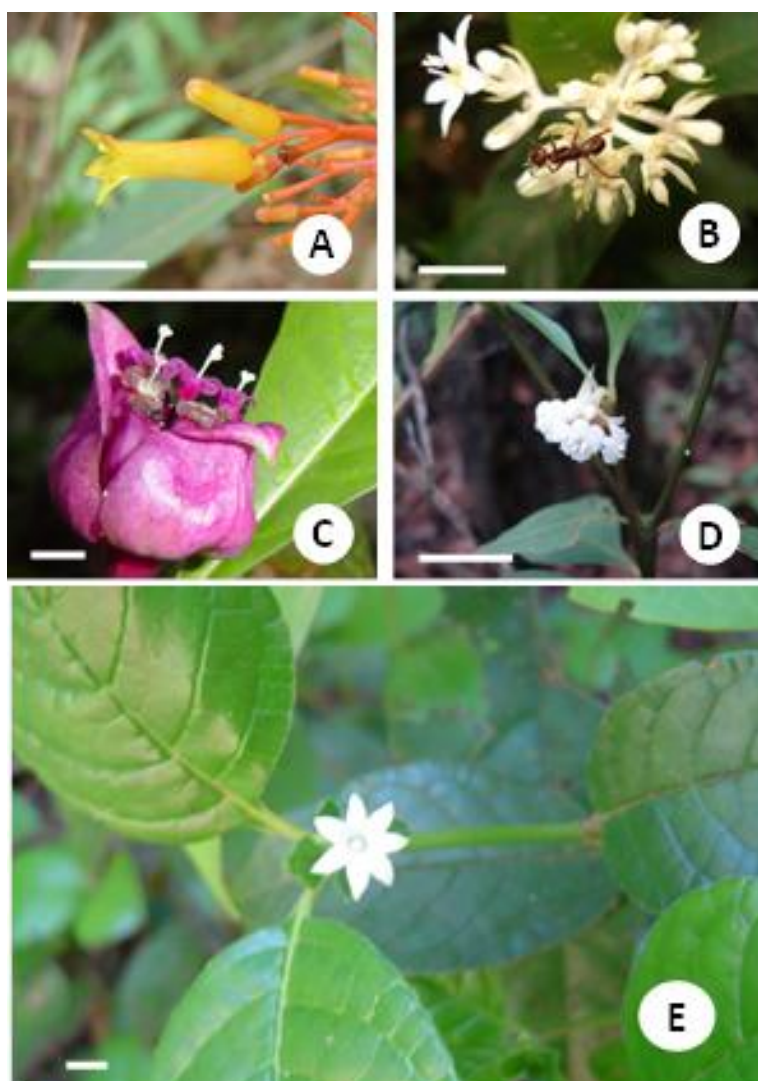


Figura 02 – Detalhe das flores das espécies avaliadas em área de Mata estacional semi decidual na região sul do estado de Goiás-Brasil. **A** – Indivíduo longistílico de *Palicourea croceoides*; **B** – Indivíduo brevistílico de *Psychotria capitata*; **C** – Indivíduo longistílico de *Psychotria colorata*; **D** – Indivíduo brevistílico de *Psychotria hoffmannseggiana*; **E** – Indivíduo longistílico de *Psychotria prunifolia* (população monomórfica). Barras equivalem a 1 cm.

2.5.3 - Morfometria e razão entre morfos – Exceto *Psychotria prunifolia*, todas as demais espécies se mostraram como distílicas típicas, sendo caracterizados dois morfos muito bem distintos, e com separação espacial entre anteras e estigmas em ambos os morfos de forma bem marcante, além de diferença na altura dos estames entre morfos, descartando a possibilidade de dimorfismo estilar (**Figura 02 – Tabela 1**). O tamanho da corola variou de 14,54 mm no morfo brevistílico de *Palicourea croceoides*, a 4,49 mm no morfo longistílico de *Psychotria hoffmannseggiana* (**Tabela 01**). Das espécies distílicas, somente *Psychotria capitata* não apresentou diferença significativa entre os morfos, com relação ao tamanho da corola. A altura do estilete e a altura das anteras apresentaram diferença significativa entre os morfos para todas as espécies, exceto *Psychotria prunifolia* que se apresentou monomórfica.

Essas diferenças nas alturas das peças reprodutivas, entre os morfos, e um certo grau de reciprocidade, caracterizam a distília. As características secundárias também se mostraram diferentes entre os morfos, em todas as espécies distílicas, principalmente com relação ao tamanho do estigma (**Tabela 01**). A razão entre morfos foi avaliada para todas as espécies, e exceto *Psychotria prunifolia*, todas as demais espécies se mostraram isopléticas a partir do teste de X^2 (qui-quadrado) (ver capítulo 1).

2.5.4 - Hercogamia recíproca – As espécies *Palicourea croceoides* e *Psychotria colorata* alcançaram os maiores índices de reciprocidade (Sánchez et al. 2013) entre as peças reprodutivas sendo 0,892 e 0,89 respectivamente (**Tabela 1**). A espécie que apresentou o menor índice de reciprocidade foi *Psychotria hoffmannseggiana* que alcançou 0,723. O índice com valor igual a um demonstraria hercogamia recíproca perfeita, e quanto mais próximo de um, maior a reciprocidade (Sánchez et al. 2013). Nessa análise fica difícil perceber onde a reciprocidade é maior ou menor, ou seja, entre os órgãos altos ou entre os órgãos baixos. Já quando avaliamos a reciprocidade pelo teste de Richards & Koptur (1993), testando a reciprocidade de forma separada, foi encontrado que a hercogamia entre os órgãos altos (estigma de flores longistilas e estames de flores brevistilas) apresentaram uma maior reciprocidade em *P. colorata* e *P. hoffmannseggiana*, já a maior reciprocidade entre os órgãos baixos foi evidenciada nas espécies *P. capitata* e *Palicourea croceoides*. (**Tabela 1**).

2.5.5 - Sistema reprodutivo e incompatibilidade – todas as espécies distílicas avaliadas se mostraram autoincompatíveis, com inibição do tubo polínico no estigma no morfo brevistílico (**Figura 3 A, B, J, O e P**) e com inibição no estigma e no estilete no morfo longistílico (**Figura 3 G e M**). A espécie *Psychotria prunifolia* se mostrou autocompatível (**Figura 3 D, E e F**), apresentando formação de frutos em todos os tipos de polinização manual sem diferença significativa entre eles (**Tabela 2**). Os testes de polinizações manuais formaram frutos em todos os cruzamentos legítimos (intermorfos) nas espécies distílicas, e um número muito reduzido em cruzamentos ilegítimos (intramorfo) e também em autopolinizações, indicando mais uma vez a autoincompatibilidade nas espécies distílicas (**Tabela 2**).

Para todas as espécies distílicas o índice de autoincompatibilidade (ISI) foi inferior a 0,22, tanto para o morfo brevistílico quanto para o morfo longistílico. Estes dados indicam que as espécies distílicas são alógamas obrigatórias (**Tabela 2**), já que de acordo Bullock (1985) o limite para se considerar uma espécie auto incompatível seria 0,25. Diferente das espécies distílicas, *Psychotria prunifolia*, considerada monomórfica neste estudo, apresentou um índice de incompatibilidade de 0,99, muito superior ao limite definido por Bullock (1985), sendo dessa forma considerada autógama. Avaliando o índice de eficiência dos polinizadores (IER), que destaca a eficiência dos polinizadores a partir dos frutos formados naturalmente e por polinização manual, não encontramos valores inferiores a 65%, ou seja, de forma geral os polinizadores conseguem desempenhar o seu papel com eficiência, e em alguns casos, como para *Psychotria hoffmannseggiana*, esse índice ultrapassa 100% (**Tabela 2**).

Tabela 01 – Morfometria floral (média e desvio padrão) e índices de reciprocidade em cinco espécies de Rubiaceae em área de Mata estacional semi decidual na região sul do estado de Goiás-Brasil.

Espécies	Tamanho da corola		Altura do Estilete		Altura da Antera		Tamanho do Estilete		Tam. da antera		Separação stig/Ant		Reciprocidade		
	Pin	Thrum	Pin	Thrum	Pin	Thrum	Pin	Thrum	Pin	Thrum	Pin	Thrum	R	R _H	R _L
<i>Psychotria colorata</i>	12,71 ± 0,84*	14,54 ± 1,67*	16,04 ± 0,73*	11,36 ± 1,13*	12,07 ± 1,0*	16,69 ± 1,59*	1,49 ± 0,28*	2,23 ± 0,44*	2,3 ± 0,2*	2,03 ± 0,3*	3,97 ± 0,94*	5,33 ± 1,54*	0.89	0.020	0.030
<i>P. capitata</i>	8,88 ± 0,94 ^{ns}	8,80 ± 0,98 ^{ns}	12,06 ± 1,08*	8,02 ± 0,90*	7,97 ± 1,12*	12,33 ± 1,01*	1,37 ± 0,51*	2,57 ± 0,61*	1,65 ± 0,51 ^{ns}	1,85 ± 0,55 ^{ns}	4,09 ± 1,17 ^{ns}	4,31 ± 0,96 ^{ns}	0.856	0.011	-0.005
<i>P. prunifolia</i>	11,36 ± 1,29		10,78 ± 1,21**		9,10 ± 1,2**		0,41 ± 0,37		2,30 ± 0,36		1,68 ± 1,06				
<i>P. hoffmansegianna</i>	4,49 ± 0,3*	4,70 ± 0,48*	5,65 ± 0,41*	3,55 ± 0,4*	4,29 ± 0,35*	4,86 ± 0,48*	0,66 ± 0,09*	1,10 ± 0,29*	1,02 ± 0,17 ^{ns}	1,26 ± 0,13 ^{ns}	1,36 ± 0,43 ^{ns}	1,31 ± 0,37 ^{ns}	0.723	-0.076	0.096
<i>Palicourea croceoides</i>	12,73 ± 1,29*	14,46 ± 1,34*	12,71 ± 0,88*	9,66 ± 0,72*	9,49 ± 0,80*	13,94 ± 0,93*	3,64 ± 0,59*	3,92 ± 0,57*	2,18 ± 0,65*	3,14 ± 0,71*	3,22 ± 1,07*	4,29 ± 1,06*	0.892	0.046	-0.009

* Diferença significativa p<0,05 entre os morfos florais. ** Diferença significativa entre as estruturas reprodutivas espécie monomórfica. ^{ns} – diferença não significativa
 Na análise de Sánchez et al. (2013) a reciprocidade é avaliada de forma conjunta: R (índice de reciprocidade). Neste teste quanto maior o valor mais recíproco são os órgãos, sendo o valor de 1 hercogamia recíproca perfeita.
 Nas análises de Richards e Koptur (1993) a reciprocidade é avaliada separadamente: R_H (órgãos recíprocos altos) e R_L (órgãos recíprocos baixos), os valores variam de -1 a 1, sendo 0 hercogamia perfeita e quanto menor o valor maior a reciprocidade. Valores positivos indicam média das anteras é maior que dos estigmas e valores negativos indicam média dos estigmas é maior que das anteras.

Tabela 02 – Avaliação do sistema reprodutivo em cinco espécies de Rubiaceae em área de Mata estacional semidecidual na região sul do estado de Goiás-Brasil.

Espécies		<i>Psychotria capitata</i>				<i>P. colorata</i>				<i>P. hoffmansegianna</i>				<i>P. prunifolia</i>		<i>Palicourea croceoides</i>			
Tratamento	/ % de frutificação	Thrum		Pin		Thrum		Pin		Thrum		Pin		Pin		Thrum		Pin	
		%		%		%		%		%		%		%		%		%	
Auto polinização manual		14.3	aA	14.3	aA	7.4	aA	4.0	aA	7.7	aA	7.6	aA	89.2	a	12.1	aA	3.4	aA
Polinização cruzada Intermorfo - Legítima		66.7	bA	78.4	bA	85.4	bA	78.6	bA	84.0	bA	86.5	bA	89.8	a	92.0	bA	75.0	bA
Polinização cruzada Intramorfo - Ilegítima		16.7	aA	2.0	aB	7.7	aA	9.5	aA	4.4	aA	6.7	aA			17.4	aA	35.3	cA
Apomixia		0.0	cA	0.0	cA	0.0	cA	0.0	cA	0.0	cA	0.0	cA	0.0	b	0.0	dA	0.0	dA
Polinização Natural - Controle		59.0	bA	53.1	dA	77.8	bA	73.0	bA	86.0	bA	84.8	bA	87.5	a	69.6	cA	54.9	bcA
Índice de Auto Incompatibilidade (ISI)		0.21		0.18		0.09		0.05		0.09		0.09		0.99		0.13		0.05	
Índice de Eficiência Reprodutiva dos Polinizadores (IER)		0.89		0.68		0.91		0.93		1.02		0.98		0.97		0.76		0.73	

Letras minúsculas diferentes na mesma coluna indicam diferença significativa entre os tratamentos. P < 0,05 (Exato de Fisher) - Avaliações realizadas para cada espécie separadamente
 Letras maiúsculas diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os morfos. P < 0,05 (Exato de Fisher) - Avaliações realizadas para cada espécie separadamente

2.5.6 - Visitantes florais e avaliação de néctar – A gama de visitantes florais que visitaram as espécies de Rubiaceae estudadas foi alta. As espécies receberam visitas frequentes de abelhas, vespas, mariposas, moscas e beija flores (**Figura 4 e Tabela 3**), além de formigas e coleópteros, estes últimos com comportamento de pilhadores. As abelhas visitaram as flores em busca de néctar (abelhas médias e grandes - **Figura 4 A, D, I e J**) em todas as espécies estudadas: *P. capitata*; *P. hoffmannseggiana*; *P. prunifolia*, *Palicourea croceoides* e *Psychotria colorata*. Nesta última espécie, foram considerados os principais visitantes, abelhas de grande porte como *Eulema nigrata*. Já as abelhas pequenas ficavam coletando pólen na entrada da corola de flores longistilas ou nas anteras de flores brevistilas sem tocar efetivamente a estrutura feminina (**Figura 4 F, L, N e P**). Outras abelhas pequenas foram pilhadoras (*Trigona* sp.). As vespas visitaram de forma legítima *P. capitata*, buscando néctar dentro do tubo floral, mas com frequência bem inferior às abelhas.

As mariposas foram bem frequentes e com visitas legítimas, tocando as estruturas reprodutivas em todas as visitas em quatro das cinco espécies avaliadas, exceto *P. hoffmannseggiana*. (**Figura 4 B, E e H**). As moscas foram registradas somente em *P. capitata* e permaneceram muito tempo em cada indivíduo, visitando todas as flores abertas em busca de néctar (**Figura 4 G**). Porém a frequência das moscas foi menor que das abelhas e do que das mariposas. Os beija-flores foram observados somente em *Palicourea croceoides*, com visitas legítimas e alta frequência, confirmando as características ornitófilas da espécie (**Figura 4 C**). Dessa forma, podemos considerar como polinizadores efetivos das espécies estudadas, as abelhas médias e grandes, os beija-flores, as mariposas e ocasionalmente as vespas e as moscas (**Figura 4**), devido a frequência e comportamento desses visitantes.

A produção de néctar ocorreu durante toda a antese da flor, para todas as espécies estudadas (obs. pessoal), sendo difícil a mensuração desse néctar durante a antese, pois obrigava a destruição da corola devido ao reduzido diâmetro do tubo nas espécies estudadas. Em avaliações feitas no final do período de antese, avaliando néctar acumulado, houve diferença significativa no volume e concentração entre os morfos da espécie *P. capitata* o que não ocorreu para as demais espécies distílicas (**Tabela 4**). Mesmo com maior produção de néctar no morfo longistílico, não houve diferença significativa no número de visitas e comportamento entre os visitantes nessa espécie. A diferença da quantidade de açúcar disponibilizada para os visitantes fica evidente quanto ao tipo de visitante, sendo uma maior

quantidade em flores ornitófilas, de *Palicourea croceoides*, comparada com as demais espécies melitófilas (**Tabela 4**).

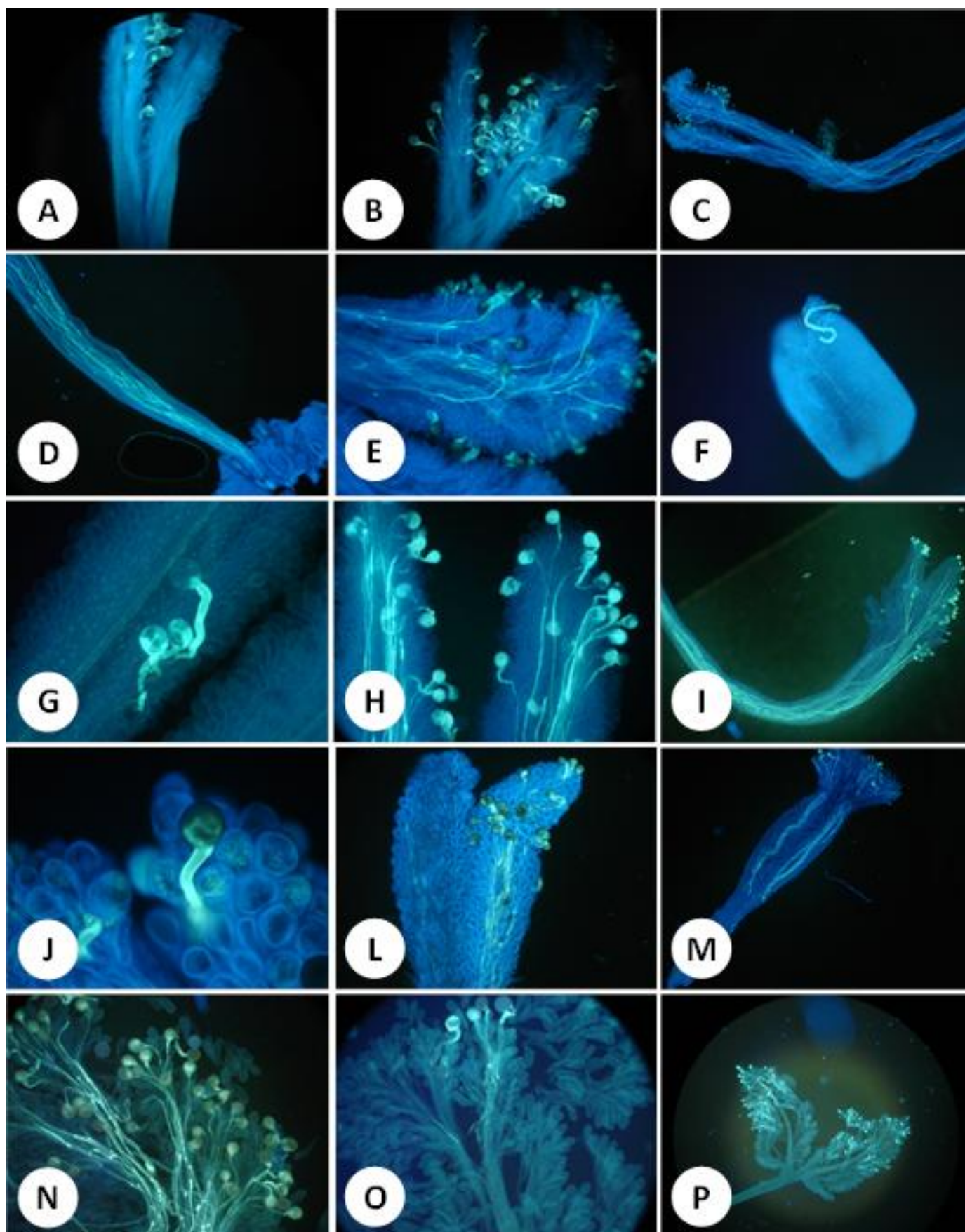


Figura 3 – Avaliação do crescimento de tubos polínicos em pistilos manualmente polinizados de Rubiaceae em área de Mata estacional semi decidual no sul do estado de Goiás. A-C - *Psychotria capitata* (A–Auto polinização no morfo brevistílico – interrupção do tubo polínico no estigma; B–Polinização cruzada intramorfo (Ilegítima), no morfo brevistílico – interrupção do tubo polínico no estigma; C–Polinização cruzada intermorfo (Legítima), no morfo longistílico– nenhuma interrupção dos tubos polínicos. D-F - *Psychotria prunifolia* (D–Polinização cruzada intramorfo (ilegítima) no morfo longistílico; E–Auto Polinização no morfo longistílico – nenhuma interrupção dos tubos polínicos; F– Resquícios de tubo polínico em óvulo fecundado em auto polinização no morfo longistílico. G-I – *Palicourea croceoides* (G–Auto polinização no morfo longistílico – interrupção do tubo polínico no estigma; H–Polinização cruzada intermorfo (legítima), no morfo brevistílico – nenhuma interrupção do tubo polínico; I–Polinização cruzada intermorfo (Legítima), no morfo longistílico– nenhuma interrupção dos tubos polínicos. J-M– *Psychotria hoffmannseggiana* (J–Auto polinização no morfo brevistílico – interrupção do tubo polínico no estigma; L–Polinização cruzada intermorfo (legítima), no morfo brevistílico – nenhuma interrupção do tubo polínico; M–Polinização cruzada intramorfo (Ilegítima), no morfo longistílico–interrupção dos tubos polínicos na porção mediana do estilete. N-P – *Psychotria colorata* (N–Polinização cruzada intermorfo (Legítima), no morfo longistílico - nenhuma interrupção do tubo polínico; O–Auto polinização no morfo brevistílico – interrupção do tubo polínico no estigma; P–Polinização cruzada intramorfo (Ilegítima), no morfo brevistílico– interrupção do tubo polínico no estigma.

Tabela 03 – Relação dos principais visitantes florais em cinco espécies de Rubiaceae no sub bosque em Floresta Estacional Semi decidual na região Sul do estado de Goiás, Brasil.

Ordem	Família	Espécie	CA	CO	PR	HO	PA
Hymenoptera							
	Apidae	<i>Trigona</i> sp.	VR	V	V	V	VR
		<i>Eulaema nigrita</i>	P	P	P		P
		<i>Apis mellifera</i>	P	V	V	P	P
		<i>Epicharis flava</i>	P		P		
		Não identificada	V				
	Euglossinae	<i>Euglossa</i> sp.					V
	Vespidae	sp1	P				
		sp2	P				
Lepidoptera							
	Sphingidae	<i>Aellopos titan</i>	P	P	P		P
	Nymphalidae	<i>Heliconius erato</i>	V				P
	Hesperiidae	<i>Urbanus</i> sp.	P		P		P
		<i>Drephalys oriander</i>	P				
Diptera							
	Tachinidae	sp1	P				
Apodiformes	Trochilidae	<i>Chlorostilbon aureoventris</i>					P
		<i>Eupetomena macroura</i>					P
		<i>Thalurania furcata</i>					P

CA-Psychotria capitata; CO – P. colorata; PR – P. prunifolia; HO – P. hoffmannseggiana; PA – Palicourea croceoides - P – Polinizador Efetivo, V – Visitante Floral; R - Pillhador

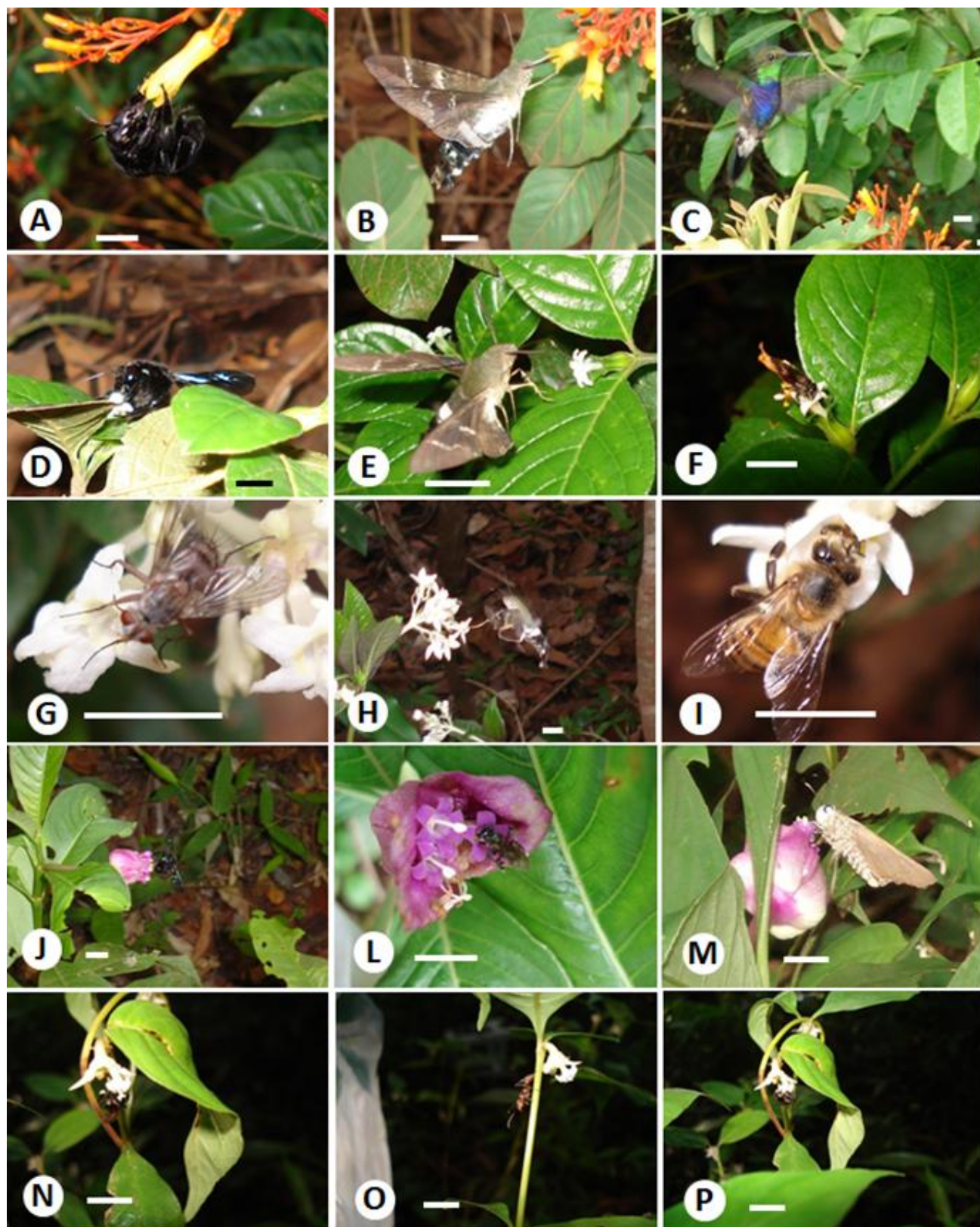


Figura 04 – Gama de visitantes florais em cinco Rubiaceae em área de Mata estacional semi-decidual na região sul do estado de Goiás. **(A-C)** *Palicourea croceoides*; **(D-F)** *Psychotria prunifolia*; **(G-I)** *Psychotria capitata*; **(J-M)** *Psychotria colorata*; **(N-P)** *Psychotria hoffmannseggiana*. **A, D e J** – *Eulaema nigrita* Lepeletier (Hymenoptera, Apidae, Euglossini); **B, E e H** – *Aellopos titan* (Cramer, 1777) Lepdoptera –Sphingidae. **F, L, N e P** – *Trigona* sp. (Hymenoptera, Apidae); **I** – *Apis mellifera* L.(Hymenoptera, Apidae); **C** – *Thalurania furcata* Gmelin (macho) (Trochilidae); **G** – Diptero da família Tachinidae. As barras indicam 1 cm.

Tabela 04 – Avaliação do néctar acumulado por flor em cinco espécies de Rubiaceae no sub bosque em Floresta Estacional semidecidual na região Sul do estado de Goiás.

	Morfos - Volume µl		Morfos - % Sacarose		Morfos - Mg de açúcar	
	Longistilo	Brevistilo	Longistilo	Brevistilo	Longistilo	Brevistilo
<i>Psychotria capitata</i>	1,93 ± 0,68 a	1,31 ± 0,76 b	30,43 ± 4,23 a	28,93 ± 5,24 a	0,72 ± 0,27 a	0,51 ± 0,26 b
<i>Psychotria colorata</i>	1,11 ± 0,44 a	1,12 ± 0,65 a	27,63 ± 7,56 a	31,58 ± 1,29 a	0,80 ± 0,38 a	0,98 ± 0,57 a
<i>Psychotria hoffmannseggiana</i>	0,17 ± 0,09 a	0,16 ± 0,18 a	20,86 ± 9,13 a	18,80 ± 11,59 a	0,14 ± 0,078 a	0,14 ± 0,123 a
<i>Psychotria prunifolia</i>	0,7 ± 0,19		27,50 ± 3,03		0,54 ± 0,14	
<i>Palicourea croceoides</i>	10,35 ± 4,40 a	9,60 ± 4,37 a	20,53 ± 2,33 a	20,05 ± 1,34 a	2,06 ± 0,96 a	2,23 ± 0,81 a

Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa entre os morfos - P<0,05

2.6 - Discussão

Fenologia – A principal característica observada nos padrões fenológicos das estruturas vegetativas das espécies estudadas foi a ausência de uma resposta sazonal para a caducifolia, mas uma resposta sazonal para o brotamento, que ocorre pouco tempo antes das primeiras chuvas, se intensificando após as primeiras precipitações, essa resposta é similar ao encontrado em trabalhos com *Psychotria* no Cerrado (COELHO & BARBOSA, 2003; CONSOLARO 2008; PELISSARO 2012), e também para *Psychotria* em áreas de floresta úmida (MARTÍN-GAJARDO & MORELLATO 2003). Já com relação a fenologia reprodutiva podemos classificar as espécies avaliadas apresentando tipo de floração anual intermediário, de acordo com Newstron et al. (1994) ou ainda do tipo “steady-state” de acordo com Gentry (1974), esses padrões de floração descrevem a produção de poucas flores por dia, durante um tempo relativamente longo (um a cinco meses) no caso das espécies essa variação ocorreu em três meses para as espécies *P. capitata* e *P. colorata*; em quatro meses para as

espécies *P. prunifolia* e *P. hoffmannseggiana* e cinco meses para a espécie *Palicourea croceoides*, sendo similar ao comportamento de dispersão. Esses padrões podem estar associados diretamente ao comportamento dos visitantes e dos dispersores (TEIXEIRA e MACHADO 2004, CONSOLARO 2008), pois aumentam a fidelidade dos visitantes devido a disponibilidade de recursos por um tempo longo. Mas outros fatores podem interferir nesses padrões como pluviosidade e temperatura (MARTIN-GAJARDO & MORELLATO 2003; LOPES & BUZATO 2005). Além disso, são padrões comumente descritos para *Psychotria* no bioma Cerrado (CONSOLARO et al. 2005; OLIVEIRA 2008; CONSOLARO 2008; CONSOLARO et al. 2011; RODRIGUES & CONSOLARO 2013).

Biologia Floral - Avaliando a biologia floral, podemos destacar que de acordo Faegri & Pijl (1980) e Endress (1994) *P. capitata*; *P. prunifolia* e *P. hoffmannseggiana* podem ser consideradas espécies entomófilas, com características comumente associadas à polinização por abelhas pequenas e médias e por vespas. Entre as principais características desse tipo de flor estão: flores actinomorfas, pétalas brancas, corola formando um tubo curto (<10mm) e pouca produção de néctar e pólen, além de antese diurna e odor levemente adocicado. As flores polinizadas por abelhas comumente apresentam uma produção de néctar mais concentrado e em menor volume, além de uma corola que restringe a visitação, o que pode ser totalmente caracterizado para as espécies citadas, visto que a concentração e volume de néctar, mesmo apresentando diferença entre os morfos na espécie *P. capitata* (**Tabela 04**), está na média para a melitofilia de acordo com Opler (1983) e Proctor et al. (1996). Outras características como liberação de pólen e receptividade estigmática logo após a antese, também reflete no comportamento da visitação por abelhas, que forrageiam nas primeiras horas do dia e favorece o fluxo de pólen, característica também vista em outros trabalhos de *Psychotria* (COELHO & BARBOSA 2004; CONSOLARO 2008; PEREIRA et al. 2006; RODRIGUES & CONSOLARO 2013). Ainda avaliando a biologia floral, podemos descrever que a espécie *P. colorata*, mesmo apresentando inflorescências coloridas com brácteas roxas e flores com a mesma coloração, não atraiu beija-flores, sendo visitada, majoritariamente, por abelhas e mariposas. Isso caracteriza um padrão de cor associado a comprimentos de ondas muito curtos, dentro do espectro do ultravioleta, que também atrai abelhas, enquadrando a espécie dentro da síndrome da melitofilia. Já a espécie *Palicourea croceoides* apresenta as características básicas para a ornitofilia, com um contraste de cor entre as flores amarelas e a

raque da inflorescência vermelha, atraindo muitos beija-flores e confirmando as informações de outros trabalhos com *Palicourea* e ornitofilia (COELHO E BARBOSA 2003; CONSOLARO 2008; MACHADO et al. 2010; VALOIS-CUESTA et al. 2012).

Morfometria e razão entre morfos - Os dados morfométricos demonstram que quatro das cinco espécies avaliadas, exceto *P. prunifolia* apresentam os polimorfismos básicos de espécies distílicas típicas, como dois morfos com diferença significativa na altura de estames e pistilos entre os morfos, além de variação no tamanho da superfície estigmática, e no tamanho da corola. Esses polimorfismos são presentes, mas bem variados entre as espécies de *Psychotria* como demonstram os trabalhos de Bawa e Beach (1983); Faivre e MacDade (2001); Castro e Araújo (2004); Coelho e Barbosa (2004); Pereira et al. (2006); Sakai e Wright (2008); Oliveira (2008); com destaque para o trabalho de Consolaro (2008) que encontrou corolas maiores no morfo longistílico em *P. capitata*, característica rara para espécies distílicas e diferentes para este trabalho, já que esta espécie não apresentou diferença significativa entre os morfos. A caracterização de algumas das espécies como distílicas e de *P. prunifolia* como monomórfica já havia sido confirmada por Consolaro (2008) e também por Sakai & Wright (2008), sendo que este último identificou a espécie *P. hoffmannseggiana* como sendo monomórfica. De todas as espécies avaliadas quanto a razão entre morfos, todas apresentaram isopleia, exceto a população monomórfica de *P. prunifolia*. Estes dados destacam um equilíbrio dentro das espécies com relação a estabilidade do sistema distílico. Em trabalho discutindo esse assunto, Stehlik et al. (2006) encontraram uma relação direta entre a densidade e a identidade do morfo circunvizinho, ao sucesso reprodutivo de determinado morfo, ou seja, quanto maior a densidade e a frequência de morfos opostos próximos a um indivíduo, maior será o fitness reprodutivo deste indivíduo, o que podemos observar nas espécies distílicas, pois com densidades dos morfos iguais, nenhum deles irá se sobressair, confirmando a isopleia.

Dessa forma a distribuição e a razão entre os morfos florais em uma população são essenciais na manutenção da fecundidade da espécie, o que pode ser descrito para as espécies de Rubiaceae estudadas na área, visto que os indivíduos se distribuem de forma aleatória e formam frutos em proporções similares (**Tabela 2**). O desequilíbrio entre os morfos em uma população distílica pode trazer problemas relacionados à questão genética e a questão

demográfica, principalmente quando afeta o fluxo de pólen, aumentando o risco de extinção de pequenas populações (WASHITANI, 1996; SHIBAYAMA & KADORO 2003; JACQUEMYN et al. 2003; KÉRY et al. 2003; PEREIRA et al. 2006), o que parece não estar acontecendo nas populações estudadas, exceto em *P. prunifolia* que apresenta autocompatibilidade e somente a presença de um dos morfos florais, informação já destacada em outros trabalhos (CONSOLARO 2008; OLIVEIRA 2008).

Hercogamia recíproca - Com relação a hercogamia recíproca, existe muita discussão sobre a real importância da reciprocidade para o fluxo simétrico de pólen, sendo um dos temas mais estudados em heterostilia nos últimos anos (SÁNCHEZ et al. 2008; FERREIRO et al. 2001 a e b; KELLER et al. 2012). Alguns autores acreditam que a ausência de uma reciprocidade perfeita entre as peças reprodutivas, não inviabiliza o fluxo simétrico de pólen (FAIVRE & MCDADE 2001; CASTRO & ARAÚJO 2004; TEIXEIRA & MACHADO 2004; CONSOLARO 2008 e SAMPSON & KREBS 2012) enquanto outros demonstram que variações nos graus de hercogamia alteram a deposição de pólen entre os morfos, sendo que quanto menor a distância entre as peças reprodutivas recíprocas, maior a deposição de pólen legítimo (GUZMÁN et al. 2012; BAENA-DÍAZ et al. 2012; THOMPSON et al. 2012; BRAMOW et al. 2012). Nenhuma das espécies avaliadas demonstrou uma hercogamia recíproca perfeita, e nem por isso demonstraram uma baixa formação de frutos, o que pode indicar uma eficiência no transporte e deposição de pólen realizado pelos visitantes, também caracterizado pelos altos valores de IER encontrado para algumas das espécies avaliadas (**Tabela 2**). Isto também confirma que a ausência da reciprocidade perfeita, pode não afetar de forma significativa o sucesso reprodutivo das espécies.

O grau de hercogamia encontrado nas espécies estudadas sofre uma variação grande, sendo mais recíproco nas estruturas baixas em algumas espécies e mais recíproco nas estruturas altas em outras, demonstrando a grande variação nessas características, o que também já foi citado para outros gêneros (KELLER et al. 2012). Um exemplo interessante demonstrado no presente estudo foi que as variações nos níveis de hercogamia observados entre os morfos de *P. capitata* não afetaram a formação de frutos em polinizações naturais. Isto pode ter uma relação direta com a grande gama de visitantes que a espécie recebe, tanto de língua longa, quanto de língua curta, o que pode favorecer um fluxo simétrico mesmo não

sendo perfeita a reciprocidade. Hamilton (1990) já destacava que em *Psychotria* a hercogamia recíproca perfeita pode não ser encontrada, mas a funcionalidade dessa hercogamia se mantém.

Os índices de reciprocidade destacam que valores acima de 0,95 (para SÁNCHEZ et al. 2013) e entre 0,05 e -0,05 (para RICHARDS & KOPTUR 1993), definem uma espécie como sendo distílica, enquanto valores de um e zero demonstram hercogamia recíproca perfeita nos referidos índices, respectivamente. As populações de três, das cinco espécies de Rubiaceae estudadas, podem ser avaliadas como distílicas usando o índice de Richards & Koptur (1993), mas não pode ser considerada distílica a partir do índice de Sánchez et al. (2013) (**Tabela 1**). Essas variações ocorrem devido a forma de análise dos dados, sendo que outras características devem ser usadas para se caracterizar a distília, como populações isopléticas e auto e intramorfo incompatibilidade, como o encontrado nas populações distílicas avaliadas, sendo dessa forma, o conjunto de caracteres da população, o que realmente vai definir a característica da distília (SAMPSON & KREBS 2012; CONSOLARO 2008).

Sistema reprodutivo e incompatibilidade – Os experimentos de polinização manual indicam que todas as espécies distílicas típicas avaliadas são preferencialmente xenógamas, apresentando sistema de auto e intramorfo incompatibilidade, observados através da formação de frutos e também pelo crescimento de tubos polínicos em pistilos polinizados manualmente. Resultados semelhantes, como baixa formação de frutos em autopolinização e polinização cruzada ilegítima, como encontrados para algumas das espécies estudadas, foram encontrados para outras espécies de Rubiaceae (SOBREVILA et al. 1983; LIMA 1986; BARRETT & SHORE 1987; PASSOS & SAZIMA 1995; SILVA 1995; GRANDISIOLI 1997). Estes autores sugerem que o sistema de incompatibilidade nestas espécies não é muito rigoroso, o que pode estar ocorrendo com as populações das espécies avaliadas, devido a pressões diversas, podendo futuramente ocorrer a quebra da distília e a formação de populações com desvios da distília, como encontrado em diversas espécies de *Psychotria* (CONSOLARO 2008; OLIVEIRA 2008; CONSOLARO et al 2011; RODRIGUES & CONSOLARO 2013), e também para *Psychotria prunifolia* neste estudo, espécie monomórfica e autocompatível.

Variações de níveis de incompatibilidade entre os morfos também são comuns. Wedderburn & Richards (1990) encontraram uma taxa de autocompatibilidade em *Primula veris* de 14,5% em flores longistílicas e de 0,6% em flores brevistílicas, demonstrando as variações dentro de sistemas de incompatibilidade. O trabalho de Sobrevila et al. (1983) destaca que existe uma relação entre o nível de incompatibilidade e a razão entre morfos, isto porque foi encontrada população monomórfica compatível e outras populações isopléticas com auto incompatibilidade na espécie estudada. Resultado similar, também dentro da família Rubiaceae, pode ser encontrado no trabalho de Toledo et al. (2007) e Consolaro et al. (2011).

A transferência de pólen de anteras de longos filetes para estigmas de longos estiletes é favorecida devido à facilidade no contato por uma gama muito grande de visitantes, enquanto o contrário é dificultado muitas vezes pela morfologia floral (PAILLER & THOMPSON 1997). Desta maneira, flores longistilas podem ter sua fecundidade aumentada. Porém este fato não foi observado em nenhuma das espécies distílicas estudadas, visto que a formação de frutos por polinização natural foi maior no morfo brevistílico nas quatro espécies distílicas, isso pode indicar fluxo simétrico de pólen, demonstrando eficiência dos visitantes florais. Dados similares já foram descritas para outras espécies (CONSOLARO 2008; OLIVEIRA 2008; VALOIS-CUESTA et al. 2011).

O trabalho de Pailler & Thompson (1997), citam vários trabalhos que apresentam variações nas respostas de incompatibilidade, tanto em espécies distílicas quanto em espécies tristílicas. Os trabalhos de Barrett, (1985) e Eckert & Barrett, (1994) descrevem auto e intra morfo compatibilidade em espécies tristílicas, enquanto o trabalho de Ornduff (1976) descrevem essas mesmas características em espécies distílicas. Outra variação é citada, por exemplo, nos trabalhos de Dulberger, (1970) com a espécie distílica *Anchusa hybrida* e o trabalho de Philipp & Schou, (1981) com *A. officinalis* também distílica, além do trabalho de Barrett, et al. (1997) com *Narcissus triandrus* (tristílica) todas apresentando intramorfo compatibilidade e auto incompatibilidade. Essa mesma característica vem sendo descrita em outras espécies como *Narcissus assoanus*, uma espécie com dimorfismo estilar (THOMPSON et al. 2012). Outros trabalhos encontraram variações no grau de compatibilidade entre os morfos de espécies heterostílicas, como nas espécies distílicas *Erythroxylum coca* (GANDERS, 1979b), *Piriqueta caroliana* (ORNDUFF & PERRY, 1964), *Gelsemium* spp. (ORNDUFF, 1970) e *Hedyotis salzmanii* (RIVEROS et al. 1995). Por fim, alguns autores citam outra variação que ocorre a partir de diferenças no nível de compatibilidade intramorfo

dentro de grupos distílicos como, por exemplo, na espécie *Villarsia parnassiifolia* (Menyanthaceae) que forma frutos a partir de polinizações intramorfo somente nas flores brevistílicas (ORNDUFF, 1988), também encontrado por Paillet & Thompson (1997) trabalhando com *Guetarda vaginata*, sendo o primeiro registro de variação na compatibilidade intramorfo na família Rubiaceae.

Quando são avaliados os locais de incompatibilidade em flores distílicas, mesmo apresentando um sistema de incompatibilidade esporofítico, essa incompatibilidade pode ocorrer em diversos locais. Essa interrupção do tubo polínico pode acontecer no estigma, estilete, ou ainda no ovário (ANDERSON & BARRETT 1986; BARRETT 1988; GIBBS 1986) e apresenta grande variação entre as espécies (FAIVRE & MACDADE 2001), no caso das espécies em estudo, todas elas seguiram um padrão, onde nos indivíduos brevistílicos a interrupção do tubo polínico ocorreu no estigma tanto em autopolinizações quanto em polinizações cruzadas intra morfo. E quando esses tratamentos foram realizados no morfo longistílico a interrupção ocorreu em menor frequência no estigma e maior frequência na porção mediana do estilete. Quando o sistema é esporofítico homomórfico, tem como característica particular a interrupção do crescimento do tubo polínico se efetivar ainda no estigma, e era o que se esperaria em espécies distílicas, visto que o sistema heteromórfico também tem um controle esporofítico.

Diversos trabalhos com Rubiaceae, vem apresentando resultados similares, com os mesmo locais de interrupção do tubo polínico encontrados no presente trabalho (COELHO E BARBOSA 2004; OLIVEIRA 2008).

Visitantes florais e avaliação de néctar – As abelhas, como em diversos outros trabalhos com *Psychotria*, são os principais visitantes em todas as *Psychotria* estudadas. Isto pode ser explicado pela constituição floral das espécies e também pela floração sequencial observado entre elas. Três das quatro espécies apresentam corola branca, floração simultânea e volume e concentração de néctar muito similar a de plantas melitófilas (PROCTOR et al. 1996). Trabalhos como o de Bawa & Beach (1983); Pérez-Nassen et al. (1993); Grandisioli (1997); Teixeira & Machado (2004); Castro et al. (2004); Sakai & Wright (2007); Virillo et al. (2007); Consolaro 2008; Rodrigues & Consolaro (2013) são alguns que já registraram abelhas

como principais visitantes em Rubiaceae, demonstrando sua eficiência enquanto polinizadoras desse gênero.

Já para a espécie de *Palicourea* avaliada, a caracterização de ornitofilia, já citada por Taylor (1997) foi confirmada com o registro de três espécies de beija-flores visitando as flores, todos com comportamentos legítimos. Diversos outros trabalhos já demonstraram a importância dos beija-flores na polinização do gênero *Palicourea* (SOBREVILA et al. 1983; COELHO E BARBOSA 2003; CONSOLARO et al. 2009; MACHADO et al. 2010; VALOIS-CUESTA et al. 2011 e 2012).

Além de beija-flores, foram registrados abelhas, vespas, lepidópteros (mariposas e borboletas) e dípteros, demonstrando que as espécies estudadas não apresentam um mecanismo eficiente de restrição às visitas, devido ao curto tubo floral (até 15 mm), o que pode causar um grande desperdício de pólen, pois muitos visitantes são infrequentes e não fiéis, visitando outras espécies, simultaneamente, como o caso de *Aellopos titan* Cramer – Lepidoptera – Sphingidae, um dos principais visitantes em *P. capitata*; *P. colorata*; *P. prunifolia* e *Palicourea croceoides*. A descrição de *Psychotria* polinizadas por vespas já foi encontrado nos trabalhos de Faivre & McDade (2001); Sakai & Wright (2007); por moscas (OLIVEIRA 2008 e RODRIGUES & CONSOLARO 2013); e por mariposas (BAWA & BEACH 1983; FAIVRE & MCDADE 2001), demonstrando o quanto é diverso os visitantes florais do gênero e a importância de *Psychotria* como fonte de recursos no sub-bosque de ambientes florestais.

Diferenças na produção de néctar entre os morfos, como o encontrado para *Psychotria capitata*, foi parcialmente semelhante ao trabalho de Castro e Oliveira (2002) que observaram diferença entre os morfos com relação à concentração de açúcares, sendo maior no morfo brevistílico, mas sem nenhuma diferença no volume nas espécies *Psychotria mapourioides* e *P. pubigera*. Outros trabalhos com *Psychotria* destacam que a produção de néctar não apresentou diferença entre os morfos (TEIXEIRA & MACHADO 2004; CASTRO & ARAUJO 2004; COELHO & BARBOSA 2004 e FONSECA et al. 2008), resultado similar encontrado para as outras espécies distílicas estudadas nesse trabalho. Diferenças na produção e qualidade do néctar já foram descritos em diversos trabalhos e estão relacionados a manutenção de um determinado comportamento do visitante (TEIXEIRA e MACHADO 2004), favorecendo a movimentação dos animais entre indivíduos e entre áreas, ampliando as

chances de xenogamia. Mas isso também pode gerar problemas visto que uma recompensa maior em um dos morfos pode gerar frequências e comportamentos distintos dos visitantes florais. A análise de néctar nas cinco espécies avaliadas demonstra claramente a maior recompensa oferecida aos beija-flores pela espécie *Palicourea croceoides*, visto que estes animais apresentam um gasto energético superior ao das abelhas e necessitam de uma recompensa maior enquanto as demais espécies não ultrapassaram 1mg de açúcar por flor, característica de espécies melitófilas (OPLER 1983; PROCTOR et al. 1996).

2.7 - Conclusão

Os dados obtidos com as espécies demonstram um padrão característico presente na família Rubiaceae e destaca que o comportamento dos visitantes, influenciado pelo padrão de floração, padrão de secreção de néctar, além de características florais, pode afetar diretamente o fluxo de pólen e direta e indiretamente afetar o sistema reprodutivo, podendo surgir, em alguns casos, formas atípicas de distília. Nesse caso o padrão pode ser descrito como distílico e autoincompatível; ou monomórfico, homostílico e autocompatível. O estudo, em detalhes, de todo o sistema reprodutivo, de espécies isoladas em fragmentos, é essencial no entendimento desses padrões e até na busca de explicações para populações atípicas. A partir disso, podemos destacar a grande necessidade desse tipo de avaliação em outros fragmentos, com pressões e interferências distintas para que comparações sejam feitas e facilite a discussão e a conclusão dessas variações.

2.8 - Referências bibliográficas

- AGREN, J., 1996. Population size, pollinator limitation, and seed set in the self-incompatible herb *Lythrum salicaria*. *Ecology* 77, 1779–1790
- ANDERSON, J.M. & BARRETT, S.C.H. 1986. Pollen tube growth in tristylous *Pontederia cordata* (Pontederiaceae). *Canadian Journal of Botany* 64: 2602–2607.
- APG III (2009) An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161: 105–121

- AQUINO, F.G & MIRANDA, G.H.B 2008. Consequências Ambientais da fragmentação de habitats no Cerrado. Pp. 385-398. In: S. M. Sano, S. P. Almeida & J. F. Ribeiro (eds). Cerrado: ecologia e flora. Planaltina, EMBRAPA-CPAC.
- ARROYO, J., BARRETT, S. C. H., HIDALGO, R., & WILLIAM W. COLE. 2002. Evolutionary maintenance of stigma - height dimorphism in *Narcissus papyraceus* (amaryllidaceae). American journal of botany, 89(8), 1242–1249.
- AYRES, M.; AYRES JR., M.; AYRES, D.L. & SANTOS, A.S. 2003. BioEstat 3.0. Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Sociedade Civil Mamirauá /MCT-CNPq /Conservation International.
- BAENA-DIÁZ, J. FORNONI, P. SOSENSK, F. E. MOLINA-FREANER, S.G.WELLER, R. P.--I. & C. A. D. 2012. Changes in reciprocal herkogamy during the tristily–distily transition in *Oxalis alpina* increase efficiency in pollen transfer. Journal of evolutionary biology, 25, 574–583.
- BAKER H.G. (1964) Variation in style length in relation to out- breeding in *Mirabilis* (Nyctaginaceae). Evolution, 18, 507–512.
- BAKER AM, THOMPSON JD, BARRETT SCH. 2000. Evolution and maintenance of stigma-height dimorphism in *Narcissus*. II. Fitness comparisons between style morphs. Heredity 84: 514–524.
- BARRETT S. C. H. & SHORE J. S. 2008. New insights on heterostyly: comparative biology, ecology and genetics. In: Franklin-Tong V. E. (ed.). Self-Incompatibility in Flowering Plants: Evolution, Diversity, and Mechanisms. Springer-Verlag, Berlin, pp. 3–32.
- BARRETT, S. C. H. 2002. The evolution of plant sexual diversity. Nature reviews. Genetics, 3(4), 274–84.
- BARRETT, S.C.H. 2000. Advanced Plant Sex. Review of Gender & Sexual Dimorphism in Flowering Plants by M.A. Geber, T.E. Dawson & L.F. Delph. Trends in Ecology & Evolution 15: 78–79
- 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., COLE, W.W., ARROYO, J., CRUZAN, M.B., & LLOYD, D.G. 1997. Sexual polymorphisms in *Narcissus triandrus*: is this species tristylous? *Heredity* 78: 135–145.
- BARRETT, S.C.H. 1992. Heterostylous genetic polymorphisms: model systems for evolutionary analysis. In: Barrett, S. C. H. (ed.). *Evolution and function of heterostyly. Monographs on theoretical and applied genetics*. Springer-Verlag. Berlin. p. 1-24.
- 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. & SHORE, J. S. 1987. Variation and evolution of breeding systems in *Turnera ulmifolia* L. complex (Turneraceae). *Evolution* 41: 340-354.
- BARRETT, S.C.H. 1988. The evolution, maintenance and loss of self-incompatibility systems. In: *Reproductive Strategies of Plants: Patterns & Strategies* (Eds. J. & L. Lovett Doust), pp. 98–124. Oxford University Press, New York.
- BARRETT, S.C.H. 1985. Floral trimorphism and monomorphism in continental and island populations of *Eichhornia paniculata* (Spreng.) Solms. (Pontederiaceae). *Biological Journal of the Linnean Society* 25: 41–60.
- BAWA, K. S., & BEACH, J. H. 1983. Self-Incompatibility Systems in the Rubiaceae of a Tropical Lowland Wet Forest. *American journal of botany*, 70(9), 1281–1288.
- BRAMOW, C., HARTVIG, I., LARSEN, S. B., & PHILIPP, M. 2012. How a heterostylous plant species responds to life on remote islands: a comparative study of the morphology and reproductive biology of *Waltheria ovata* on the coasts of Ecuador and the Galápagos Islands. *Evolutionary Ecology*. 1-18.
- BULLOCK, S. H. 1985. Breeding Systems in the Flora of a Tropical Deciduous Forest in Mexico. *Biotropica*, 17(4), 287–301.
- CASTRO C. C. & ARAÚJO A. C. 2004. Distyly and sequential pollinators of *Psychotria nuda* (Rubiaceae) in the Atlantic rain forest, Brazil. *Plant Systematics and Evolution* 244: 131–139.

- CASTRO, C. C., OLIVEIRA, P. E. A M., & ALVES, M. C. 2004. Breeding system and floral morphometry of distylous *Psychotria* L. species in the Atlantic rain forest, SE Brazil. *Plant biology* (Stuttgart, Germany), 6(6), 755–60.
- CESARO, A. C., & THOMPSON, J. D. 2004. Darwin's cross-promotion hypothesis and the evolution of stylar polymorphism. *Ecology Letters*, 7(12), 1209–1215.
- CHEN, M.L., YOU, Y.L., ZHANG, X.P., 2010. Advances in the research of heterostyly. *Acta Pratacult. Sin.* 19, 226–239.
- CHEN, M.-L., & ZHANG, X.-P. 2010. Distyly in *Polygonum jucundum* Meisn. (Polygonaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 288(3-4), 139–148.
- 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., 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 *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae). *Plant Species Biology* 26: 24–320.
- DAFNI, A.; KEVAN, P.G. & HUSBAND, B.C. 2005. *Practical Pollination Biology*. Ontario, Canada.

- DAVIS, A.P.; BRIDSON, D.; JARVIS, C. & GOVAERTS, R. 2001. The typification and characterization of genus *Psychotria* L. (Rubiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 135: 35-42.
- DELPRETE, P.G. 2004. Rubiaceae. Pp. 328-333. In: N. Smith; S.A. Mori; A. Henderson; D. Wm. Stevenson & S.V. Heald. *Flowering plants of the neotropics*. Princeton and Oxford, New Jersey, The New York Botanical Garden. Princeton University Press.
- DULBERGER, R. 1970. Tristyly in *Lythrum junceum*. *New Phytol.* 69:751–759.
- ECKERT, C.G. & BARRETT, S.C.H. 1994. Tristyly, self-compatibility and floral variation in *Decodon verticillatus* (Lythraceae). *Biological Journal of the Linnean Society* 53: 1–30.
- ENDRESS, P.K. 1994. *Diversity and evolutionary biology of tropical flowers*. Cambridge: Cambridge University Press.
- FAEGRI, K. & VAN DER PIJL, L. 1980. *The principles of pollination ecology*. Pergamon Press, Oxford.
- FAIVRE, A.M. & 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.
- FERRERO, V., ARROYO, J., CASTRO, S., & NAVARRO, L. 2011a. Unusual heterostyly: style dimorphism and self-incompatibility are not tightly associated in *Lithodora* and *Glandora* (Boraginaceae). *Annals of botany*, 109(3), 655–665.
- FERRERO, V., CHAPELA, I., ARROYO, J., & NAVARRO, L. 2011b. Reciprocal style polymorphisms are not easily categorised: the case of heterostyly in *Lithodora* and *Glandora* (Boraginaceae). *Plant biology (Stuttgart, Germany)*, 13 Suppl 1, 7–18.
- FONSECA, L. C. N., ALMEIDA, E. M. DE, & 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(1), 63–69.

- FOURNIER, L.A. 1974. Un método cuantitativo para la medición de características fenológicas en árboles. *Turrialba* 24: 422-423.
- GANDERS, F.R. 1979A. The biology of heterostyly. *New Zealand Journal of Botany* 17: 607-635.
- GANDERS, F. R. 1979b. Heterostyly in *Erythroxylum coca* (Erythroxylaceae). *Bot. Jour. Linn. Soc.* 78:11-20.
- GENTRY, H.A. 1974. Flowering phenology and diversity in tropical Bignoniaceae. *Biotropica* 6:64-68.
- GIBBS, P.E. 1986. Do homomorphic and heteromorphic selfincompatibility systems have the same sporophytic mechanism? *Plant Systematics and Evolution* 154: 285-323.
- GOLDBLATT P. & BERNHARDT P. 1990. Pollination biology of *Nivenia* (Iridaceae) and the presence of heterostylous self-compatibility. *Israel J. Bot.* 39:93-111.
- GRANDISIOLI, 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.
- GUZMÁN, I. M.; LARA, C.; CASTILLO-GUEVARA, C. 2012. Transporte diferencial de polen por colibríes en una planta diestílica : no es lo mismo picos cortos que largos . *Huitzil*, 13(1), 74–82.
- HAMILTON, C.W. 1990. Variations on a distylous theme in Mesoamerican *Psychotria* subgenus *Psychotria* (Rubiaceae). *Memoirs of the New York Botanical Garden* 55: 65-75.
- JACQUEMYN, H., VAN ROSSUM, F., BRYN, R., ENDELS, P., HERMY, M., TRIEST, L., DE BLUST, G., 2003. Effects of agricultural land use and fragmentation on genetics, demography and population persistence of the rare *Primula vulgaris*, and implications for conservation. *Belgian Journal of Botany* 136, 2–22.
- JANZEN DH. 1974. Tropical blackwater rivers, animals and mast flowering by the Dipterocarpaceae. *Biotropica* 6:69–103.

- JENNERSTEIN, O. 1988. Pollination in *Dianthus deltoids* (Caryophyllaceae): effects of habitat fragmentation on visitation and seed set. - *Conservation Biology* 4: 359-366
- KEARNS C. A.; INOUE, D. W. 1993. Techniques for pollination biologists. University Press of Colorado, Colorado, USA, 583pp.
- KELLER, B., DE VOS, J. M., & CONTI, E. 2012. Decrease of sexual organ reciprocity between heterostylous primrose species, with possible functional and evolutionary implications. *Annals of botany*, 1–12.
- KÉRY, M., D. MATTHIES, & B. SCHMID. 2003. Demographic stochasticity in population fragments of the declining distylous perennial *Primula veris* (Primulaceae). *Basic and Applied Ecology* 5: 197–206
- KÉRY M, MATTHIES D, SPILLMAN H-H. 2000. Reduced fecundity and offspring performance in small populations of the declining grassland plants *Primula veris* and *Gentiana lutea*. *Journal of Ecology* 88: 17–30.
- KÖPPEN, W.; Geiger, R. 1928. *Klimate der Erde*. Gotha: Verlag Justus Perthes. Wall-map 150cmx200cm.
- 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.
- KULBABA, M.W. & WORLEY, A.C. 2008. Floral design in *Polemonium brandegei* (Polemoniaceae): genetic and phenotypic variation under hawkmoth and hummingbird pollination. *International Journal of Plant Sciences* 169: 509-522.
- LIMA, H.A. 1986. Contribuição ao estudo da biologia floral, da fenologia e do sistema de reprodução de *Psychotria leiocarpa* Cam. et Schl. (Rubiaceae). Dissertação de Mestrado. Rio de Janeiro, Universidade Federal do Rio de Janeiro.
- LLOYD D. G. & WEBB C. J. 1992a The evolution of heterostyly. In: Barrett S. C. H. (ed.). *Evolution and Function of Heterostyly*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 151–178.

- LLOYD D. G. & WEBB C. J. 1992b The selection of heterostyly. In: Barrett S. C. H. (ed.). Evolution and Function of Heterostyly. Springer-Verlag, Berlin, pp. 179–207.
- LLOYD, D.G. & WEBB, C.J. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms. New Zealand Journal of Botany 24: 135-162.
- LOPES, L. E., & BUZATO, S. 2005. Biologia reprodutiva de *Psychotria suterella* Muell. Arg. (Rubiaceae) e a abordagem de escalas ecológicas para a fenologia de floração e frutificação. Revista Brasileira de Biociências, 28(4), 785–795.
- MACHADO, I. C., LOPES, A. V, & SAZIMA, M. 2010. Contrasting bee pollination in two co-occurring distylic species of *Cordia* (Cordiaceae, Boraginales) in the Brazilian semi-arid Caatinga: generalist in *C. globosa* vs. specialist in *C. leucocephala*. Anais da Academia Brasileira de Ciências, 82(4), 881–91.
- MARTIN-GAJARDO, I.S. & MORELLATO, P.C. 2003. Fenologia de Rubiaceae do subbosque em floresta Atlântica no sudeste do Brasil. Revista Brasileira de Botânica 26: 299-309.
- MARTIN, F. N. 1959. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. Stain technol. 34: 125-128.
- MATSUMURA, C., & WASHITANI, I. 2000. Effects of population size and pollinator limitation on seed-set of *Primula sieboldii* populations in a fragmented landscape. Ecological Research, 15(3), 307–322.
- MARUYAMA, P. K., AMORIM, F. W., & OLIVEIRA, P. E. 2010. Night and day service: Distyly and mixed pollination system in *Faramea cyanea* (Rubiaceae). Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants, 205(12), 818–824.
- MENDONÇA, R. C.; FELFILI, J. M.; WALTER, B. M. T.; SILVA JÚNIOR, M. C.; REZENDE, A. V.; FILGUEIRAS, T. S. & NOGUEIRA, P. E. 2008. Flora Vascular do Cerrado. Pp. 289-556. In: S. M. Sano, S. P. Almeida & J. F. Ribeiro (eds). Cerrado: ecologia e flora. Planaltina, EMBRAPA-CPAC.
- NAIKI, A. 2012. Heterostyly and the possibility of its breakdown by polyploidization. Plant Species Biology, 27(1), 3–29.

- NEWSTRON, L.E.; FRANKIE, G.W; BAKER, H.G. 1994. A new classification for plant phenology based on flowering patterns in lowland tropical rain forest trees at La Selva, Costa Rica. *Biotropica* 26:141-159.
- O'BRIEN S.P., CALDER D.M. 1989. The breeding biology of *Epacris impressa*. Is this species heterostylous? *Australian Journal of Botany*, 37, 43–54.
- 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.
- OPLER, P.A. 1983. Nectar production in a tropical ecosystem. In *The biology of nectaries* (B. Bentley & T. Elias, eds.). Columbia University Press, New York, p.30-79.
- ORNDUFF, R. 1988. Distyly and monomorphism in *Villarsia* some evolutionary considerations. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 75(3), 761–767.
- ORNDUFF R. 1976 The reproductive system of *Amsinckia grandiflora*, a distylous species. *Syst Bot* 1:57-66
- ORNDUFF, R. 1970. The systematics and breeding systems of *Gelsemium* (Loganiaceae). *J. Arnold Arbor.* 51:1-17.
- ORNDUFF, R. & PERRY, J.D. 1964. Reproductive biology of *Piriqueta caroliniana* (Turneraceae). *Rhodora* 66:100-109.
- OLIVEIRA, A.S. 2008. Biologia reprodutiva de *Psychotria* L. (Rubiaceae) em floresta estacional semidecidual no sudeste brasileiro. Dissertação de Mestrado. Unicamp.
- PAILLER, T., & THOMPSON, J. D. 1997. Distyly and variation in heteromorphic incompatibility in *Gaertnera vaginata* (Rubiaceae) endemic to La Reunion Island. *American journal of botany*, 84(3), 315–327.
- PASSOS, L., & SAZIMA, M. 1995. Reproductive biology of the distylous *Manettia luteo-rubra* (Rubiaceae). *Botanica Acta*, 108, 309–313.

- PELISSARO, T. M. 2012. Fenologia e biologia floral de três espécies simpátricas de *Psychotria* L. (Rubiaceae) em floresta estacional em Santa Maria, RS, Brasil. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Maria.
- PERERIA, Z. V, VIEIRA, M. F., & CARVALHO-OKANO, R. M. De. 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(3), 471–480.
- PÉREZ R, VARGAS P, ARROYO J. 2004. Convergent evolution of flower polymorphism in *Narcissus* (Amaryllidaceae). *New Phytologist* 161: 235–252.
- PÉREZ-BARRALES, R. 2005. La evolución de la heterostilia en *Narcissus*: análisis macro y microevolutivo. Tesis de Doctorado. Universidad de Sevilla.
- PEREZ-NASSER, N., EGUIARTE, L. E., & PINERO, D. (1993). Mating system and genetic structure of the distylous tropical tree *Psychotria faxlucens* (Rubiaceae). *American Journal of botany*, 80(1), 45–52.
- PHILIPP M, SCHOU O. 1981. An unusual heteromorphic incompatibility system. Distyly, self-incompatibility, pollen load and fecundity in *Anchusa officinalis* (Boraginaceae). *New Phytologist* 89: 693–703.
- PROCTOR, M., YEO, P. & LACK, A. 1996. The natural history of pollination. Harper Collins Publishers, London.
- REE, R. H. 1997. Pollen flow, fecundity, and the adaptive significance of heterostyly in *Palicourea padifolia* (Rubiaceae). *Biotropica*, 29(3), 298–308.
- RICHARDS, J.H. & KOPTUR, S. 1993. Floral Variation and distyly in *Guettarda scraba* (Rubiaceae). *American Journal of Botany* 80:31-40
- RIVEROS, G.M., BARRIA, O.R. & HUMAÑA, A. 1995. Self-compatibility in distylous *Hedyotis salzmännii* (Rubiaceae). *Plant Systematics and Evolution* 194:1-8.

- RODRIGUES, E. B., & CONSOLARO, H. 2013. Atypical distyly in *Psychotria goyazensis* Mull . Arg . (Rubiaceae), an intramorph self-compatible species. *Acta Botanica Brasilica*, 27(1), 155–161.
- RUIZ, T.Z., & ARROYO, M.T.K. 1978. Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest. *Biotropica* 10: 221-230.
- SAKAI S. & WRIGHT S. J. 2008. Reproductive ecology of 21 coexisting *Psychotria* species (Rubiaceae): heterostyly lost? *Biological Journal of the Linnean Society* 93: 125–134.
- SÁNCHEZ, L.M., FERRERO, V, NAVARRO, L. 2013. Quantifying reciprocity in distylous and tristylous plant populations. *Plant Biology* 15, 616-620.
- SÁNCHEZ, 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(3), 463–72.
- SAMPSON, D. A., & KREBS, R. A. 2012. Quantitative evaluation of reciprocal herkogamy in the distylous species, *Hedyotis caerulea* (Rubiaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 298(7), 1361–1370.
- SHIBAYAMA, Y & KADONO, Y. 2003. Floral morph composition and pollen limitation in the seed set of *Nymphoides indica* populations. *Ecological Research* 18: 725-737.
- SILVA, A.P. 1995. Biologia reprodutiva e polinização de *Palicourea rigida* H.B.K. (Rubiaceae). Tese de mestrado, Universidade de Brasília, Brasília.
- SOBREVILA, C.; RAMIREZ, N. & ENRECH, N. X. 1983. Reproductive biology of *Palicourea fendleri* and *P. petiolares* (Rubiaceae), heteostilious shrubs of a tropical cloud forest in Venezuela. *Biotropica* 15: 161-169.
- STEHLIK, I., CASPERSEN, J. P., & BARRETT, S. C. H. 2006 . Spatial ecology of mating success in a sexually polymorphic plant. *Proceedings of the Royal Society of London, B, Biological Sciences* 273:387 – 394 .

- TAYLOR, C.M. 1997. Conspectus of the genus *Palicourea* (Rubiaceae: Psychotriace) with the description of some new species from Ecuador and Colombia. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 84:224-262.
- 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
- THOMPSON, J. D., CESARO, A. C., & ARROYO, J. 2012. Morph Ratio Variation and Sex Organ Reciprocity in Style-Dimorphic *Narcissus assoanus*. *International Journal of Plant Sciences*, 173(8), 885–893.
- TOLEDO, R., CARVALHO, A., HASHIMOTO, D., & RODRIGUES, M. 2007. Caracterização Morfológica de Quatro Espécies de *Palicourea* Aubl. (Rubiaceae) do Cerrado do Brasil Central. *Revista Brasileira de Biociências*, 5(1), 732–734.
- VALOIS-CUESTA, H., SORIANO, P. J. & ORNELAS, J. F. 2012. Gender specialization in *Palicourea demissa* (Rubiaceae), a distylous, hummingbird-pollinated treelet. *Plant Systematics and Evolution*, 298(5), 975–984.
- VALOIS-CUESTA, H., SORIANO, P. J., & ORNELAS, J. F. 2011. Dimorphisms and self-incompatibility in the distylous species *Palicourea demissa* (Rubiaceae): possible implications for its reproductive output. *Journal of plant research*, 124(1), 137–46.
- VIRILLO, C. B.; RAMOS, F. N. R.; CASTRO, C. C. & SEMIR, J. 2007. Floral biology and breeding system of *Psychotria tenuinervis* Muell. Arg. (Rubiaceae) in the Atlantic rain forest, SE Brazil. *Acta Botanica Brasilica* 21: 879-884.
- WASHITANI, I. 1996. Predicted genetic consequences of strong fertility selection due to pollinator loss in an isolated population of *Primula sieboldii*. *Conservation Biology*, 10(1), 59–64.
- WASHITANI, I., OSAWA, R., NAMAI, H. & NIWA, M. 1994. Patterns of female fertility in heterostylous *Primula sieboldii* under severe pollinator limitation. *Journal of Ecology* 82:571-579.

- WEBB, C.J. & LLOYD, D.G. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in Angiosperms II. Hercogamy. *New Zealand Journal of Botany* 24:163-178
- WEDDERBURN, F., RICHARDS, A.J., 1990. Variation in within morph incompatibility sites in heteromorphic *Primula* L. *New Phytologist* 116, 149–162.

CAPÍTULO 3

HERCOGAMIA RECÍPROCA INTRA E INTERESPECÍFICA EM RUBIACEAE DISTÍLICAS DO CERRADO

3.1 - Resumo

A heterostilia é uma das características mais estudadas em flores de angiospermas. Ela se define como a presença de dois (distilia) ou três (tristilia) morfos florais, dentro de uma população. Esses morfos apresentam diferença na altura de anteras e estigma, reduzindo assim a autointerferência e a autopolinização. Essa diferença entre os órgãos sexuais é definida como hercogamia, que geralmente se mostra de forma recíproca. O estudo visa avaliar o grau de hercogamia intra e interespecífica em populações de 6 espécies simpátricas que florescem simultaneamente e compartilham os mesmos visitantes florais. A hercogamia recíproca foi avaliada em 80 flores (40 flores de cada morfo floral), coletadas de forma aleatória em cerca de 20 indivíduos de cada morfo e de cada espécie. As medidas realizadas foram feitas usando-se paquímetro digital com medições em milímetros. Obteve-se medidas do tamanho da corola (da base do ovário até as pétalas); da altura dos estames (da base da corola até a região mais alta das anteras) e altura do estilete (da base da corola até a parte mais alta do estigma). A influência da corola na altura das peças reprodutivas e consequentemente na hercogamia recíproca foi avaliada a partir de testes de regressão. Os resultados demonstraram ampla variação nos graus de hercogamia intra e inter específicas, com populações de *Palicourea croceoides*, *Psychotria colorata* e *Psychotria capitata* com altos valores de reciprocidade, enquanto para a avaliação interespecífica, a espécie *Palicourea croceoides* apresentou ampla reciprocidade com órgãos de *Psychotria capitata*, *Psychotria colorata* e *Psychotria prunifolia*. O tamanho da corola influenciou de forma significativa na altura dos órgãos e consequentemente nos níveis de reciprocidade, sendo a influência na altura dos estames maior do que na altura dos pistilos em todas as espécies avaliadas. Avaliação dos níveis de hercogamia recíproca entre indivíduos de uma população e entre espécies de uma área pode ser uma ferramenta importante na explicação dos padrões atípicos de distilia encontrados em espécies do Cerrado

Palavras-chave: Distilia, hercogamia recíproca interespecífica, *Psychotria*, *Palicourea*

3.2 - Abstract

The heterostyly is one of the best studied characteristic in flowering plant. It is defined as the presence of two (distyly) or three (tristyly) floral morphs, inside of a population. Those morphs present difference in the height of anthers and stigma, reducing the self-interference and self-pollination. Differences like these among the sexual structures are defined as herkogamy, which is usually reciprocal between floral morphs. The study seeks to evaluate the degree of intra and interespecific herkogamy in populations of six sympatric species that bloom simultaneously and share the same visitors. The reciprocal herkogamy was evaluated in 80 flowers (40 flowers of each floral morph), collected at random from about 20 individuals of each morph and of each species. The measures were made using a digital pachymeter with measurements in millimeters. The measures obtained were the size of the corolla (from the base of the ovary to the petals); the height of the stamens (from the base of the corolla to the most distant of the anthers) and height of the style (from the base of the corolla to the most distant of the stigma). The influence of the corolla on the height of the reproductive structures and consequently on the reciprocal herkogamy was evaluated using a regression tests. The results demonstrated wide variation on the degree of intra and inter specific herkogamy, with populations of *Palicourea croceoides*, *Psychotria colorata* and *Psychotria capitata* with high reciprocity values, while for the interspecific evaluation, *Palicourea croceoides* presented great reciprocity with organs of *Psychotria capitata*, *Psychotria colorata* and *Psychotria prunifolia*. The size of the corolla influenced in a significant way the height of the organs and consequently in the reciprocity levels, being the influence in the stamens adult's height than in the height of the pistils in all the appraised species. Evaluation of the levels of reciprocal herkogamy among individuals of a population and among species of an area can be an important tool in the explanation of the atypical patterns of distyly found in species of the Savanna.

Key-words: distyly, reciprocal herkogamy interspecific, *Psychotria*, *Palicourea*

3.3 - Introdução

A heterostilia é um polimorfismo floral geneticamente controlado, que apresenta populações com dois morfos (distilia) ou com três morfos (tristilia) com diferenças recíprocas no comprimento do estilete e dos filetes e associado com um sistema de autoincompatibilidade dialélico esporofítico, onde somente cruzamentos entre os morfos correspondentes geram sementes férteis (GANDERS 1979). Ocorre em plantas hermafroditas que coexistem em uma população e apresentam, teoricamente, uma razão de equilíbrio entre os morfos (isopleia) (CHEN & ZANG 2010; MARUYAMA et al. 2010). Uma das principais características da heterostilia é a hercogamia entre as partes sexuais, ou seja, a distância entre anteras e estigma dentro da mesma flor. Em populações distílicas espera-se encontrar flores com estiletos altos (pin - longistilas) e flores com estiletos baixos (thrum-brevistilas) e posicionamento recíproco das anteras, onde flores pin têm anteras baixas e flores thrum têm anteras altas (WEBB & LLOYD 1986). Essa hercogamia entre as peças reprodutivas dentro da flor, pode se apresentar em diferentes graus, mas espera-se a reciprocidade perfeita (HAMILTON, 1990), pois de acordo com Darwin (1877) seria uma forma de favorecer o fluxo simétrico de pólen entre os morfos florais, visto que visa depositar grãos de pólen em locais específicos do corpo do visitante ampliando as chances de polinização cruzada. Mas essa conformação causa interferência entre as funções masculinas e femininas, gerando autopolinização, o que pode reduzir a fecundidade (BARRETT & SHORE 2008).

Dessa forma, isto pode ser visto e avaliado através de uma interpretação mais completa do significado adaptativo da heterostilia e da hercogamia, pois reconhecem diferentes papéis funcionais para os componentes morfológicos e fisiológicos do polimorfismo na promoção do fitness, através da função masculina e feminina, respectivamente. Assim, a hercogamia recíproca promove a eficiência da polinização cruzada reduzindo o desperdício do pólen (gameta masculino) sobre o estigma incompatível e aumenta o fitness da função masculina (LLOYD & WEBB 1992 a, b; BARRETT & SHORE 2008). Por outro lado o sistema de auto e intramorfo incompatibilidade, outra característica básica da heterostilia, evita a autofecundação e a depressão endogâmica, assim promove o fitness da função materna (feminino) (BARRETT & SHORE 2008), equilibrando a relação e evitando conflitos entre as funções masculina e feminina.

A partir disso a hercogamia recíproca é definida como uma característica básica para se considerar uma espécie como distílica (BARRETT 1992; FAIVRE & MCDADE 2001), mas alguns autores como Consolaro (2008) e Sampson & Krebs (2012) consideram que a hercogamia recíproca exata, nem sempre

afeta o fluxo de pólen e a isopleia, não sendo desse modo, um requisito corrente para não se considerar uma população ou espécie como distílica típica. Outros trabalhos como Cesaro et al. (2004) e Cesaro & Thompson (2004) realizaram testes demonstrando um fluxo simétrico de pólen, mesmo sem uma hercogamia recíproca perfeita. Casos similares de hercogamia recíproca não perfeita, principalmente na família Rubiaceae, já foram descritos em diversos trabalhos (FAIVRE & MCDADE 2001; CASTRO & ARAUJO 2004; CONSOLARO et al. 2009; WU et al. 2010; SAMPSON & KREBS 2012), sendo caracterizado como algo relativamente comum na família. Exemplos disso são os gêneros *Psychotria* e *Palicourea*, gêneros com alto grau de similaridade filogenética (BREMER 2009), que vêm apresentando grande variação nos graus de hercogamia e também na apresentação da distílica (CONSOLARO 2008).

A hercogamia, por si só, já pode reduzir a autofecundação e a interferência entre as funções masculinas e femininas dentro de uma flor, e promover a transferência eficiente de pólen, mesmo quando a espécie é auto compatível (KOHN & BARRETT 1992; CESARO et al., 2004; MEDRANO et al., 2005; BRAMOW et al. 2012), mas o valor funcional da hercogamia em espécies autoincompatíveis é mais eficiente e associado aos padrões de transferência de pólen (aptidão do sexo masculino), o que pode ser confirmado com as espécies heterostílicas, que unem uma hercogamia evidente a um sistema de autoincompatibilidade (GANDERS, 1979; LLOYD & WEBB, 1992a), que em diversos estudos demonstram vantagem adaptativa sobre seus variantes (HERNÁNDEZ-RAMIREZ 2012) e favorece a ação direta dos polinizadores.

Essa variação nos graus de hercogamia pode não significar muito em uma avaliação teórica, mas a partir do momento que a separação estigma-antera afeta diretamente o processo de polinização (BARRETT & SHORE 1987; BARRETT & SHORE 2008), sendo na deposição ou na retirada de pólen, a ausência de uma hercogamia recíproca perfeita pode ser o início de um processo de alteração de todo o sistema reprodutivo de uma população, a partir da quebra do sistema distílico, devido um fluxo assimétrico de pólen (ENDELS et al. 2002; CONSOLARO 2008). Surgindo assim, variações de sistemas distílicos como o monomorfismo (CONSOLARO et al. 2011; ZHOU et al. 2012) ou ainda a homostílica (COELHO & BARBOSA 2003; CONSOLARO et al. 2009).

Muitos são os fatores que afetam o grau de reciprocidade entre as peças femininas e masculinas em plantas heterostílicas. Um dos principais, já citados por vários trabalhos, é o comportamento e frequência dos polinizadores (CONSOLARO 2008; BRAMOW et al. 2012; VALOIS-CUESTA et al. 2012). Para se definir a intensidade da interação entre duas espécies, nesse caso específico planta-polinizador é necessário avaliar a proporção da frequência de ocorrência das visitas (quantitativo), multiplicado pela magnitude de sua consequência sobre o fitness (qualitativo) (HERRERA 1987), e isto, tem uma relação direta com as características morfológicas de ambas as espécies, pois a força

direcionadora da heterostilia, e consequentemente da hercogamia recíproca, é a promoção da polinização precisa entre os morfos (LLOYD & WEBB 1992a), o contrário pode também ser verdadeiro (BODBYL-ROELS & KELLY 2011).

Alguns trabalhos vêm encontrando uma correlação positiva entre o grau de reciprocidade e a eficiência do polinizador, ou seja, onde as peças sexuais são colocadas mais recíprocas a eficiência dos polinizadores é maior, implicando que as matrizes de polinizadores podem ser a pressão seletiva que dirige a posição recíproca dos verticilos sexuais, e que sejam as principais forças evolutivas no processo e evolução da distília (FERRERO et al. 2011b). Isto pode ser confirmado em trabalhos recentes como o de Bodbyl-Roels & Kelly (2011) que destacam os grandes efeitos morfológicos, genéticos e evolutivos causados pela falta de polinizadores em populações experimentais de *Mimulus gutatus*. Ou ainda no trabalho de Vallois-Cuesta et al. (2012) onde os autores demonstram a diferença no fluxo de pólen devido ao tamanho do bico e ao comportamento dos beija-flores que visitam a espécie estudada, afetando o sucesso reprodutivo entre os morfos, ou ainda no trabalho de Thompson et al. (2012) que destacam que o fluxo compatível de pólen é maior quanto mais recíproco for os órgãos sexuais.

Um dos problemas dos trabalhos atuais é a difícil caracterização e identificação correta dos polimorfismos florais. Sánchez et al. (2008) demonstraram que a variação contínua em caracteres florais é comum, e para se determinar o tipo exato de polimorfismo é essencial uma avaliação mais detalhada com medidas de caracteres específicos. Características confirmadas por Ferrero et al. (2011a) que demonstram que existem fortes variações em espécies estreitamente relacionadas e até entre populações dentro de uma espécie. Além disso, a caracterização discreta de espécies distílicas ou com dimorfismo estilar é muito complexo e de difícil detecção em muitas espécies. Nesses casos é fundamental estimar quantitativamente, de forma detalhada, os níveis de reciprocidade quando a variação da posição dos órgãos sexuais é observada através de plantas de uma população, ou de populações de uma espécie e de espécies dentro de uma linhagem, para ai sim, ser capaz de proporcionar uma base sólida para mais testes de hipóteses da evolução da distília (FERRERO et al. 2011a; THOMPSON et al. 2012).

Outro ponto que vem tomando destaque nos trabalhos com espécies distílicas é a questão da hercogamia recíproca entre espécies simpátricas, que florescem simultaneamente e que compartilham visitantes florais. Neste caso, a altura das peças reprodutivas de uma espécie pode ser mais recíproca com as peças reprodutivas de outra espécie do que com as peças reprodutivas do morfo oposto da mesma espécie. Um exemplo disso é o trabalho de Keller et al. (2012), avaliando a hercogamia recíproca intra e interespecífica, em três espécies do gênero *Primula* que podem se hibridizar. Os autores encontraram hercogamia recíproca não perfeita em todas as populações, e uma pequena variação nos graus de

hercogamia entre as espécies, demonstrando grandes chances de polinizações interespecíficas ocorrerem e gerarem possíveis hibridações.

O presente estudo buscou então avaliar a hercogamia recíproca intraespecífica e calcular os níveis da hercogamia recíproca interespecífica, pela primeira vez em espécies de Rubiaceae simpátricas do Cerrado, além de caracterizar os dimorfismos da distília e a razão entre morfos. O estudo envolveu populações de seis espécies, sendo cinco espécies do gênero *Psychotria* e uma espécie do gênero *Palicourea*, que convivem numa mesma área e florescem simultaneamente. Sendo que quatro das espécies compartilham os mesmos visitantes florais. A ideia básica do trabalho é verificar se a hercogamia é mantida nestas populações e se de algum modo pode afetar a eficiência reprodutiva das espécies estudadas.

3.4 - Material e métodos

3.4.1 - Área de estudo - o trabalho foi realizado em um fragmento florestal particular, pertencente a Usina de Açúcar e Alcool Alvorada S/A, localizado na região sul do estado de Goiás, no município de Itumbiara. A área esta localizada entre os municípios de Itumbiara e Buriti Alegre de Goiás, e abrange cerca de 60 hectares (18°20'59,56"S e 49°4'18,38"W), tendo como vegetação predominante uma Floresta Estacional Semidecidual, em meio a áreas de cultivo (cana-de-açúcar) e pastagens. O clima da área é do tipo AW (KÖPPEN 1928) com estação seca de maio a setembro e chuvosa de outubro a abril. As espécies apresentam hábito muito parecido na área, com os indivíduos se distribuindo de forma aleatória em todo o sub-bosque do fragmento, com destaque para a espécie autocompatível *Psychotria prunifolia* que se mostra bem dominante. Todas as espécies apresentam hábito arbustivo com no máximo 4 metros de altura ocupando o sub-bosque.

3.4.2 - Espécies estudadas: Foram acompanhadas seis espécies (**Figura 1**) simpátricas que florescem simultaneamente entre os meses de outubro e março (estação chuvosa). *Palicourea croceoides* W. Ham. (**Figura 1 A e B**) – é uma arvoreta com até 4 metros de altura, folhas 6-17 x 5-9 cm, estípulas persistentes, inflorescências em panículas cimosas piramidais e terminais, emitidas entre um par de folhas, flores tubulares amarelas com tubo de 9-15 mm, estames e pistilo brancos, o pedicelo e a raque da inflorescência são avermelhados, os frutos são negros arroxeados. Flores distílicas. Floresce entre os meses de novembro a março e é visitada por espécies de beija-flores (*Thalurania furcata*, *Eupetomena macroura*), abelhas (*Trigona* sp, *Eulaema nigrita*) e lepidópteros (*Heliconius* sp, *Aelopus titan*)

Psychotria capitata Ruiz & Pavon (**Figura 1 C e D**) – é uma árvoreta com até 4 metros de altura, folhas 4-14 x 2-6 cm, estípulas persistentes, inflorescência terminal racemosa curta, brácteas 5-8 mm de comprimento, brancas, flores com pedicelo, corola branca, tubo de 6-11mm de comprimento, estames e pistilo brancos, frutos subglobosos 3-5 x 2-4mm negros arroxeados. Flores distílicas. Floresce entre os meses de outubro a janeiro e é visitada por espécies de abelhas (*Trigona* sp, *Apis mellifera*, *Eulaema nigrita*), lepidópteros (*Urbanus* sp, *Aelopus titan*) e ainda dípteros.

Psychotria colorata (Willd. ex R. & S.) Muell. Arg (**Figura 1 E e F**) – é um subarbusto com até 1,5 metros de altura, folhas 6-16 x 4-8 cm, estípulas persistentes, inflorescência terminal capituliforme, brácteas 10-30 mm de comprimento, roxas, flores sésseis, corola roxa, tubo 14-20 mm de comprimento, estames e pistilo brancos, frutos azuis. Flores distílicas. Floresce entre os meses de dezembro a março e é visitada por espécies de abelhas (*Trigona* sp, *Apis mellifera*, *Eulaema nigrita*) e lepidópteros (*Heliconius* sp, *Aelopus titan*).

Psychotria gracilentia Muell. Arg. (**Figura 1 G e H**) – arbusto ou subarbusto com até 3m de altura; folhas 8-20 x 3-8,5 cm, estípulas persistentes; inflorescência terminal, capituliforme, brácteas 2,5-6 mm de comprimento, verdes; flores sésseis, corola branca, tubo 5-6,5 mm de comprimento; frutos elipsóides 4-5 x 3,5-5 mm, roxos ou pretos. A inflorescência é capitada e envolta por brácteas, mas seu eixo começa a alongar assim que os frutos iniciam o desenvolvimento (OLIVEIRA 2008). Flores distílicas. Floresce entre os meses de novembro a fevereiro e é visitada por espécies de abelhas (*Trigona* sp, *Apis mellifera*) e lepidópteros (*Urbanus* sp).

Psychotria hoffmannseggiana (Roem. & Schult.) Muell. Arg. (**Figura 1 I e J**) – Subarbusto ou arbusto com até 2m de altura; folhas 3,5-13 x 1-6 cm, estípulas persistentes; inflorescência terminal, capituliforme, brácteas 3,5-12 mm de comprimento, verdes; flores sésseis, corola branca, tubo 2-5 mm de comprimento; frutos subglobosos 4-5 x 4-5 mm, roxos ou pretos (OLIVEIRA 2008). Flores distílicas. Floresce entre os meses de novembro a março e é visitada por espécies de abelhas (*Trigona* sp, *Apis mellifera*) e lepidópteros (*Urbanus* sp).

Psychotria prunifolia (Kunth) Steyererm. (**Figura 1 L e M**) – é um subarbusto ou arbusto com até 1,5m de altura; folhas 4-13 x 2-7 cm, estípulas persistentes; inflorescência terminal, capituliforme, brácteas 10-20 mm de comprimento, verdes; flores sésseis, corola branca, tubo 10-11 mm de comprimento, pistilo e estames brancos, frutos elipsóides até subglobosos 4-5 x 3-4 mm, azuis até pretos. Flores monomórficas (OLIVEIRA 2008). Floresce entre os meses de novembro a fevereiro e é visitada por espécies de abelhas (*Trigona* sp, *Eulaema nigrita* e *Apis mellifera*) e lepidópteros (*Urbanus* sp, *Aelopus titan*)

Todas as espécies ocorrem preferencialmente no interior da mata, mas também são encontradas em clareiras e bordas. É interessante destacar que todas as espécies florescem de forma sobreposta e sequencial, iniciando a floração em novembro e finalizando em março, com picos distintos dentro desse período. Outro ponto que vale a pena ressaltar é que das seis espécies estudadas, quatro compartilham os principais visitantes florais, o que justifica a avaliação da hercogamia recíproca interespecífica.

3.4.3 - Morfometria floral e nível de hercogamia- os caracteres florais, incluindo a distília, foram avaliados em 80 flores (40 flores de cada morfo floral), coletadas de forma aleatória em cerca de 20 indivíduos de cada morfo e de cada espécie. As medidas realizadas foram feitas usando-se paquímetro digital com medições em milímetros. Obteve-se medidas do tamanho da corola (da base do ovário até as pétalas); do comprimento dos estames (da base da corola até a região mais alta das anteras); tamanho das anteras (medida a partir de uma antera por flor); comprimento dos pistilos (da base da corola até a parte mais alta do estigma) e tamanho do estigma. As medidas de comprimento de pistilo de um morfo com o comprimento dos estames de outro morfo (hercogamia recíproca) foram avaliados usando-se três métodos: uma adaptação do método de Richards e Koptur (1993) avaliando o nível de hercogamia em órgãos separadamente, onde R_H (índice de reciprocidade de órgãos recíprocos altos são avaliados a partir do comprimento de estames de flores brevistiladas e comprimento de pistilo de flores longistiladas) e R_L (índice de reciprocidade de órgãos recíprocos baixos, avaliados a partir do comprimento dos estames de flores longistiladas e comprimento do pistilo de flores brevistiladas), a partir da seguinte equação: comprimento dos estames de um morfo menos o comprimento do pistilo do morfo oposto, dividido pelo comprimento dos estames de um morfo mais o comprimento do pistilo do morfo oposto. A diferença para o método original foi que os valores de um indivíduo foram calculados com os valores de todos os demais indivíduos amostrados, obtendo-se posteriormente a média do índice, diferente da comparação par a par realizada originalmente. Para os cálculos de Sánchez et al. (2013) obteve-se um único valor de R (índice de reciprocidade) para a população, não havendo diferença entre os morfos. Já a avaliação da hercogamia intrafloral, entre altura de anteras e estigmas das flores individuais, usado por Faivre & McDade (2001), foi realizado a partir da subtração entre altura das anteras altas com o estigma baixo e altura do estigma alto com as anteras baixas, obtendo-se sempre valores positivos, os quais foram testados através do teste não paramétrico Kruskal-Wallis ($P < 0,05$), onde valores não significativos indicam homogeneidade da separação entre os morfos. Os dados foram avaliados dentro das espécies, com avaliação da hercogamia entre os morfos e também com avaliações interespecíficas com avaliação do morfo longistílico de uma espécie, com o morfo brevistílico de outra espécie, e vice-versa, isso devido a um possível fluxo de pólen interespecífico na área de estudo. Todos os dados morfométricos foram testados entre os morfos e entre as espécies, usando testes paramétricos e não paramétricos.

Foram também avaliados a relação entre o tamanho da corola e a altura dos estames e dos pistilos do morfo oposto, visando identificar uma possível influência do tamanho da corola na altura das peças reprodutivas (intra e interfloral) e consequentemente a alteração da hercogamia recíproca influenciada pela corola. A influência da corola no tamanho dos estames e no tamanho do pistilo, bem como a influência da corola na hercogamia recíproca intraespecífica foi avaliada a partir de regressão linear, sendo a corola a variável independente, os estames a variável dependente e os pistilos a covariável dependente.

3.4.4 - Análises estatísticas - para verificar diferenças entre os dados da morfometria foi utilizado o teste t de Student e o teste não paramétrico Kruskal-Wallis. Os dados morfométricos foram comparados a partir de correlações, buscando possíveis padrões dentro das espécies. O teste não paramétrico Kruskal-Wallis foi usado para avaliação de hercogamia através da diferença antera/estigma. A razão entre os morfos foi avaliado usando Qui-Quadrado para amostras esperadas iguais. As análises dos dados foram realizadas utilizando o programa estatístico Systat 10.2 e Bioestat 5.0. Para o teste de hercogamia de Sánchez et al. (2013) foi utilizado planilha disponibilizada pelo autor.

As relações entre a altura da corola e a altura dos estames e dos pistilos foram descritos para cada morfo floral por meio de regressão linear. Inclinações que diferem significativamente de zero indicam uma relação entre o comprimento da corola e o órgão floral correspondente (estames e pistilo). As inclinações das linhas de regressão para a altura das anteras e alturas dos pistilos do mesmo morfo floral foram comparadas com a altura da corola dentro de cada espécie, utilizando o modelo linear de efeitos mistos (ANCOVA), considerando-se o comprimento do órgão (variável dependente) e o tipo de órgão (variável independente; anteras ou estigmas) como efeitos fixos, e a altura da corola como covariável. Para os testes foi usado o programa estatístico R.

As flores das espécies estudadas, como de grande parte das Rubiaceae, apresentam estames epipétalos, que podem sofrer uma variação com o tamanho da corola e influenciar a hercogamia com o morfo oposto. Com isso foi analisado a influência da altura da corola na hercogamia recíproca e a relação da altura da corola entre órgãos florais envolvidos na reciprocidade (anteras e corola longistílicos vs estigma brevistílico; antera e corola brevistilo vs estigma longistílico). Inclinações, que não diferiram significativamente de zero indicam que o comprimento da corola interage igualmente entre os órgãos florais. O teste ANCOVA, modelo linear de efeitos mistos foi utilizado para comparar as inclinações das linhas de regressão para a média da altura das anteras e estigma entre morfos florais, considerando-se o comprimento do órgão (variável dependente) e o tipo de órgão (variável independente, por exemplo, estames longistílicos e estigma brevistílico) como efeitos fixos e a altura da corola como covariável. Para os testes foi usado o programa estatístico R.

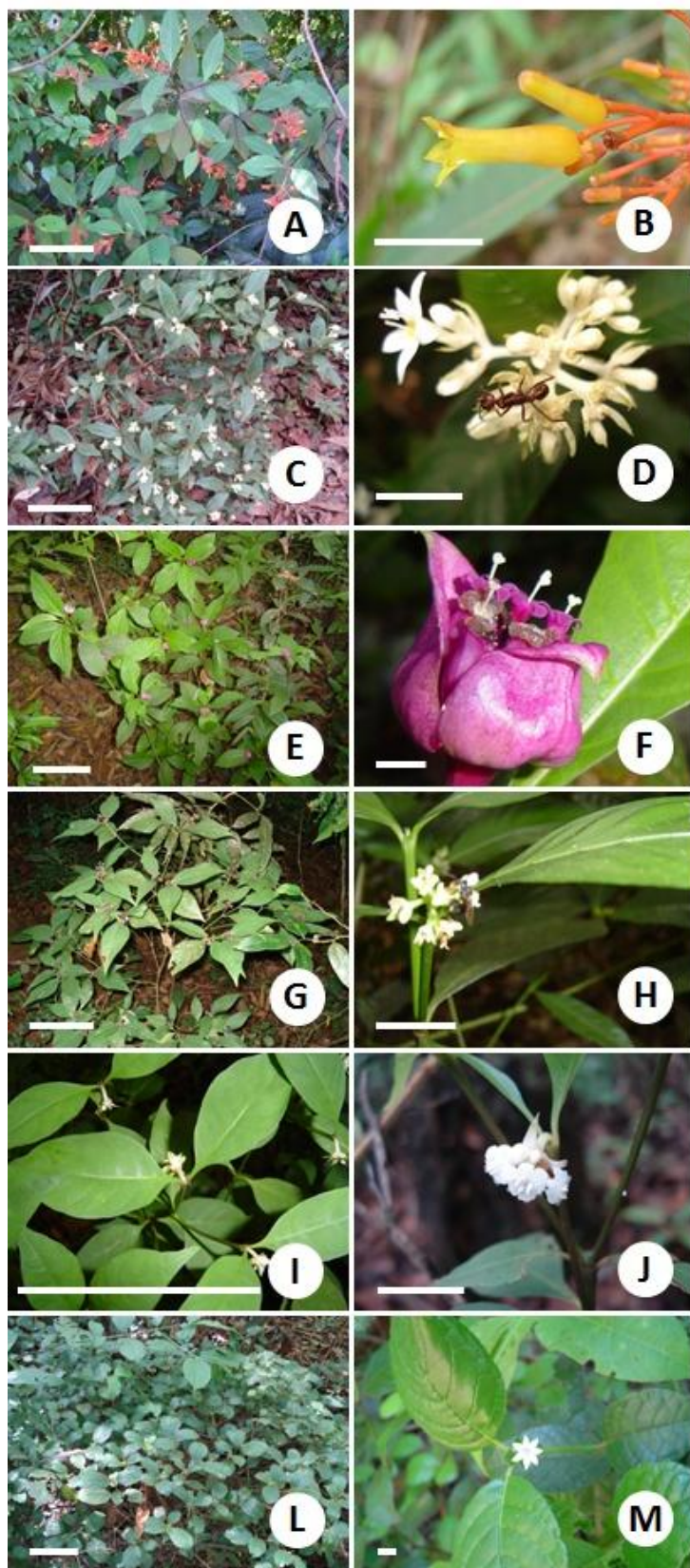


Figura 01 – Espécies de Rubiaceae avaliadas quanto a morfometria floral e o grau de hercogamia recíproca em Mata mesófila semidecidual no sul do estado de Goiás, Brazil. **A** e **B** – *Palicourea croceoides* W. Ham. (espécie distílica) – hábito e detalhe da flor. **C** e **D** – *Psychotria capitata* Ruiz & Pavon (espécie distílica) – hábito e detalhe da inflorescência. **E** e **F** – *Psychotria colorata* (Willd. ex R. & S.) Muell. Arg (espécie distílica) – hábito e detalhe da inflorescência. **G** e **H** – *Psychotria gracilentia* Muell. Arg. (espécie distílica) – hábito e detalhe da inflorescência. **I** e **J** – *Psychotria hoffmannseggiana* (Roem. & Schult.) Muell. Arg. (espécie distílica) - hábito e detalhe da inflorescência. **L** e **M** – *Psychotria prunifolia* (Kunth) Steyer. (espécie monomórfica) – hábito e detalhe da flor. As barras indicam 1 cm em B, D, F, H, J e M. As barras indicam 10 cm em A, C, E, G, I e L.

3.5 - Resultados

3.5.1 - Morfometria floral e nível de hercogamia – Os dados morfométricos indicaram que *P.colorata*, *P.capitata*, *P.gracilenta*, *P. hoffmannseggiana* e *Palicourea croceoides* são distílicas, conforme dados morfométricos, e somente *P.capitata* apresentou semelhança no tamanho da corola entre os morfos, as demais espécies mostraram diferenças significativas, onde a corola do morfo brevistílico foi maior em *P.colorata*, *P.hoffmannseggiana* e *Palicourea croceoides*, enquanto que em *P.gracilenta* o morfo longistílico apresentou corola maior (**Tabela 01**). *Psychotria prunifolia* apresentou-se somente na forma longistílica, sendo considerada monomórfica. Diferenças nas características acessórias como tamanho da superfície estigmática e tamanho das anteras foram também apontadas para todas as espécies distílicas, sendo que as anteras não apresentaram diferença significativa nas espécies *P.capitata*, *P.gracilenta* e *P. hoffmannseggiana* (**Tabela 01**). Com relação à separação estigma/antera podemos destacar uma maior separação entre o morfo brevistílico, com relação ao morfo longistílico nas espécies que apresentaram diferença significativa (**Tabela 01**), isto demonstra diferentes graus de hercogamia nas populações. Hercogamia recíproca intraespecífica demonstrou uma alta reciprocidade entre os morfos em *Palicourea croceoides*, alcançando 0,892 pelo índice de Sánchez et al. (2013) (R), onde o valor de 1 seria hercogamia recíproca perfeita e valores até 0,95 indicam presença de distília. Mas esta mesma espécie demonstrou uma maior hercogamia entre os órgãos baixos (R_L : -0,009) (índice de Richards & Koptur 1993) comparado com os órgãos altos (R_H : 0,046) (índice de Richards & Koptur 1993) (**Tabela 2**), onde zero indica hercogamia recíproca perfeita, e quanto mais próximo de 0, maior o grau de hercogamia, sendo que valores entre 0,05 e -0,05 demonstram presença de distília.

Outro detalhe do teste é que valores positivos indicam anteras mais altas que estigmas e valores negativos indicam altura dos estigmas maior que o das anteras. Outra espécie que apresentou alto índice de reciprocidade entre os morfos foi *P. colorata* com 0,89 (R), enquanto que avaliando os morfos separadamente alcançou-se valores de R_H : 0,018 e de R_L : 0,030, com maior reciprocidade em órgãos altos. Já em *P. capitata*, a reciprocidade foi de 0,856 (R), enquanto que os valores de R_H : 0,011 e de R_L : -0,005, com uma maior reciprocidade nos órgãos baixos. Já a espécie *P. gracilenta*, definida como monomórfica por Oliveira (2008), apresentou uma hercogamia de 0,287 (R) e valores separados de R_H : -0,040 e de R_L : 0,185, sendo os órgãos altos mais recíprocos, mas com grande variação dentro da população. *P. hoffmannseggiana* demonstrou um índice de reciprocidade de 0,723 (R), enquanto que os valores de R_H : -0,076 e de R_L : 0,096, com uma maior reciprocidade nos órgãos altos, e com estigmas de flores longistílicas maiores que os estames de flores brevistílicas (**Figura 03 e Tabela 02**).

Tabela 01 – Morfometria floral de seis espécies de Rubiaceae de sub bosque em Floresta Estacional Semi decidual na região Sul do estado de Goiás. Medidas em mm.

Espécies	Tamanho da corola		Altura do Estilete		Altura da Antera		Tamanho do Estilete		Tam. da antera		Separação estig/ant	
	Pin	Thrum	Pin	Thrum	Pin	Thrum	Pin	Thrum	Pin	Thrum	Pin	Thrum
<i>Psychotria colorata</i>	12,71 ± 0,84*	14,54 ± 1,67*	16,04 ± 0,73*	11,36 ± 1,13*	12,07 ± 1,0*	16,69 ± 1,59*	1,49 ± 0,28*	2,23 ± 0,44*	2,3 ± 0,2*	2,03 ± 0,3*	3,97 ± 0,94*	5,33 ± 1,54*
<i>P. capitata</i>	8,88 ± 0,94 ^{ns}	8,80 ± 0,98 ^{ns}	12,06 ± 1,08*	8,02 ± 0,90*	7,97 ± 1,12*	12,33 ± 1,01*	1,37 ± 0,51*	2,57 ± 0,61*	1,65 ± 0,51 ^{ns}	1,85 ± 0,55 ^{ns}	4,09 ± 1,17 ^{ns}	4,31 ± 0,96 ^{ns}
<i>P. gracilentia</i>	4,50 ± 0,68*	3,55 ± 1,02*	5,93 ± 0,85*	3,06 ± 0,94*	4,40 ± 0,89*	5,50 ± 0,80*	1,1 ± 0,31*	0,82 ± 0,34*	1,49 ± 0,44 ^{ns}	1,57 ± 0,56 ^{ns}	1,52 ± 0,81*	2,44 ± 0,91*
<i>P. prunifolia</i>	11,36 ± 1,29		10,78 ± 1,21**		9,10 ± 1,2**		0,41 ± 0,37		2,30 ± 0,36		1,68 ± 1,06	
<i>P. hoffmansegianna</i>	4,49 ± 0,3*	4,70 ± 0,48*	5,65 ± 0,41*	3,55 ± 0,4*	4,29 ± 0,35*	4,86 ± 0,48*	0,66 ± 0,09*	1,10 ± 0,29*	1,02 ± 0,17 ^{ns}	1,26 ± 0,13 ^{ns}	1,36 ± 0,43 ^{ns}	1,31 ± 0,37 ^{ns}
<i>Palicourea croceoides</i>	12,73 ± 1,29*	14,46 ± 1,34*	12,71 ± 0,88*	9,66 ± 0,72*	9,49 ± 0,80*	13,94 ± 0,93*	3,64 ± 0,59*	3,92 ± 0,57*	2,18 ± 0,65*	3,14 ± 0,71*	3,22 ± 1,07*	4,29 ± 1,06*

* Diferença significativa $p < 0,05$ entre os morfos florais. ** Diferença significativa entre as estruturas reprodutivas espécie monomórfica. ^{ns} – diferença não significativa

Tabela 02 – Reciprocidade Intra e interespecífico entre os órgãos sexuais de seis espécies de Rubiaceae de sub bosque de Mata Estacional semi decidual no sul de Goiás. *Psychotria colorata* (CO), *P. capitata* (CA), *P. hoffmannsegianna* (HO), *P. gracilentia* (GR), *P. prunifolia* (PR) e *Palicourea crocea* (PA) calculado em uma população de cada espécie. A) Índice de Richards and Koptur (1993)* para órgãos altos (R_H) (anteras brevistiladas e estigmas longistilados) e órgãos baixos (R_L) (anteras longistiladas e estigma brevistiladas) separadamente e B) Índice de Sánchez et al. (2008) ** para ambos os níveis de órgãos combinados (R).

	CO	CA	HO	GR	PA	PR-CO	PR-CA	PR-PA	CO-PR	CO-CA	CO-PA	CA-PR	CA-CO	CA-PA	PA-PR	PA-CO	PA-CA
(A) Richarads & Koptur (1993) *																	
R - High organs	0.020	0.011	-0.076	-0.040	0.046	-0.280	-0.140	-0.170	0.230	0.160	0.130	0.080	-0.130	-0.020	0.140	-0.070	0.070
R - Low organs	0.030	-0.005	0.096	0.180	-0.009	-0.120	0.060	-0.040	0.070	0.200	0.110	-0.140	-0.180	-0.100	-0.050	-0.090	0.090
(B) Sánchez et al. (2008) **																	
R	0.89	0.856	0.723	0.287	0.892	0.209	0.716	0.657	0.355	0.522	0.782	0.362	0.312	0.73	0.541	0.567	0.841

* Nas análises de Richards e Koptur (1993), os valores variam de -1 a 1, sendo 0 hercogamia perfeita e quanto menor o valor maior a reciprocidade. Valores positivos indicam média das anteras é maior que dos estigmas e valores negativos indicam média dos estigmas é maior que das anteras. ** Nos testes de hercogamia recíproca interespecífica, o nome da primeira espécie indica que foram avaliados as anteras (Pin e Thrum) e o da segunda espécie os estigmas (Pin e Thrum); No caso da espécie *Psychotria prunifolia* (PR) foram avaliados somente indivíduos longi monomórficos - Quanto maior o valor mais recíproco são os órgãos, para o teste de Sánchez et al. (2008).

Avaliações estatísticas entre os órgãos recíprocos demonstraram diferença significativa em *P. colorata*; *P. gracilentia*; *P.hoffmannseggiana* e nos órgãos altos de *Palicourea croceoides*. Já em *Psychotria capitata*, e nos órgãos baixos de *Palicourea croceoides* a altura entre as peças reprodutivas recíprocas não demonstraram diferença significativa ($P < 0,001$) (**Figura 02**).

As avaliações interespecíficas da hercogamia recíproca não são comuns em trabalhos de distília, mas essa situação é particular devido a sobreposição de floração entre as espécies e o compartilhamento dos principais polinizadores, o que pode causar um grande desperdício de pólen, além de gerar barreiras pré-zigóticas como entupimento do estigma por pólen interespecífico ou tubos polínicos incompatíveis, gerando interferências reprodutivas, ou ainda possíveis pressões de hibridação, devido a proximidade filogenética entre as espécies avaliadas.

A avaliação demonstrou diferentes níveis de hercogamia recíproca interespecíficas, testados por dois métodos distintos. Avaliando-se a hercogamia recíproca pelo índice de Sánchez et al. (2008 v. 2.0) observou-se altos valores entre estames de *Palicourea croceoides*, com pistilos de *Psychotria capitata* ($R: 0,84$); estames de *P. colorata* com pistilo de *Palicourea croceoides* ($R: 0,78$); estames de *P. capitata* com pistilo de *Palicourea croceoides* ($R: 0,73$) e estames de *P. prunifolia* com pistilo de *P. capitata* ($R: 0,72$) (**Tabela 2 e Figura 03**). Já quando avaliamos a hercogamia pelo índice adaptado de Richards & Koptur (1993) de forma separada entre as alturas das peças reprodutivas, podemos encontrar também altos índices de reciprocidade (**Tabela 2 e Figura 03**), como por exemplo, avaliando os órgãos altos: estames de flores brevistiladas de *Psychotria capitata* com pistilo de flores longistiladas de *Palicourea croceoides* ($R_H: -0,02$) e também avaliando órgãos baixos: estames de flores longimonomórficas de *Psychotria prunifolia* com pistilo de flores brevistiladas de *Psychotria capitata* ($R_L: 0,05$) e de *Palicourea croceoides* ($R_L: -0,04$) além de estames de flores longistiladas de *Palicourea croceoides* com pistilo de flores longimonomórficas de *P. prunifolia* ($R_L: -0,05$) (**Tabela 02 e Figura 03**).

Quando se avaliou a relação entre o comprimento da corola e a altura das peças reprodutivas dentro do mesmo morfo, usando as inclinações das linhas de regressão, percebeu-se um determinado padrão, onde a corola influenciou grande parte dos morfos florais, somente o estigma do morfo brevistílico e longistílico de *P. capitata* e as anteras de flores longistílicas e o estigma de flores brevistílicas de *Palicourea croceoides* não sofreram influência da corola, todos os órgãos reprodutivos dos demais morfos, de todas as espécies sofreram essa influência (**Tabela 3, Figura 4**). Algo que pode ser percebido é que os estames sofrem maior influência do comprimento da corola do que o estigma, em todas as espécies e morfos que existe diferença na influência da corola na altura dos órgãos reprodutivos. É o caso de *P. capitata*, *P. colorata*, *P. prunifolia* e morfo brevistílico de *Palicourea croceoides*. Já para as espécies *P. hoffmannseggiana*, *P. gracilentia* e o morfo longistílico de *Palicourea croceoides* a

influência do comprimento da corola na altura das peças reprodutivas, dentro do mesmo morfo, não difere entre os órgãos (**Tabela 3, Figura 4**).

Na avaliação da reciprocidade através das inclinações das linhas de regressão, usando o comprimento da corola de um morfo, o estame desse mesmo morfo e o estigma do morfo oposto, várias situações podem ser descritas. Com relação à avaliação da hercogamia recíproca, usando a análise ANCOVA, percebeu-se que somente em *P. capitata* a hercogamia recíproca é confirmada tanto em órgãos altos (estigma de longistiladas e anteras de brevistiladas) quanto em órgãos baixos (estigma de brevistiladas e anteras de longistiladas), já em *Palicourea croceoides* somente no morfo longistílico foi evidenciado a hercogamia recíproca (**Tabela 4 e Figura 5**). Já quando avaliamos a influencia do comprimento da corola de um morfo, com a reciprocidade do outro morfo floral, podemos destacar que todas as espécies, tanto avaliando órgãos altos quanto avaliando órgãos baixos o comprimento da corola de um morfo, influencia o grau de reciprocidade com o outro morfo, demonstrando a importância da corola nessa questão (**Tabela 4**). Outra análise realizada e que trouxe resultados interessantes foi o grau de influência do comprimento da corola nos órgãos avaliados de forma intermorfo. Nesse caso buscamos definir se a corola influencia de forma igual a altura das anteras de um morfo e a altura do estigma do morfo oposto, demonstrando a reciprocidade. O resultado demonstrou que em todos os órgãos avaliados em todas as espécies, o comprimento da corola não influenciou de forma igual as peças reprodutivas, havendo apenas uma exceção, os órgãos altos de *Palicourea croceoides*. Em todas as espécies que houve diferença significativa na influência da corola na altura das peças reprodutivas, essa influência foi maior na altura das anteras (**Tabela 4 e Figura 5**).

Por fim com os testes realizados para a avaliação da razão entre morfos nas cinco espécies distílicas avaliadas, identificamos a isopletia em todas as espécies (**Tabela 4**).

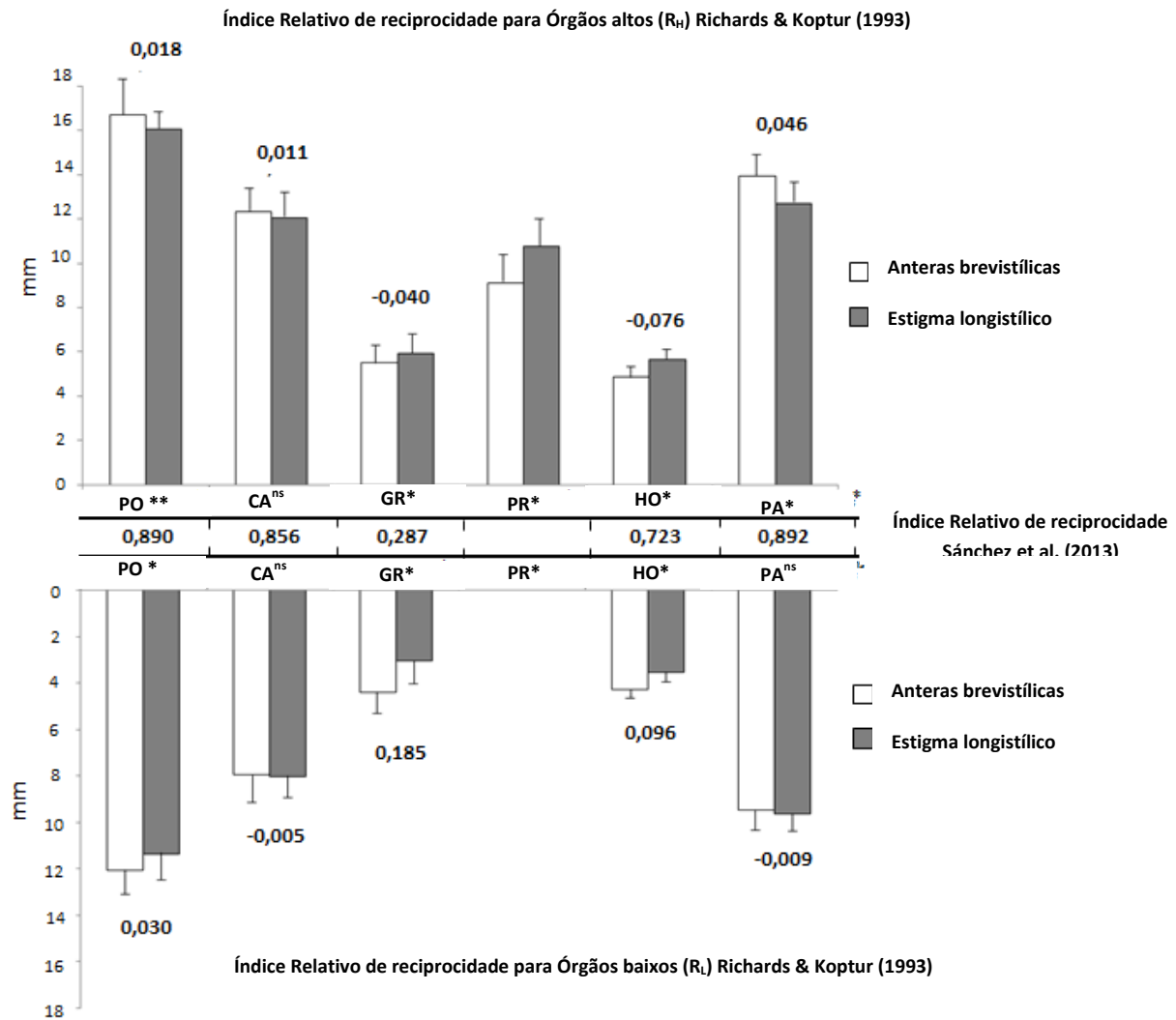


Figura 02 – Morfometria floral e hercogamia recíproca intraespecífica em seis espécies de Rubiaceae em área de Mata Estacional semi decidual na região Sul do estado de Goiás. *Psychotria colorata* (CO), *P. capitata* (CA), *P. gracilentia* (GR), *P. prunifolia* (PR), *P. hoffmannseggiana* (HO) e *Palicourea croceoides* (PA). As barras indicam altura das estruturas reprodutivas, barras claras indicam a altura das anteras e as barras cinzas a altura do estigma. Os valores acima das barras indicam o índice de Richards & Koptur (1993) tanto para órgãos baixos (R_L) quanto para órgãos altos (R_H). Nesta análise, os valores variam de -1 a 1, sendo 0 hercogamia perfeita e quanto menor o valor maior a reciprocidade. Valores positivos indicam média das anteras maior que dos estigmas e valores negativos indicam média dos estigmas maior que das anteras. Os valores posicionados na parte central, entre os dois gráficos, são o índice de Sánchez et al. (2008), onde quanto maior o valor, maior a reciprocidade, sendo avaliado de forma conjunta, definindo assim um índice único para a população amostrada. A hercogamia recíproca perfeita para o teste de Sánchez et al. (2008) é valor igual a 1. O asterisco a frente dos nomes das espécies indica diferença significativa entre as medidas morfométricas e a ausência de hercogamia recíproca perfeita de acordo com Faivre & McDade (2001) ($P < 0,001$).

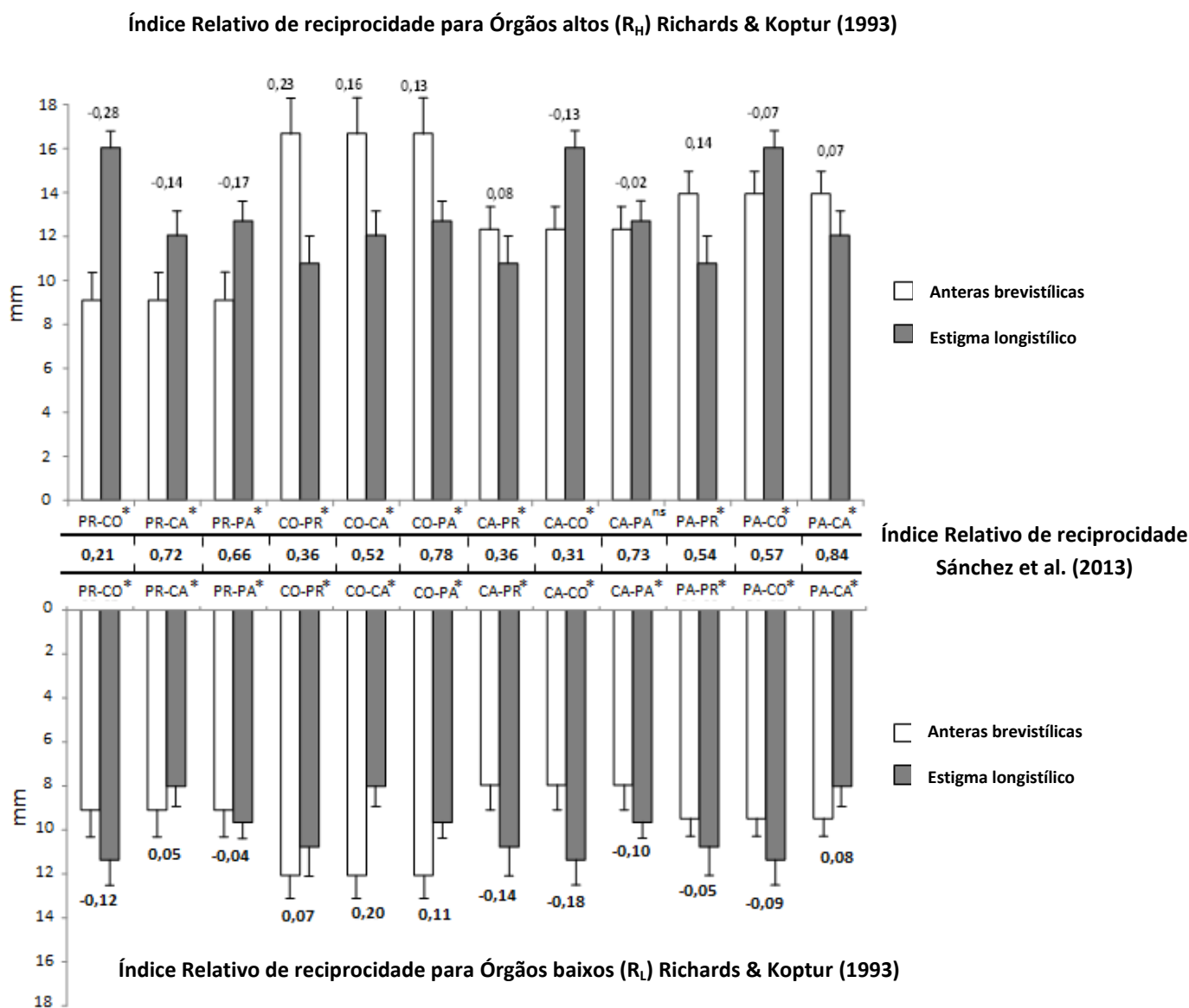
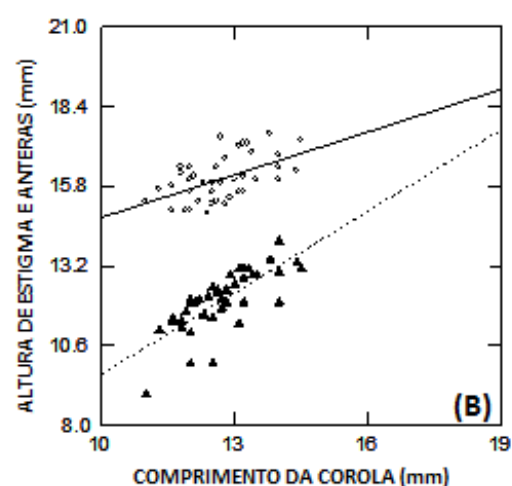
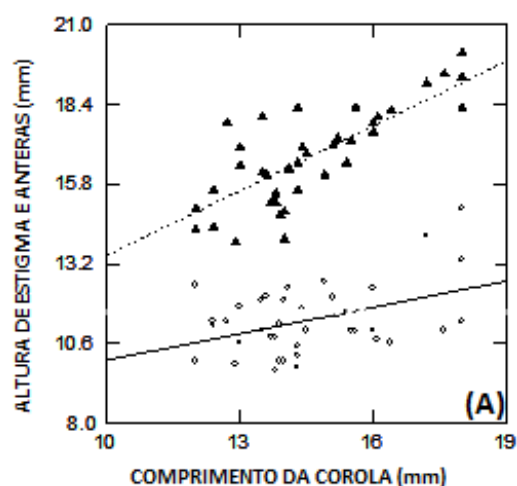
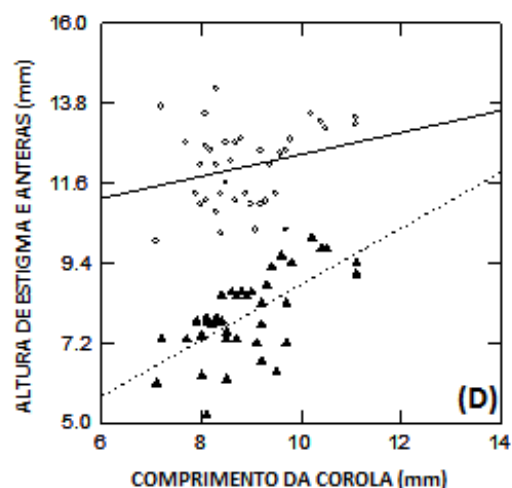
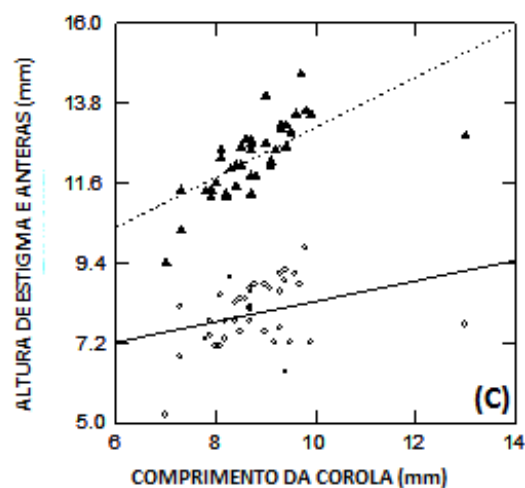
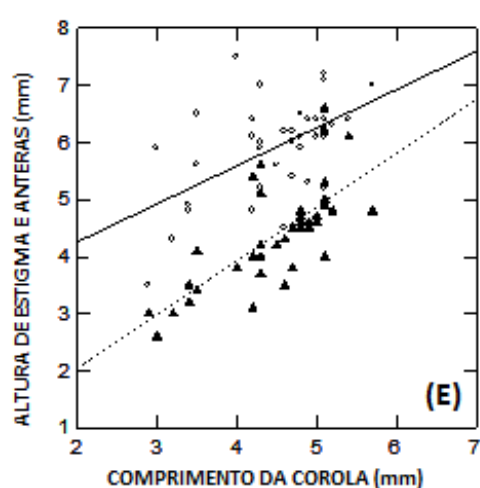
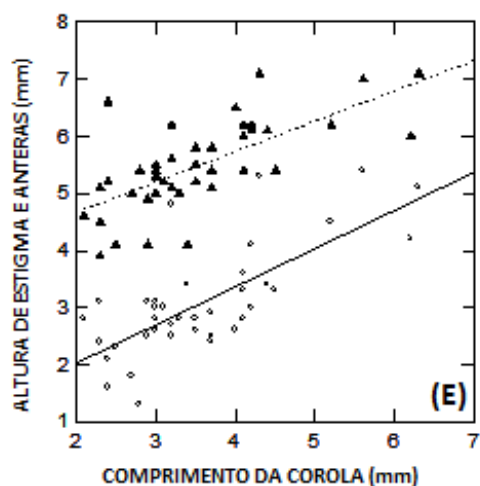


Figura 03 – Morfometria floral e hercogamia interespecífica em quatro espécies de Rubiaceae em área de Mata Estacional semi decidual na região Sul do estado de Goiás. As barras indicam altura das estruturas reprodutivas, onde o primeiro nome (barras claras) indica altura das anteras de uma espécie e o segundo nome (barras cinzas) altura do estigma de outra espécie (ex. CO-PR). *Psychotria colorata* (CO); *Psychotria prunifolia* (PR); *Psychotria capitata* (CA) e *Palicourea croceoides* (PA). Os valores acima das barras indicam o índice de Richards & Koptur (1993) tanto para órgãos baixos (R_L) quanto para órgãos altos (R_H). Nesta análise, os valores variam de -1 a 1, sendo 0 hercogamia perfeita e quanto menor o valor maior a reciprocidade. Valores positivos indicam média das anteras maior que dos estigmas e valores negativos indicam média dos estigmas maior que das anteras. Os valores posicionados na parte central, entre os dois gráficos, são o índice de Sánchez et al. (2008), onde quanto maior o valor, maior a reciprocidade, sendo avaliado de forma conjunta, definindo assim um índice único para a população amostrada. A hercogamia recíproca perfeita para o teste de Sánchez et al. (2008) é valor igual a 1. O asterisco a frente dos nomes das espécies indica diferença significativa entre as medidas morfométricas e a ausência de hercogamia recíproca perfeita de acordo com Faivre & McDade (2001) ($P < 0,001$).

Tabela 03 – Análise de regressão da altura da antera e do estigma sobre o comprimento da corola para flores longistiladas (L) e flores Brevistiladas (B) em seis espécies de Rubiaceae em área de Mata Estacional semidecidual na região Sul do estado de Goiás. Coluna Inclinação: * a corola não interfere na altura do órgão. Valores de *F* e *p* da análise ANCOVA para comparação entre as inclinações das linhas de regressão da altura das anteras e estigma, comparado com a corola dentro de cada morfo floral. Valores <0,05 indicam que a corola influencia de forma diferente os órgãos reprodutivos.

Espécie	Corola do morfo	Órgão floral	Inclinação	Órgão floral x Corola	
				<i>F</i>	<i>p</i>
<i>Psychotria colorata</i>	B	Antera B	0,706	10.030	0,003
	B	Estigma B	0,286		
	L	Antera L	0,891	6.53	0,014
	L	Estigma L	0,465		
<i>P. capitata</i>	B	Antera B	0,691	8.013	0,007
	B	Estigma B	0,281 *		
	L	Antera L	0,774	6.438	0,015
	L	Estigma L	0,301 *		
<i>P. gracilentia</i>	B	Antera B	0,537	0.915	0,344
	B	Estigma B	0,671		
	L	Antera L	0,944	2.183	0,147
	L	Estigma L	0,668		
<i>P. hoffmannseggiana</i>	B	Antera B	0,826	2.824	0,101
	B	Estigma B	0,621		
	L	Antera L	0,818	1.335	0,255
	L	Estigma L	0,554		
<i>P. prunifolia</i>	L	Antera L	0,611	4.447	0,040
	L	Estigma L	0,363		
<i>Palicourea croceoides</i>	B	Antera B	0,441	28.882	<0,001
	B	Estigma B	-0,070 *		
	L	Antera L	0,154 *	2.490	0,123
	L	Estigma L	0,359		

Psychotria colorata*Psychotria capitata**Psychotria gracilentia*

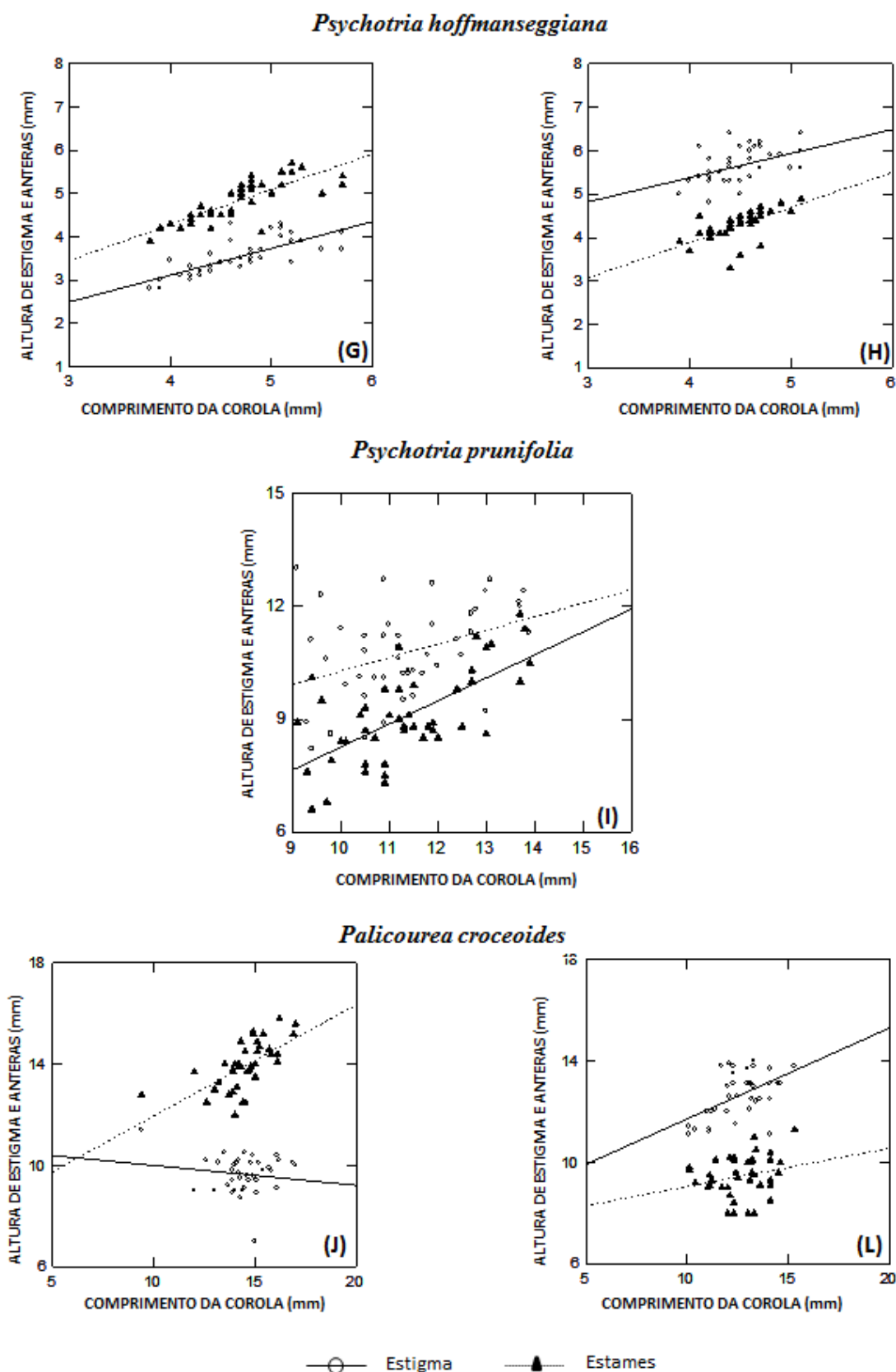
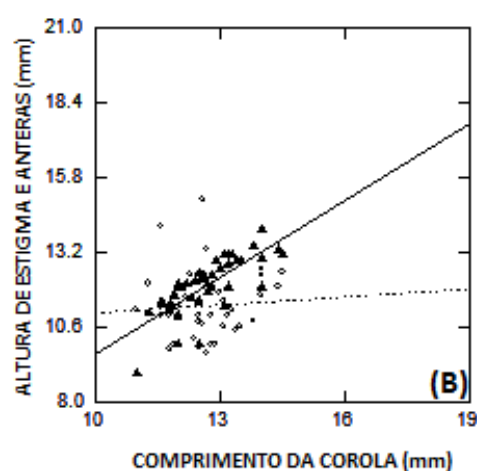
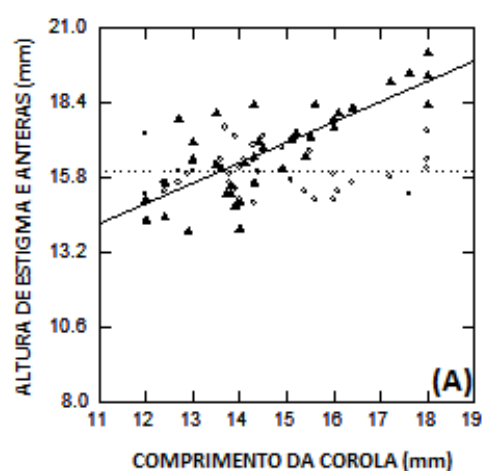
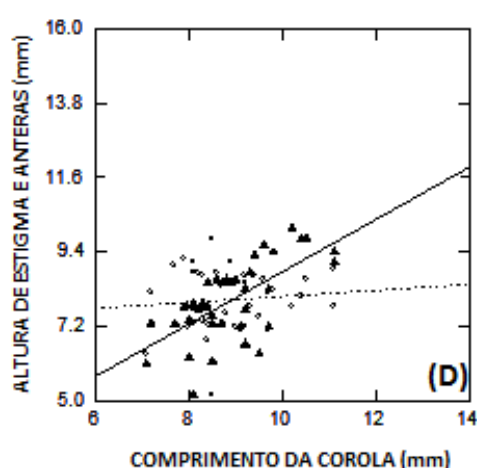
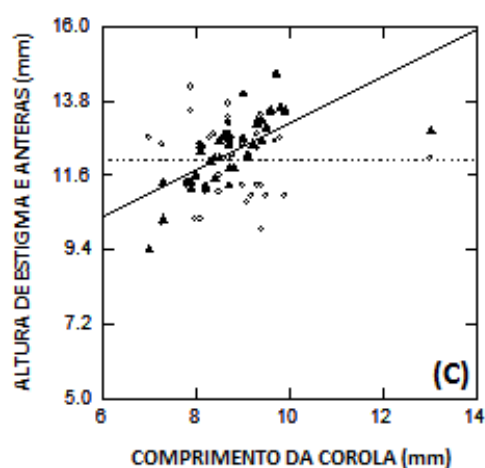
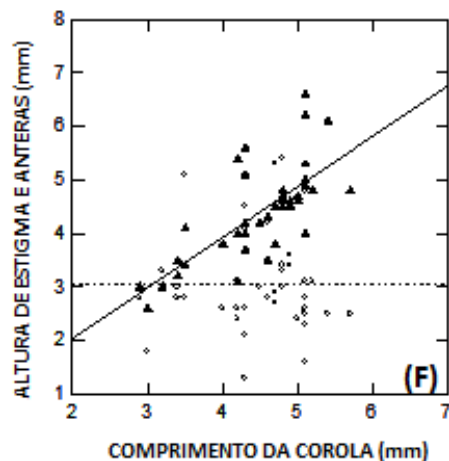
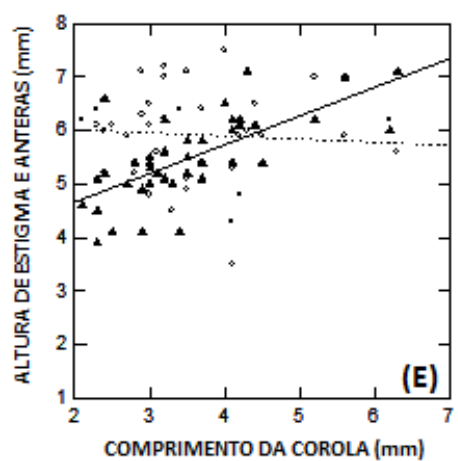


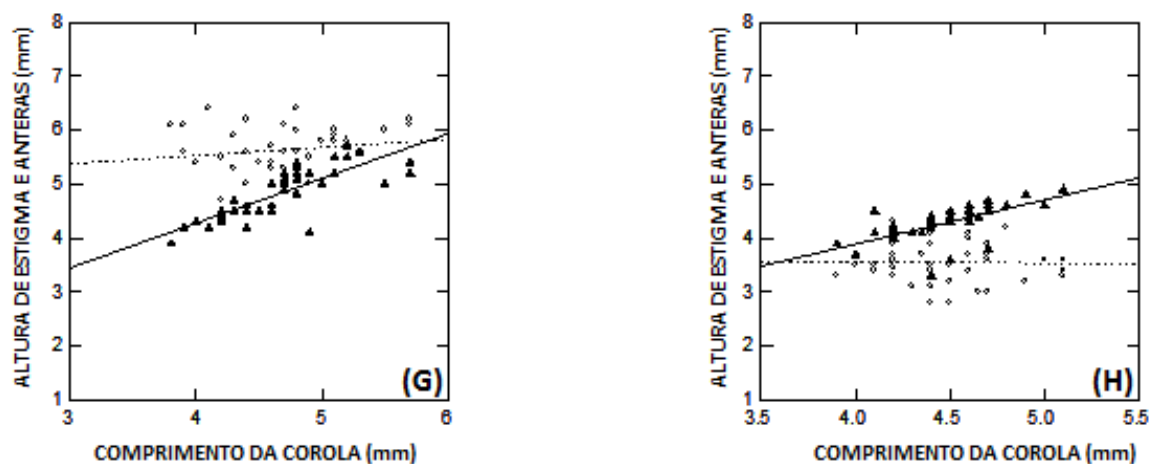
Figura 4 – Relação entre o tamanho da corola e a altura das peças reprodutivas (anteras e estigma) em seis espécies de Rubiaceae do sub bosque de formações florestais na região sul do estado de Goiás. **A-B:** *P. colorata*; **C-D:** *P. capitata*; **E-F:** *P. gracilentia*; **G-H:** *P. hoffmanseggiana*; **I:** *P. prunifolia*; **J-L:** *Palicourea croceoides*; Nos gráficos **A, C, E, G e J** avaliou-se a influência da corola na altura das peças reprodutivas sexuais no morfo brevistílico. Nos gráficos **B, D, F, H, I e L** avaliou-se a influência da corola na altura das peças sexuais no morfo longistílico.

Tabela 04. Reciprocidade, Influência da corola na altura dos órgãos reprodutivos e na hercogamia recíproca, e isopletia das espécies em cinco espécies de Rubiaceae em área de Mata Estacional semi decidual na região Sul do estado de Goiás. R*: Índice calculado por Sánchez *et al* 2013*, homogeneidade da ANCOVA para os modelos de inclinação** e valores do teste Qui-quadrado análise da isopletia***. L=Longistilo e B=Brevistilo.*Quanto mais próximo de um, mais a espécie possui hercogamia recíproca; Reciprocidade**: Valores com o $p > 0,05$ indica hercogamia recíproca. Influência da corola**: Valores com o $p < 0,05$ indica que há influência do comprimento da corola sobre a hercogamia recíproca; Órgão x corola**: valores com o $p > 0,05$ indica que o comprimento da corola interage de forma semelhante para os órgãos florais.

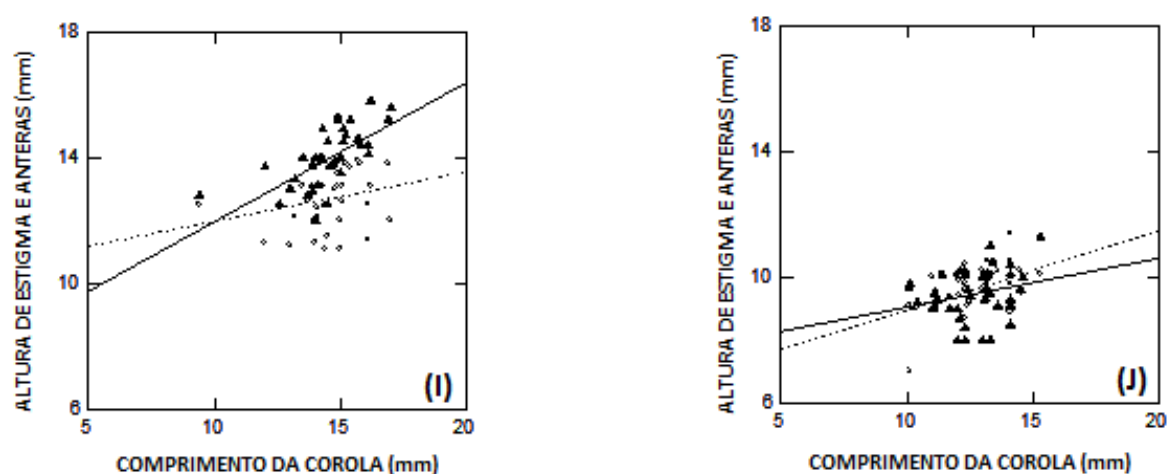
Espécie	R*	Reciprocidade**				Influência da corola**				Órgão X Corola**				Isopletia***		
		Antera	Estigma	F	p	Antera	Estigma	F	p	Antera	Estigma	F	p	Relação (L:B)	X ²	P
<i>P. colorata</i>	0,89	L	B	11.596	0,0016	L	B	15.406	0,0004	L	B	9.944	0,0031	96 : 115	1.711	0,21
		B	L	9.821	0,0033	B	L	31.684	0,0001	B	L	31.631	<0,001			
<i>P. capitata</i>	0,85	L	B	0.101	0,75	L	B	11.215	0,0018	L	B	20.190	0,0001	251 : 297	3.861	0,05
		B	L	1.705	0,19	B	L	9.653	0,0036	B	L	10.925	0,0021			
<i>P. gracilentia</i>	0,28	L	B	54.9995	<0,001	L	B	12.5255	0,0011	L	B	12.3448	0,0012	12 : 14	0.154	0,84
		B	L	6.677	0,013	B	L	8.293	0,006	B	L	13.187	0,0008			
<i>P. hoffmannseggiana</i>	0,72	L	B	98.015	<0,001	L	B	9.575	0,003	L	B	11.048	0,002	54 : 63	0.692	0,46
		B	L	99.821	<0,001	B	L	33.764	<0,001	B	L	15.805	<0,001			
<i>Palicourea croceoides</i>	0,89	L	B	1.126	0,29	L	B	10.470	0,0025	L	B	0.601	0,443	16 : 15	0.032	1,0
		B	L	82.912	<0,001	B	L	13.910	0,0006	B	L	7.532	0,009			

Psychotria colorata*Psychotria capitata**Psychotria gracilentia*

Psychotria hoffmanseggiana



Palicourea croceoides



—○— Estigma —▲— Estames

Figura 5 – Relação entre o tamanho da corola; a altura das peças reprodutivas (antras e estigma) e hercogamia recíproca em seis espécies de Rubiaceae do sub bosque de formações florestais na região sul do estado de Goiás. **A-B:** *P. colorata*; **C-D:** *P. capitata*; **E-F:** *P. gracilentia*; **G-H:** *P. hoffmanseggiana*; **I-J:** *Palicourea croceoides*; Nos gráficos **A, C, E, G e I** avaliou-se a influência da corola na altura das peças reprodutivas recíprocas altas (estames de flores brevistilas e estigma de flores longistilas, com corola de flores brevistiladas). Nos gráficos **B, D, F, H e J** avaliou-se a influência da corola na altura das peças reprodutivas recíprocas baixas (estames de flores longistilas e estigma de flores brevistilas, com corola de flores longistiladas).

3.6 - Discussão

A separação estigma antera, característica favorável no processo de cruzamento e na caracterização da distília, apresenta uma variação interessante, sendo significativamente maior no morfo brevistílico em três das cinco espécies distílicas avaliadas, o que vem sendo descrito em diversos trabalhos e pode afetar diretamente o grau de hercogamia recíproca entre os morfos florais, pois dificulta a reciprocidade das peças reprodutivas (FAIVRE & MCDADE 2001), e consequentemente a capacidade reprodutiva.

Discutir a eficiência de uma hercogamia é algo que vários pesquisadores já tentaram, visto que de acordo com Barrett (1992) a hercogamia recíproca é uma das características básicas para se considerar uma espécie distílica. Baseado nessa observação, nenhuma das espécies estudadas apresentaria distília, visto que nenhuma delas apresentou hercogamia recíproca perfeita. Mas vários trabalhos destacaram que mesmo com uma hercogamia não perfeita o fluxo de pólen intermorfo pode ocorrer (FAIVRE & MCDADE 2001; CASTRO & ARAÚJO 2004; TEIXEIRA & MACHADO 2004b). A eficiência da hercogamia recíproca pode, no entanto, ser reduzida ou perdida quando uma variação substancial no posicionamento dos estigmas e anteras ocorre (ARROYO & BARRETT 2000), levando a uma menor eficiência de transferência de pólen pelos polinizadores (FAIVRE & MACDADE 2001; WU et al. 2010), como é o caso da espécie *Psychotria gracilenta*, que já foi citada como sendo monomórfica em outra área (OLIVEIRA 2008), e para esse trabalho apresentou um baixo índice de reciprocidade. Podemos citar ainda a espécie *Psychotria hoffmannseggiana* que se apresentou distílica típica no presente trabalho e se mostrou como monomórfica no Panamá (SAKAI & WRIGTH 2008), além das variações nos graus de hercogamia evidenciadas nas espécies estudadas. Além dessas questões, vale a pena citar a sobreposição de floração e o compartilhamento dos visitantes florais em quatro das seis espécies avaliadas, além do alto grau de hercogamia recíproca interespecífica identificada entre os morfos florais das espécies estudadas, o que pode acarretar um fluxo interespecífico de pólen e uma redução na fecundidade devido a contaminação por pólen de outras espécies, resultado similar foi descrito por Keller et al. (2012).

Algumas espécies do estudo apresentaram diferenças nos graus de hercogamia intrafloral entre os morfos (ver capítulo 4). Essas variações são também citadas por Cesaro et al. (2004) e Valois-Cuesta et al. (2011a) que destacam em seus estudos, que se houver diferença nos graus de hercogamia entre os morfos florais, as taxas de autopolinização e auto interferência será maior no morfo em que a hercogamia seja menor, ou seja, no morfo que a distância entre as peças sexuais sejam menores. O que pode ser avaliado no trabalho de Thompson et al. (2012) e podemos perceber para a espécie *Psychotria prunifolia* neste estudo, que se mostrou monomórfica e autocompatível e com uma reduzida distância entre o

estigma e as anteras.

Outra informação muito interessante e que pode ser observada neste estudo é a grande variação nos graus de reciprocidade entre a altura dos órgãos reprodutivos. Por exemplo, das cinco espécies distílicas avaliadas, todas apresentaram diferença nos graus de hercogamia recíproca entre os órgãos altos e órgãos baixos. Dados como este já foram descritos em diversos trabalhos (RICHARDS & KOPTUR, 1993; THOMPSON & DOMMÉE, 2000; HERNÁNDEZ & ORNELAS, 2007; ZHU et al. 2009; KELLER et al. 2012) e podem influenciar a fecundidade das espécies.

A diferença na quantidade de produção de pólen entre os morfos, além das diferenças específicas de acessibilidade do pólen e/ou estigma entre os morfos pelo polinizador (LAU & BOSQUE 2003), características observadas em vários trabalhos com Rubiaceae (COELHO & BARBOSA, 2003; 2004; CONSOLARO et al. 2009; 2011), juntamente com a ausência de especialização e fidelidade do polinizador e mudanças no comportamento de forrageamento (ARROYO & DAFNI 1995; WOLFE & BARRETT 1998; VALOIS-CUESTA et al. 2012), observado também em espécies deste estudo, pode levar a redução da eficiência de polinização legítima, e acarretar um fluxo assimétrico (LLOYD & WEBB 1992b; WU et al. 2010) e interespecífico (KELLER et al. 2012) de pólen, podendo a médio e longo prazo, alterar todo o sistema reprodutivo de uma população. Isso pode ser observado pelo elevado número de populações com distília atípica sendo descritas no bioma Cerrado (COELHO & BARBOSA 2003; CONSOLARO et al. 2005; OLIVEIRA 2008; CONSOLARO 2008; CONSOLARO et al. 2009; CONSOLARO et al. 2011, RODRIGUES E CONSOLARO 2013), podendo ser também a explicação do monomorfismo de *P. prunifolia* observada nesse trabalho e de *Psychotria gracilenta* observado em Araguari, MG (OLIVEIRA 2008).

Quando se pensa que a falta de polinizadores limita a oportunidade de cruzamento e o investimento reprodutivo (GARCÍA-CAMACHO & TOTLAND 2009), a autofecundação (sem a ajuda de polinizadores) pode aumentar a produção total de sementes, garantindo a reprodução (ECKERT et al. 2006; BODBYL-ROELS & KELLY 2011; BRAMOW et al. 2012). Esta estratégia seria uma forma de segurança reprodutiva apresentada pelas plantas e selecionada pelo ambiente para a manutenção das populações (FAUSTO-JR et al. 2001; MARTÉN-RODRIGUEZ & FENSTER 2010). Da mesma forma, autofecundação pode ser benéfica quando seus parceiros são escassos, como durante os processos de colonização (BAKER 1955; BRAMOW et al. 2012), e em termos geográficos ou ecologicamente quando os habitats são marginais (LLOYD, 1980; ZHOU et al. 2012), como o caso do estudo em fragmentos florestais. E uma característica que facilita esse processo são alterações em traços florais como a redução

da hercogamia entre os morfos florais (BODBYL-ROELS & KELLY 2011; BRAMOW et al. 2012), como apresentado pela espécie monomórfica autocompatível *Psychotria prunifolia*.

Algo novo que o trabalho traz, é a avaliação do grau de hercogamia interespecífica entre espécies que florescem no mesmo período e que compartilham os mesmos visitantes. Avaliação similar foi realizado por Keller et al. (2012), onde os autores destacaram as possíveis hibridações que ocorrem nas espécies e a redução do grau de hercogamia entre as mesmas. Após as avaliações, várias informações podem ser levantadas, visto que algumas espécies apresentam alto grau de reciprocidade entre seus órgãos reprodutivos o que poderia acarretar deposição de pólen interespecífico, gerando barreiras como “entupimento” do estigma com pólen, ou do estilete com tubos polínicos interespecíficos, reduzindo dessa forma a fecundidade (SHORE & BARRETT, 1984; WASER & PRICE, 1991; HARDER & BARRETT, 1995; SAGE et al., 1999, DAI & GALLOWAY 2011), tudo isso devido ao comportamento não especialista e pouco fiel dos visitantes, principalmente abelhas *Eulaema nigrata* e do esfingídeo *Aelopus titan*. Nesses casos, dimorfismo no tamanho do grão de pólen, tamanho da superfície estigmática, além do tamanho das papilas estigmáticas, entre os morfos e espécies, podem ser fundamentais para amenizar essa interferência por pólen interespecífico (REE 1997). E uma questão não avaliada, mas observada em três das seis espécies estudadas, é a zigomorfia floral, quando se observa a distribuição das anteras na corola, sendo estas, concentradas em apenas um lado da flor, o que pode influenciar a deposição do pólen no visitante e afetar a deposição no estigma.

O referido trabalho de Keller et al. (2012) além das avaliações morfométricas avaliou de forma morfológica um possível fluxo de pólen entre espécies do gênero *Primula*. Da mesma forma, nesse trabalho, os dados não demonstram a funcionalidade da hercogamia recíproca interespecífica, mas demonstram morfológicamente a possibilidade desse processo ocorrer, devido a fenologia de floração das espécies e também devido ao comportamento dos visitantes.

O trabalho de Jia & Tan (2012) estudando a variação do comprimento do estilete sobre a distância estigma-antera na espécie *Ixiolirion songaricum* (Amaryllidaceae) encontraram uma constituição diferenciada das peças reprodutivas. A espécie apresenta dois níveis de altura de anteras dentro da flor e um estilete que varia de altura entre os indivíduos. Os resultados do estudo mostraram que a maior parte dos indivíduos apresentava uma maior distância entre estigma-antera, e que essa distância foi negativamente relacionada com a deposição espontânea de autopólen e com a formação de sementes por autopolinização; mas foi positivamente correlacionada com a formação de sementes em polinizações naturais, ou seja, quanto maior a distância entre as peças reprodutivas, maior a deposição cruzada de pólen e menor a interferência entre as peças sexuais. Nesse caso a relação com os resultados encontrados

para as Rubiaceae é interessante, pois a reciprocidade interespecífica encontrada pode afetar diretamente uma deposição interespecífica de pólen e reduzir a fecundidade na população, mesmo sendo menor que a reciprocidade intraespecífica na maioria das espécies. Dado similar foi descrito no trabalho de Baena-Díaz et al., (2012), onde os autores descreveram que o aumento da reciprocidade entre os órgãos sexuais de populações distílicas, comparada com as populações tristílicas de *Oxalis alpina*, aumentaram em 30% a deposição de pólen legítimo no estigma, caracterizando mais uma vez a importância da reciprocidade no fluxo de pólen entre os morfos e também uma possível contaminação de pólen interespecífico entre espécies com alta reciprocidade entre seus órgãos sexuais (KELLER et al. 2012).

A partir dos dados observados com as espécies de Rubiaceae, podemos perceber então duas forças seletivas intra florais, uma que favorece o aumento da distância entre os verticilos sexuais, aumentando a hercogamia e ampliando o potencial de xenogamia (FERRERO et al. 2011b), é o caso das espécies distílicas como *Psychotria colorata* e *Palicourea croceoides*; e outra força que reduz a distância entre os verticilos e aumenta as chances de deposição de auto pólen (BODBYL-ROELS & KELLY 2011) como é o caso de *Psychotria prunifolia*. Ambas as forças seletivas com participação direta dos visitantes florais, através da intensidade e qualidade das visitas, como observado por Bramow et al. (2012). E, além disso, uma força seletiva interespecífica que pode moldar, desde padrões de floração até modificações na estrutura reprodutiva das flores, como o caso da hercogamia, também evidenciada nas espécies em estudo.

Outras observações pertinentes podem ser descritas com a falta de reciprocidade perfeita nas espécies avaliadas. Quando a reciprocidade é perfeita, independente da distância entre os verticilos, pensa-se em somente um local de deposição de pólen no corpo do visitante, isto pode restringir a deposição de pólen em qualquer estigma que não esteja na altura recíproca das anteras. Já quando existe uma reciprocidade não perfeita, espera-se uma deposição mais ampla de pólen no corpo do visitante o que acarretaria uma maior chance de deposição de pólen em estigmas de alturas distintas, podendo aumentar o fluxo simétrico de pólen entre os morfos (PÉREZ-BARRALES 2005). Mas nesse caso temos duas forças agindo de forma interfloral, uma que favorece a redução da reciprocidade para aumentar a amplitude de deposição de pólen no corpo do visitante e favorecer o fluxo simétrico de pólen e outra força que aumenta a reciprocidade (reciprocidade perfeita) e restringe a retirada e deposição de pólen em qualquer variação na altura das estruturas reprodutivas, tudo isso moldada por fatores ecológicos e tipo e comportamento dos visitantes.

Observação parecida já foi descrita por Vuilleumier (1967), onde o autor destaca que os sistemas reprodutivos em plantas são adaptativos e flexíveis em diferentes condições ambientais, e que os sistemas

sexuais semelhantes têm surgido por convergência. Além disso, o trabalho propõe que considerando a heterostilia como uma característica primitiva, ela evoluiria em duas direções: para uma dioícia ou uma subdioícia ou para a homostilia e autofertilidade, com grande participação dos visitantes florais nesses processos. Algo similar já havia sido proposto por Baker (1966), onde a heterostilia poderia ser o início ou uma situação atual em Plumbaginaceae. No caso das espécies estudadas podemos destacar que as variações nos graus de hercogamia e as variações dos sistemas distílicos, como o caso de *P. prunifolia* demonstram essa flexibilidade de resposta a variações ambientais, o que vários trabalhos já estão demonstrando (COELHO & BARBOSA 2003; CONSOLARO et al. 2005; OLIVEIRA 2008; CONSOLARO 2008; CONSOLARO et al. 2009; CONSOLARO et al. 2011, RODRIGUES E CONSOLARO 2013).

Uma discussão muito citada nos últimos anos é a forte integração fenotípica que as flores apresentam. Filogeneticamente falando, isso seria a relação entre o desenvolvimento e seleção dos vários polimorfismos de espécies distílicas. Isto causa certa confusão, pois as flores são consideradas, módulos com alta integração fenotípica, devido a restrições de arquitetura floral, correlações genéticas ou pressões seletivas para melhorar a deposição ou o carreamento de pólen (PÉREZ-BARRALES et al. 2007; ORDANO et al. 2008). Isso pode restringir fortemente a evolução independente da posição dos órgãos florais entre os morfos da flor (FERRERO et al. 2011a) e dificultar certas conclusões, com por exemplo as reais forças de seleção exercidas pelos polinizadores. O trabalho de Sánchez et al. (2010) cita que existe uma correlação positiva entre reciprocidade das peças florais com o nível de integração fenotípica floral, aumentando ainda mais a discussão.

Dessa forma a alta reciprocidade entre os morfos em espécies heterostílicas deve ser relacionada para um modo de polinização que deposite pólen em partes particulares do corpo do polinizador, com grande precisão, o que, por sua vez, devem determinar uma alta integração floral, considerando tanto órgãos sexuais florais como características vegetativas do perianto (FERRERO et al. 2011a), como o caso do tamanho da corola. Dados similares podem ser demonstrados nas espécies em estudo, onde as variações entre as estruturas reprodutivas e vegetativas são evidentes, mas ao mesmo tempo demonstram em alguns casos o contrário.

Os dados morfométricos das espécies estudadas, demonstraram que somente *P. capitata* não apresentou diferença significativa no tamanho da corola entre os morfos. As outras espécies estudadas apresentaram diferença significativa no tamanho do tubo da corola, exceto *P. prunifolia* que é monomórfica. O tamanho da corola pode afetar o grau de hercogamia (HERNÁNDEZ & ORNELAS 2003), visto que todas as espécies estudadas apresentam estames epipétalos e isto pode alterar padrões de

fluxo de pólen (RICHARDS & KOPTUR 1993; PAILLER & THOMPSON 1997). Várias espécies deste estudo confirmaram esses dados. Ferrero et al. (2011b), avaliando a dificuldade de classificação entre os polimorfismos estilar e estudando os gêneros *Lithodora* e *Glandora* (Boraginaceae), destacam muito sobre a integração fenotípica presente nas flores e citam que o tamanho da corola, característica acessória da distília, pode afetar características primárias, como a altura dos órgãos sexuais, e por essa razão devem apresentar uma alta integração funcional, o que não é totalmente confirmado.

Das espécies analisadas, todas apresentaram uma influencia significativa da corola na altura das peças sexuais, com exceções para órgãos de morfos distintos de *Palicourea croceoides* e *Psychotria capitata*. Esse efeito do comprimento da corola na altura das peças reprodutivas de forma intrafloral, influenciou diretamente nos graus de reciprocidade em todas as espécies estudadas, confirmando dados de diversos outros trabalhos (FERRERO et al. 2011a; HERNÁNDEZ & ORNELAS 2003).

Thompson et al. (2012) também explicam a diferença de hercogamia encontrada em algumas populações da espécie *Narcissus assoanus*, no sul da Espanha, como sendo resultado de variações no tamanho total das corolas, o que afetaria o posicionamento das peças reprodutivas e alteraria o grau de hercogamia. Já na espécie tristílica *Narcissus triandrus*, Hodgins e Barrett (2008) conseguiram observar uma relação interessante entre a frequência dos morfos e uma variação significativa no tamanho da flor. Essa diferença pode provocar mudanças na reciprocidade das alturas de anteras e estigma e afetar todo o sistema de reprodução. Keller et al. (2012) avaliando espécies de *Primula* também observaram uma forte relação do posicionamento das peças reprodutivas e o tamanho da corola, e destacaram que no caso do posicionamento das anteras de flores brevistiladas a influência foi ainda maior. Dessa forma, a ausência de reciprocidade perfeita nas espécies estudadas pode ter uma relação direta com as variações no tamanho das corolas entre os morfos, como foi descrito para quatro das cinco espécies distílicas avaliadas, e isso afetar todo o mecanismo reprodutivo alterando caminhos evolutivos das espécies, como descrito por Santos-Gally et al. (2013).

Essa variação do tamanho das corolas pode explicar a variação no grau de hercogamia nas espécies de Rubiaceae estudadas, já que demonstraram diferença entre os morfos, ou seja, órgãos altos são mais ou menos recíprocos que órgãos baixos e vice-versa (FERRERO et al. 2011a). Isto pode afetar diretamente o padrão de fluxo de pólen entre os morfos e consequentemente as taxas de reprodução.

Outro resultado interessante foi obtido na avaliação dos efeitos do comprimento da corola entre anteras e estigma, ou seja, comparar se existe diferença na influencia da corola entre as peças reprodutivas. Avaliando a hercogamia em morfos separadamente, sem avaliar a reciprocidade, percebemos que em três das seis espécies houve diferença na influência da corola, sendo a altura das

antras mais influenciada do que a altura dos estigmas em *Psychotria capitata*, *P. colorata* e *P. prunifolia*, além do morfo brevistílico de *Palicourea croceoides*. Já nas espécies *Psychotria gracilentia*, *P. hoffmannseggiana* e morfo longistílico de *Palicourea croceoides*, a influencia da corola foi igual para os dois órgãos, deixando evidente que nenhuma das espécies demonstrou uma influencia da corola sendo maior para os estigmas. Esses dados ampliam a visão de que a corola também pode influenciar a altura do estigma como estudado por Hernández & Ornelas (2007). Esses autores, avaliando o efeito da corola na influencia do tamanho do estilete, visto que estes não estão diretamente ligados à corola, perceberam que os botões florais podem influenciar o tamanho do estilete, pois após a abertura da flor estes se alongam, e em flores longistílicas poderiam influenciar esse alongamento, já que os estiletos ficariam aprisionados até a abertura da flor, e o tamanho da corola afetaria esse comprimento final.

Ainda avaliando a hercogamia, agora entre os morfos, ou seja, avaliar se existe diferença da influência do comprimento da corola entre as peças sexuais de morfos distintos (órgãos altos e órgãos baixos), percebemos que somente nos órgãos baixos de *Palicourea croceoides* a influencia da corola foi similar, em todas as demais espécies essa influencia foi diferente, o que pode acarretar diferenças de hercogamia recíproca e problemas nos cruzamentos, como citado em diversos trabalhos (FERRERO et al. 2011a; HERNÁNDEZ & ORNELAS 2003).

Em trabalho com uma espécie distílica, polinizada por beija-flores, *Bouvardia ternifolia*, no México, Guzmán et al. (2012) avaliaram o padrão de deposição de pólen nos bicos dos beija flores e possíveis impactos na reprodução. Os autores encontraram variação no grau de hercogamia entre os morfos, sendo as antras de flores brevistilas mais recíprocas com o estigma de flores longistilas do que oposto, resultado também encontrado no trabalho de Keller et al. (2012). Os autores perceberam também que os locais de deposição de pólen sofre uma maior variação dependendo do tamanho do bico do visitante e do tipo de morfo visitado o que pode ter um papel interessante no processo de seleção de caracteres hercogâmicos, e nos dá um indício do que pode estar ocorrendo nas espécies em estudo, visto que muitas apresentaram diferenças de reciprocidade entre os morfos.

3.7 - Conclusão

Mesmo não sendo feito observações de fluxo de pólen no presente trabalho, podemos perceber que todas as variações encontradas no grau de reciprocidade entre os morfos podem afetar a deposição inter morfo e interespecífica, principalmente quando se relaciona com o tamanho da corola. Neste caso são necessárias avaliações mais detalhadas desse processo e futuros estudos comparando os graus de

reciprocidade e os níveis de fecundidade nas populações. Dessa forma uma simples variação nos graus de hercogamia recíproca pode funcionar como um primeiro passo, para a alteração de todo um sistema distílico, devido a alterações na retirada e deposição de pólen. Desvendar essas questões funcionais pode ser um ponto interessante para entender as variações de grupos distílicos e as reais influências de caracteres secundários, como a corola, na influência dessa reciprocidade.

3.8 - Referências bibliográficas

- ARROYO, J., & DAFNI A. 1995. Variation in habitat, season, flower traits, and pollinators in dimorphic *Narcissus tazetta* L. (Amaryllidaceae) in Israel. *New Phytologist* 129: 135–145.
- ARROYO, J., BARRETT, S. C. H. 2000. Discovery of Distyly In *Narcissus* (Amaryllidaceae). *American journal of botany*, 87(5), 748–751.
- BAENA-DIÁZ, J. FORNONI, P. SOSENSK, F. E. MOLINA-FREANER, S.G.WELLER, R. P.--I. & C. A. D. 2012. Changes in reciprocal herkogamy during the tristily–distily transition in *Oxalis alpina* increase efficiency in pollen transfer. *Journal of evolutionary biology*, 25, 574–583.
- BAKER, H. G. 1955. Self-compatibility and establishment after “longdistance” dispersal. *Evolution* 9: 347–348.
- BAKER, H.G. 1966. The evolution, functioning and breakdown of heteromorphic incompatibility systems I. The Plumbaginaceae. *Evolution* 18:507-512.
- BARRETT, S. C. H. & SHORE, J. S. 1987. Variation and evolution of breeding systems in *Turnera ulmifolia* L. complex (Turneraceae). *Evolution* 41: 340-354.
- BARRETT S. C. H. & SHORE J. S. 2008. New insights on heterostyly: comparative biology, ecology and genetics. In: Franklin-Tong V. E. (ed.). *Self-Incompatibility in Flowering Plants: Evolution, Diversity, and Mechanisms*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 3–32.
- BARRETT, S.C.H. 1992. Heterostylous genetic polymorphisms: model systems for evolutionary analysis. In:Barrett, S. C. H. (ed.). *Evolution and function of heterostyly*. Monographs on theoretical and applied genetics. Springer-Verlag. Berlin. p. 1-24.

- BODBYL-ROELS, S., & KELLY, J. K. 2011. Rapid evolution caused by pollinator loss in *Mimulus guttatus*. *Evolution; international journal of organic evolution*, 65(9), 2541–52
- BRAMOW, C., HARTVIG, I., LARSEN, S. B., & PHILIPP, M. 2012. How a heterostylous plant species responds to life on remote islands: a comparative study of the morphology and reproductive biology of *Waltheria ovata* on the coasts of Ecuador and the Galápagos Islands. *Evolutionary Ecology*. 1-18.
- BREMER, B. 2009. A Review of Molecular Phylogenetic Studies of Rubiaceae 1. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 96(1), 4–26.
- CASTRO C. C. & ARAÚJO A. C. 2004. Distyly and sequential pollinators of *Psychotria nuda* (Rubiaceae) in the Atlantic rain forest, Brazil. *Plant Systematics and Evolution* 244: 131–139.
- CESARO, A C., BARRETT, S. C. H., MAURICE, S., VAISSIERE, B. E., & THOMPSON, J. D. 2004. An experimental evaluation of self-interference in *Narcissus assoanus*: functional and evolutionary implications. *Journal of evolutionary biology*, 17(6), 1367–76.
- CESARO, A. C., & THOMPSON, J. D. 2004. Darwin's cross-promotion hypothesis and the evolution of stylar polymorphism. *Ecology Letters*, 7(12), 1209–1215.
- CHEN, M.-L., & ZHANG, X.-P. 2010. Distyly in *Polygonum jucundum* Meisn. (Polygonaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 288(3-4), 139–148.
- 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., 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: 24–320.
- DAI, C. & GALLOWAY, L. F. 2011. Do dichogamy and herkogamy reduce sexual interference in a self-incompatible species? *Functional ecology* 25, 271–278.
- DARWIN C.R. 1877. The different forms of flowers on plants of the same species. John Murray, London
- ECKERT, C.G., SAMIS, K.E. & DART, S. 2006 Reproductive assurance and the evolution of uniparental reproduction in flowering plants. *The Ecology and Evolution of Flowers* (eds L.D. Harder & S.C.H. Barrett), pp. 183–203. Oxford University Press, Oxford, UK.
- ENDELS, P., JACQUEMYN, H., BRYN, R., & HERMY, M. 2002. Changes in pin-thrum ratios in populations of the heterostyle *Primula vulgaris* Huds.: Does imbalance affect population persistence? *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 197(5), 326–331.
- FAIVRE, A.M. & 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.
- FAUSTO, JR, J. A.; ECKHART, V.M.; GEBER, M.A. 2001. Reproductive assurance and the evolutionary ecology of self-pollination in *Clarkia xantiana* (Onagraceae). *American Journal of Botany* 88(10): 1794–1800.
- FERRERO, V., ARROYO, J., CASTRO, S., & NAVARRO, L. 2011a. Unusual heterostyly: style dimorphism and self-incompatibility are not tightly associated in *Lithodora* and *Glandora* (Boraginaceae). *Annals of botany*, 109(3), 655–65.
- FERRERO, V., CHAPELA, I., ARROYO, J., & NAVARRO, L. 2011b. Reciprocal style polymorphisms are not easily categorised: the case of heterostyly in *Lithodora* and *Glandora* (Boraginaceae). *Plant biology* (Stuttgart, Germany), 13 Suppl 1, 7–18.
- GANDERS, F.R. 1979. The biology of heterostyly. *New Zealand Journal of Botany* 17: 607-635.

- GARCÍA-CAMACHO, R. & TOTLAND, O. 2009. Pollen limitation in the alpine: a meta-analysis. *Arctic, Antarctic and Alpine Research*, 41, 103–111.
- GUZMÁN, I. M.; LARA, C.; CASTILLO-GUEVARA, C. 2012. Transporte diferencial de polen por colibríes en una planta diestílica : no es lo mismo picos cortos que largos . *Huitzil*, 13(1), 74–82.
- HAMILTON, C.W. 1990. Variations on a distylous theme in Mesoamerican *Psychotria* subgenus *Psychotria* (Rubiaceae). *Memoirs of the New York Botanical Garden* 55: 65-75.
- HARDER LD, & BARRETT SCH. 1995. Mating cost of large floral displays in hermaphrodite plants. *Nature* 373: 512 515.
- HERNÁNDEZ A, & ORNELAS JF. 2003. Correlación morfo-específica en flores de *Palicourea padifolia* (Rubiaceae). *Boletín de la Sociedad Botánica de México* 73: 35–41.
- HERNÁNDEZ-RAMÍREZ A.M. 2012. Distyly, Floral Visitors, and Fructification in 2 Natural Populations of *Psychotria nervosa* (Rubiaceae). *Ecoscience* 19(2):133-139. 2012
- HERRERA, C. M. 1987. Components of Pollinator “Quality”: Comparative Analysis of a Diverse Insect Assemblage. *Oikos*, 50(1), 79.
- HODGINS K.A., BARRETT S.C.H. 2008. Asymmetrical mating patterns and the evolution of biased morph ratios in a tristylous daffodil. *Genet Res* 90:3–15
- JIA, J., & TAN, D. Y. 2012. Variation in style length and anther–stigma distance in *Ixiolirion songaricum* (Amaryllidaceae). *South African Journal of Botany*, 81, 19–24.
- KELLER, B., DE VOS, J. M., & CONTI, E. 2012. Decrease of sexual organ reciprocity between heterostylous primrose species, with possible functional and evolutionary implications. *Annals of botany*, 1–12.
- KOHN, J., & BARRETT, S. C. H. 1992. Experimental Studies on the Functional Significance of Heterostyly. *Evolution*, 46(1), 43–55.
- KÖPPEN, W.; GEIGER, R. 1928. *Klimate der Erde*. Gotha: Verlag Justus Perthes. Wall-map 150cmx200cm.

- LAU, P., & BOSQUE, C. 2003. Pollen flow in the distylous *Palicourea fendleri* (Rubiaceae): an experimental test of the Disassortative Pollen Flow Hypothesis. *Oecologia*, 135(4), 593–600.
- LLOYD, D. G. 1980. Demographic factors and mating patterns in Angiosperms. In O. T. Solbrig [ed.], *Demography and evolution in plant populations*, 67–88. Blackwell, Oxford, UK
- LLOYD D. G. & WEBB C. J. 1992a The evolution of heterostyly. In: Barrett S. C. H. (ed.). *Evolution and Function of Heterostyly*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 151–178.
- LLOYD D. G. & WEBB C. J. 1992b The selection of heterostyly. In: Barrett S. C. H. (ed.). *Evolution and Function of Heterostyly*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 179–207.
- MARTÍN-RODRÍGUEZ, S. & FENSTER, C.B. 2010. CHARLES B. Pollen limitation and reproductive assurance in Antillean Gesneriaceae: a specialists vs. generalist comparison. *Ecology*, 91(1), 2010, pp. 155–165
- MARUYAMA, P. K., AMORIM, F. W., & OLIVEIRA, P. E. 2010. Night and day service: Distyly and mixed pollination system in *Faramea cyanea* (Rubiaceae). *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 205(12), 818–824.
- MEDRANO, M., HERRERA, C. M., & BARRETT, S. C. H. 2005. Herkogamy and mating patterns in the self-compatible daffodil *Narcissus longispathus*. *Annals of botany*, 95(7), 1105–11.
- OLIVEIRA, A.S. 2008. Biologia reprodutiva de *Psychotria* L. (Rubiaceae) em floresta estacional semidecidual no sudeste brasileiro. Dissertação de Mestrado. Unicamp.
- ORDANO M, FORNONI J, BOEGE K, DOMÍNGUEZ CA. 2008. The adaptive value of phenotypic floral integration. *New Phytologist* 179: 1183–1192.
- PAILLER, T., & THOMPSON, J. D. 1997. Distyly and Variation in Heteromorphic Incompatibility in *Gaertnera vaginata* (Rubiaceae) Endemic To La Reunion Island. *American journal of botany*, 84(3), 315–327.
- PÉREZ-BARRALES R, ARROYO J, ARMBRUSTER WS. 2007. Differences in pollinator faunas may generate geographic differences in floral morphology and integration in *Narcissus papyraceus* (Amaryllidaceae). *Oikos* 116: 1904–1918.

- PÉREZ-BARRALES, R. 2005. La evolución de la heterostilia en *Narcissus*: análisis macro y microevolutivo. Tesis de Doctorado. Universidad de Sevilla.
- REE, R. H. 1997. Pollen Flow , Fecundity , and the Adaptive Significance of Heterostyly in *Palicourea padifolia* (Rubiaceae). *Biotropica*, 29(3), 298–308.
- RICHARDS, J.H. & KOPTUR, S. 1993. Floral Variation and distyly in *Guettarda scraba* (Rubiaceae). *American Journal of Botany* 80:31-40
- RODRIGUES, E. B., & CONSOLARO, H. 2013. Atypical distyly in *Psychotria goyazensis* Mull . Arg . (Rubiaceae), an intramorph self-compatible species. *Acta Botanica Brasilica*, 27(1), 155–161.
- SAGE T.L., STRUMAS F., COLE W.W., BARRETT S.C.H. 1999. Differential ovule development following self- and cross-pollination: The basis of self-sterility in *Narcissus triandrus* (Amaryllidaceae). *American Journal of Botanical* 86: 855 870.
- SAKAI S. & WRIGHT S. J. 2008. Reproductive ecology of 21 coexisting *Psychotria* species (Rubiaceae): heterostyly lost? *Biological Journal of the Linnean Society* 93: 125–134.
- SAMPSON, D. A., & KREBS, R. A. 2012. Quantitative evaluation of reciprocal herkogamy in the distylous species, *Hedyotis caerulea* (Rubiaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 298(7), 1361–1370.
- SÁNCHEZ, L.M., FERRERO, V, NAVARRO, L. 2013. Quantifying reciprocity in distylous and tristylous plant populations. *Plant Biology* 15, 616-620.
- SÁNCHEZ, 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(3), 463–72.
- SÁNCHEZ, J. M., FERRERO, V., ARROYO, J., & NAVARRO, L. 2010. Patterns of style polymorphism in five species of the South African genus *Nivenia* (Iridaceae). *Annals of botany*, 106(2), 321–31.
- SANTOS-GALLY, R., GONZALEZ-VOYER, A., & ARROYO, J. 2013. Deconstructing Heterostyly: the Evolutionary Role of Incompatibility System, Pollinators, and Floral Architecture. *Evolution*, 1-

- SHORE J.S., BARRETT S.C.H. 1984. The effect of pollination intensity and incompatible pollen on seed set in *Turnera ulmifolia* (Turneraceae). *Canadian Journal of Botany* 62: 1298–1303.
- THOMPSON, J. D., CESARO, A. C., & ARROYO, J. 2012. Morph Ratio Variation and Sex Organ Reciprocity in Style-Dimorphic *Narcissus assoanus*. *International Journal of Plant Sciences*, 173(8), 885–893.
- THOMPSON JD, DOMMÉE B, 1993. Sequential variation in the components of reproductive success in the distylous *Jasminum fruticans*. *Oecologia* 94:480–487
- 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., SORIANO, P. J., & ORNELAS, J. F. 2011. Dimorphisms and self-incompatibility in the distylous species *Palicourea demissa* (Rubiaceae): possible implications for its reproductive output. *Journal of plant research*, 124(1), 137–46.
- VALOIS-CUESTA, H., SORIANO, P. J., & ORNELAS, J. F. 2012. Gender specialization in *Palicourea demissa* (Rubiaceae), a distylous, hummingbird-pollinated treelet. *Plant Systematics and Evolution*, 298(5), 975–984.
- VUILLEUMIER, B.S. 1967. The origin and evolutionary development of heterostyly in the angiosperms. *Evolution* 21:210–226.
- WASER NM, PRICE MV. 1991. Reproductive costs of self-pollination in *Ipoimopsis aggregata* (Polemoniaceae). *American Journal of Botany* 78: 1036–1043.
- WEBB, C.J. & LLOYD, D.G. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in Angiosperms II. *Hecogamy*. *New Zealand Journal of Botany* 24:163–178
- WOLFE LM, BARRETT SCH 1988 Temporal changes in the pollinator fauna of tristylous *Pontederia cordata*, an aquatic plant. *Can J. Zool* 66:1421–1424
- WU, X., LI, A, & ZHANG, D. 2010. Cryptic self-incompatibility and distyly in *Hedyotis acutangula* Champ. (Rubiaceae). *Plant biology (Stuttgart, Germany)*, 12(3), 484–94.

- ZHOU, W., BARRETT, S. C. H., WANG, H., & LI, D. Z. 2012. Loss of floral polymorphism in heterostylous *Luculia pinceana* (Rubiaceae): a molecular phylogeographic perspective. *Molecular ecology*, 21, 4631–4645.
- ZHU, S., SONG, J., HU, Z., TAN, B., XIE, Z., YI, H. AND DENG, X. 2009. Ploidy variation and genetic composition of open-pollinated triploid citrus progenies. *Bot. Stud.* 50: 319-324.

CAPÍTULO 4

**REDUÇÃO DA HERCOGAMIA EM POPULAÇÕES MONOMÓRFICAS DE
PLANTAS DISTÍLICAS. SERÁ UM CAMINHO PARA A HOMOSTILIA ?**

4.1 - Resumo

Uma das principais características da heterostilia é a hercogamia entre as partes sexuais, que nada mais é do que a distância entre estigma e anteras dentro da mesma flor. Quanto maior a hercogamia intrafloral menor a interferência direta entre as peças sexuais masculinas e feminina e menor a deposição de auto pólen no estigma. Em populações distílicas essa hercogamia tende a ser recíproca, favorecendo o fluxo simétrico de pólen. Variações nos graus de hercogamia intrafloral e consequentemente na reciprocidade pode ser o início de um processo de alteração de todo sistema distílico, formando populações e/ou espécies variantes, como o monomorfismo e a homostilia. O objetivo do estudo foi avaliar os graus de hercogamia em populações de Rubiaceae, comparando entre populações distílicas típicas, monomórficas e homostílicas, buscando indícios de alterações nos mecanismos reprodutivos. Para tal foi avaliado 80 flores (40 de cada morfo) de cinco espécies distílicas e 45 flores de uma espécie monomórfica, obtendo-se valores de altura dos estames, altura dos pistilos e tamanho da corola. Além disso, foi realizado um levantamento bibliográfico em trabalhos com espécies de Rubiaceae, onde foi avaliado o sistema reprodutivo e morfometria floral. Os dados foram tabulados e obteve-se a medida da altura dos estames e altura dos pistilos de 132 populações de 101 espécies de Rubiaceae. Esses dados foram comparados com a porcentagem equivalente ao tamanho da corola, para possível comparação entre espécies com tamanho de corola diferente. Os indivíduos brevistílicos apresentaram uma maior separação entre estigma/antera, comparado com a corola em 74 (56%) das 132 populações distílicas registradas, enquanto que o morfo longistílico apresentou hercogamia maior em 58 (44%) das populações amostradas. As populações monomórficas apresentaram uma redução de 50% da separação estigma/antera quando comparados com as populações distílicas, e as populações homostílicas reduziram em mais de 90% essa separação, comparado com populações distílicas. Os dados demonstram uma tendência evolutiva para a redução da separação estigma/antera (hercogamia) a medida que as populações se alteram de distílicas típicas para monomórficas e homostílicas. Esse comportamento pode ser resultado de pressões de seleção e estratégias de segurança reprodutiva para a manutenção das populações.

Palavras-chave: Hercogamia, distilia, *Psychotria*, *Palicourea*, Rubiaceae

4.2 - Abstract

One of the main characteristics of the heterostyly is the herkogamy among the sexual structures, which is nothing else than the distance between anthers and stigma inside of the same flower. The larger the herkogamy, the smaller the intrafloral direct interference among the male and female structures and the smaller the deposition of self pollen on the stigma. In distylous populations, herkogamy tends to be reciprocal, favoring the symmetrical pollen flow. Variations in the degrees of intrafloral herkogamy and consequently in the reciprocity can be the beginning of changes of distylous systems leading to the monomorphic and homostylous populations and/or variant species. The objective of the study was to evaluate the degree of herkogamy in populations of Rubiaceae, comparing populations typically distylous, monomorphic and homostylous, looking for indications of changes in the reproductive mechanisms. In this sense, it was evaluated 80 flowers (40 of each morpho) of five distylous species and 45 flowers of a monomorphic species, to obtain values of height of the stamens, pistils and size of the corolla. Besides that, a bibliographic survey was carried out looking for studies with Rubiaceae species where there was evaluated the reproductive system and flower morphometry. The data were organized and analysed, and it was obtained the measure of the height of the stamens and pistils of 132 populations of 101 species of Rubiaceae. These data were compared with the size of the corolla looking for differential herkogamy. The thrum flowers presented a larger separation between stigma/anther, compared with the corolla in 74 (56%) of the 132 distylous populations, while the pin flowers presented larger herkogamy in 58 (44%) of the populations sampled. The monomorphics populations presented a reduction of 50% on the stigma/anther separation when compared with the distylous populations, and the homostylous populations presented an even greater reduction in herkogamy, more than 90%, when compared with distylous populations. The data demonstrate an evolutionary trend for the reduction of the separation stigma/anther (herkogamy) as the populations lose typical distylous features and become monomorphic and homostylous. This trend can be resulted of selection pressures and strategies of reproductive assurance for populations persistency.

Key-words: herkogamy, distyly, *Psychotria*, *Palicourea*, Rubiaceae

4.3 - Introdução

Uma das principais características da heterostilia é a hercogamia entre as partes sexuais, que nada mais é do que a distância entre anteras e estigma dentro da mesma flor. Em populações distílicas espera-se encontrar indivíduos com flores de estiletes altos e estames baixos (pin) e indivíduos com flores de estiletes baixos e anteras altas (thrum) (GANDERS 1979). Na tristilia acrescentam-se flores com tamanho mediano dos estiletes, além de duas alturas das anteras dentro das flores, separados, teoricamente, de forma recíproca (CHARLESWORTH 1979). Essa hercogamia tende a ser recíproca entre os morfos florais, e de acordo com Darwin (1877) seria uma forma de favorecer o fluxo simétrico de pólen entre os morfos florais, visto que visa depositar grãos de pólen em locais específicos do corpo do visitante e reduzir o desperdício de pólen, ao mesmo tempo, que evita uma interferência direta entre as funções masculina e feminina dentro da flor (LLOYD & WEBB 1992a; BARRETT 2002) e consequentemente a redução da autopolinização. Isso funcionaria como uma estratégia para reduzir os problemas que o hermafroditismo oferece para grande parte das Angiospermas, pois gera conflito de interesses e interferência entre os sexos dentro da flor (BARRETT & HOUGH 2013). A hercogamia recíproca é considerada uma das condições ancestrais relacionadas a heterostilia (LLOYD & WEBB 1992b), e devido a isso essa organização das peças reprodutivas é definida como uma característica básica para se considerar uma espécie como distílica (BARRETT 1992; FAIVRE & MCDADE 2001). Mas alguns autores como Consolaro (2008) e Sampson & Krebs (2012) consideram que a hercogamia recíproca exata, nem sempre afeta o fluxo de pólen e a isopleia (equilíbrio entre os morfos na população), não sendo desse modo, um requisito essencial para não se considerar uma população ou espécie como distílica típica.

Alguns trabalhos vêm encontrando uma correlação positiva entre o grau de reciprocidade e a eficiência do polinizador, ou seja, onde as peças sexuais são colocadas mais recíprocas a eficiência dos polinizadores é maior, implicando que as matrizes de polinizadores podem ser a pressão seletiva que dirige a posição recíproca dos verticilos sexuais, e que sejam as principais forças evolutivas no processo e evolução da distília (FERRERO et al. 2011b). Isto pode ser confirmado em trabalhos recentes como o de Bodbyl-Roels & Kelly (2011) que destacam os grandes efeitos morfológicos, genéticos e evolutivos causados pela falta de polinizadores em populações experimentais de *Mimulus guttatus*, onde a espécie apresentou diferenças marcantes na morfologia, especialmente uma significativa redução dos índices de hercogamia entre os órgãos sexuais quando os polinizadores eram ausentes. Ou ainda no trabalho de Vallois-Cuesta et al. (2012) onde os autores demonstram a diferença no fluxo de pólen devido ao tamanho do bico e ao comportamento dos beija-flores que visitam a espécie estudada, afetando o sucesso

reprodutivo entre os morfos devido a deposição diferencial de pólen graças a alteração da hercogamia. Todos esses dados levantam ainda mais dúvidas sobre o real efeito dos graus de hercogamia no sucesso reprodutivo das plantas distílicas.

Outros trabalhos vêm demonstrando que quando a falta de polinizadores reduz ou limita a oportunidade de cruzamento e o investimento reprodutivo (GARCÍA-CAMACHO & TOTLAND 2009), a autofecundação (muitas vezes sem a ajuda de polinizadores) pode aumentar a produção total de sementes, garantindo a reprodução (ECKERT et al. 2006; BODBYL-ROELS & KELLY 2011; BRAMOW et al. 2012), e essa autopolinização pode ser facilitada com a redução da hercogamia intra floral (VALLEJO-MARÍN & BARRETT 2009 ;BODBYL-ROELS & KELLY 2011), visto que órgãos sexuais mais próximos facilitam a auto deposição de pólen. Da mesma forma, autofecundação pode ser benéfica quando seus parceiros são escassos, como durante os processos de colonização (BAKER 1955; BRAMOW et al. 2012), e em termos geográficos ou ainda quando os habitats são marginais (LLOYD, 1980; ZHOU et al. 2012) e uma característica que facilita esse processo são alterações em traços florais como a redução da hercogamia entre os morfos florais (VALLEJO-MARÍN & BARRETT 2009; BODBYL-ROELS & KELLY 2011; BRAMOW et al. 2012). Todas essas respostas às pressões ambientais e ecológicas, que facilitam a auto polinização, podem ser consideradas como estratégias de segurança reprodutiva nas plantas (MARTÉN-RODRIGUEZ & FENSTER 2010).

Isso pode ser demonstrado pelo trabalho de Sakai & Wright (2008), estudando 21 espécies de *Psychotria* na Costa Rica encontraram espécies distílicas, monomórficas e homostílicas. As espécies monomórficas e homostílicas receberam menor número de visitas e mesmo assim tiveram uma maior formação de frutos. Os autores explicam a situação pelo comportamento dos visitantes diante de alterações morfológicas que afetam diretamente a deposição de auto pólen e alteram padrões de incompatibilidade.

Essas características podem ser observadas durante processos de colonização ou perda de habitats por fragmentação, pois a disponibilidade de polinizadores é baixa e a densidade de parceiros pode funcionar como uma força seletiva para mudanças nos padrões de morfologia e acasalamento em espécies distílicas levando a variações nos graus de hercogamia e a evolução das formas auto compatíveis (BARRETT 2002; REE 1997; RICHARDS & KOPTUR 1993). Tal mudança pode envolver a formação de frutos em somente um dos morfos (BJÖRKMAN 1995) ou a perda ou redução da hercogamia intra floral que afetará a hercogamia recíproca (DULBERGER 1992; BRAMOW et al. 2012),o que vai alterar a deposição de auto pólen.

O contrário também pode ser descrito, já que algumas plantas auto compatíveis hermafroditas apresentam separação espacial entre antera e estigma (hercogamia) com ampla variação dentro e entre

populações (ENNOS 1981; BARRETT et al. 1996; KISSLING & BARRETT 2013). O aumento da distância estigma/antera pode reduzir o número de auto pólen depositado sobre o estigma, aumentando a quantidade de óvulos fertilizados por pólen cruzado (ENNOS 1981; LLOYD & SCHOEN 1992; WEBB & LLOYD 1986) sem que, necessariamente, um sistema de auto incompatibilidade funcione efetivamente (BRAMOW et al. 2012). Neste caso o comportamento e frequência dos visitantes pode agir como a força seletiva na ampliação da hercogamia.

A eficiência da hercogamia recíproca pode, no entanto, ser reduzida ou perdida quando uma variação substancial no posicionamento dos estigmas e anteras ocorre (ARROYO & BARRETT 2000), levando a uma menor eficiência de transferência de pólen pelos polinizadores (FAIVRE & MACDADE 2001; WU et al. 2010). A diferença na quantidade de produção de pólen entre os morfos, além das diferenças específicas de acessibilidade do pólen e/ou estigma entre os morfos pelo polinizador (LAU & BOSQUE 2003), juntamente com a ausência de especialização do polinizador e mudanças no comportamento de forrageamento (ARROYO & DAFNI 1995; WOLFE & BARRETT 1989; VALOIS-CUESTA et al. 2012) também podem levar a redução da eficiência de polinização legítima, e acarretar um fluxo assimétrico de pólen (LLOYD & WEBB 1992b; WU et al. 2010), o que afetará, futuramente, a morfologia floral (BODBYL-ROELS & KELLY 2011; BRAMOW et al. 2012).

O trabalho de Jia & Tan (2012) estudando a variação do comprimento do estilete sobre a distância estigma/antera na espécie *Ixiolirion songaricum* (Amaryllidaceae) encontraram uma constituição diferenciada das peças reprodutivas. A espécie apresenta dois níveis de altura de anteras dentro da flor e um estilete que varia de altura entre os indivíduos. Os resultados do estudo mostraram que a maior parte dos indivíduos apresentava uma maior distância entre estigma/antera, e que essa distância foi negativamente relacionada com a deposição espontânea de auto pólen e com a formação de sementes por autopolinização; mas foi positivamente correlacionada com a formação de sementes em polinizações naturais, ou seja, quanto maior a distância entre as peças reprodutivas, maior a deposição cruzada de pólen e menor a interferência entre as peças sexuais, confirmando a importância da hercogamia nos processos de polinização.

O objetivo do presente trabalho foi avaliar a separação (hercogamia) entre os órgãos sexuais nos morfos de espécies distílicas de Rubiaceae, buscando indícios de alterações nos graus de hercogamia em populações que apresentam distília atípica (monomorfismo e homostilia). A redução da hercogamia pode funcionar, nesses casos, como uma força direcionadora para a quebra do sistema distílico e a autocompatibilidade em populações e em espécies, descrevendo dessa forma um caminho evolutivo da distília, para o monomorfismo e depois para a homostilia, como proposto por Consolaro (2008).

4.4 - Material e métodos

Além das plantas estudadas originalmente (capítulo 2 e 3), foram compilados dados de diversos trabalhos de biologia reprodutiva e polinização em espécies de Rubiaceae, que apresentaram informações de morfometria floral entre os morfos, principalmente nos Neotrópicos. Os dados registrados foram: tamanho da corola, altura das anteras e altura dos estigmas. Com esses dados obteve-se a separação do órgão mais alto, com o órgão mais baixo, dentro da mesma flor, obtendo assim a separação entre os órgãos sexuais nos dois morfos. Após a obtenção da separação entre os órgãos sexuais, essas medidas foram padronizadas a partir da relação da separação estigma/antera com o tamanho da corola, obtendo-se um valor proporcional. Dessa forma obteve-se a proporção da hercogamia em relação ao tamanho da corola. Diversos trabalhos de Rubiaceae na região neotropical não foram incluídos devido a falta de dados morfométricos das espécies.

4.4.1 - Morfometria floral das espécies estudadas - os caracteres florais, incluindo a distília, foram avaliados em 80 flores (40 flores de cada morfo) de seis espécies de Rubiaceae (cinco espécies de *Psychotria* e uma espécie de *Palicourea*), coletadas de forma aleatória em cerca de 20 indivíduos de cada morfo e de cada espécie. As medidas realizadas foram feitas usando-se paquímetro manual com medições em milímetros. Obteve-se medidas do tamanho da corola (da base do ovário até as pétalas); da altura das anteras (da base da corola até a região mais alta das anteras); altura do estilete (da base da corola até a parte mais alta do estigma), e com esses dados calculou-se a hercogamia (separação estigma/antera em cada flor de ambos os morfos florais).

4.4.2 - Hercogamia— As medidas de altura de estilete e de altura dos estames foram obtidos a partir dos artigos avaliados e das espécies estudadas. A partir desses dados calculou-se a separação entre as peças reprodutivas dentro da mesma flor. Essa separação foi avaliada proporcionalmente ao tamanho da corola, obtendo-se um valor comparável entre todas as espécies. Dessa forma a hercogamia em cada população foi obtida com um valor em porcentagem do tamanho da corola dos indivíduos.

Os dados da separação estigma/antera proporcional a medida da corola foram testados utilizando o teste não paramétrico Kruskal-Wallis, com significância de 5%. Gráficos de dispersão foram avaliados para visualização melhor dos valores da separação entre as peças reprodutivas de acordo com o morfo do indivíduo. As análises dos dados foram realizadas utilizando o programa estatístico Bioestat 3.0 (Ayres *et al.* 2003).

4.5 - Resultados

O levantamento realizado a partir de diversos artigos e estudos com espécies de Rubiaceae, amostrando dados morfométricos florais, mais as medidas morfométricas obtidas de seis espécies de

Rubiaceae, gerou informações de 132 populações de 101 espécies, as quais demonstraram grande variação na separação estigma/antera (**Tabela 1**). Muitas informações foram obtidas a partir de cálculos com os dados descritos no trabalho, sendo que muitas vezes esses dados eram parciais, o que gerou algumas lacunas na caracterização de algumas espécies, como é o caso dos trabalhos de Hamilton (1989 a, b e c) que trabalhou com espécimes de herbário e muitas vezes não conseguiu visualizar determinadas estruturas reprodutivas.

Quando se calculou as médias da separação estigma/antera entre os morfos longistílicos (Pin), brevistílicos (Thrum), monomórficos e homostílicos, percebeu-se grande diferença de valores, demonstrando a grande variação que podemos observar na família e em determinados gêneros (**Tabela 2 e Figura 1 e 2**).

Os indivíduos brevistílicos apresentaram uma maior separação entre estigma/antera, comparado com a corola em 74 (56%) das 132 populações distílicas registradas, enquanto que o morfo longistílico apresentou hercogamia maior em 58 (44%) das populações amostradas. As populações monomórficas apresentaram uma redução de 50% da separação estigma/antera quando comparados com as populações distílicas, e as populações homostílicas reduziram em mais de 90% essa separação, comparado com populações distílicas (**Tabela 2 e Figura 1 e 2**).

Tabela 1 – Levantamento de espécies distílicas que apresentam medidas morfométricas florais e variações nos graus de hercogamia intrafloral em Rubiaceae. Medidas de altura das anteras, altura do estigma, hercogamia (separação entre estigma e antera dentro da flor), tamanho da corola e proporção da separação estigma/antera comparado com a corola. Dados obtidos de diversos artigos que apresentavam valores de morfometria floral.

Referências	Espécies	Altura antera (mm)		Altura estigma (mm)		Sep. Órgãos sexuais (mm)		Tamanho da Corola (mm)		Proporção - E/A - corola (%)	
		Longi	Brevi	Longi	Brevi	Longi	Brevi	Longi	Brevi	Longi	Brevi
Castro & Araújo 2004	<i>Psychotria nuda</i>	13.7	17.8	19.2	10	5.5	7.8	21.4	23.5	25.70	33.19
Castro et al. 2004	<i>Psychotria jasminoides</i>	7.6	11.4	11.7	7.8	4.1	3.6	8.5	8.7	48.24	41.38
	<i>Psychotria birotula</i>	2.7	4.4	4.5	2.7	1.8	1.7	3.1	3.2	58.06	53.13
	<i>Psychotria mapourioides</i>	6	9	8.6	6.2	2.6	2.8	6.4	7	40.63	40.00
	<i>Psychotria pubigera</i>	7.1	8.6	9.2	5.9	2.1	2.7	6.9	7.2	30.43	37.50
Coelho & Barbosa 2003	<i>Palicourea macrobotrys</i> *	16.2		16.7		0.5		16.05		3.12	
Coelho & Barbosa 2004	<i>Psychotria poeppigiana</i>	9.99	14.48	14.97	6.48	4.98	8	16.1	16.5	30.93	48.48
Consolaro 2008	<i>Coccosypselum lanceolatum</i> **	5.44		9.76		4.32		5.91		73.10	
	<i>Declieuxia fruticosa</i>	3.22	5.53	5.46	3.53	2.24	2	2.99	1.56	74.92	128.21
	<i>Galianthe valerianoides</i>	3.46	4.94	5.03	2.76	1.57	2.18	2.07	2.71	75.85	80.44
	<i>Galianthe peruviana</i>	2.17	3.34	3.8	2.13	1.63	1.21	1.36	1.56	119.85	77.56
	<i>Palicourea coriaceae</i>	7.81	9.83	9.21	8.07	1.4	1.76	8.72	9.15	16.06	19.23

continuação...

	<i>Palicourea coriaceae</i> *		8.68		8.33		0.35		8.79		3.98
	<i>Palicourea macrobotrys</i> *	11.99		12.49		0.5		13.26		3.77	
	<i>Palicourea marcgravii</i>	13.66	19.91	18.48	14	4.82	5.91	16.13	19.44	29.88	30.40
	<i>Palicourea officinallis</i>	9.62	11.88	12.31	8.3	2.69	3.58	12.15	12.86	22.14	27.84
	<i>Palicourea rígida</i>	12.15	16.29	15.43	10.78	3.28	5.51	13.09	13.61	25.06	40.48
	<i>Psychotria capitata</i>	6.42	9.42	9.92	5.84	3.5	3.58	6.69	5.91	52.32	60.58
	<i>Psychotria carthagenensis</i>	3.12	4.67	4.89	3.1	1.77	1.57	2.59	2.88	68.34	54.51
	<i>Psychotria hoffmannseggiana</i>	4	5.72	5.68	3.4	1.68	2.32	4.23	4.55	39.72	50.99
	<i>Psychotria leiocarpa</i>	11.21	11.56	11.87	7.63	0.66	3.93	10.08	9.33	6.55	42.12
	<i>Psychotria mapourioides</i>	6.27	9.1	8.61	5.84	2.34	3.26	5.69	6.26	41.12	52.08
	<i>Psychotria prunifolia</i> **	10.24		12.28		2.04		11.27		18.10	
	<i>Psychotria racemosa</i>	3.64	6.18	5.16	3.01	1.52	3.17	3.19	3.97	47.65	79.85
	<i>Psychotria trichophoroides</i>	9.44	11.84	12.65	7.79	3.21	4.05	10.26	10.1	31.29	40.10
Consolaro et al. 2005	<i>Manettia cordifolia</i> **	4.99		5.42		0.43		4.46		9.64	
	<i>Manettia cordifolia</i> **	4.67		5.14		0.47		4.27		11.01	
	<i>Manettia cordifolia</i> **	4.49		4.97		0.48		4.04		11.88	
Faivre & McDade 2001	<i>Psychotria chiapensis</i>	39.1	48.7	49.2	42.5	10.1	6.2	41.2	44.4	24.51	13.96
	<i>Psychotria poeppigiana</i>	9.4	12.9	16.3	8	6.9	4.9	12.7	13.3	54.33	36.84

continuação...

	<i>Psychotria poeppigiana</i>	8.4	14.1	15.4	8.9	7	5.2	12.4	14.5	56.45	35.86
	<i>Bouwardia ternifolia</i>	20.7	28.4	27.5	21	6.8	7.4	23.7	28.3	28.69	26.15
	<i>Bouwardia ternifolia</i>	22.3	31.5	28.2	24.4	5.9	7.4	24.2	31.5	24.38	23.49
	<i>Psychotria brachiata**</i>	2.9		4		1.1		4.8		22.92	
	<i>Psychotria pittieri**</i>	2.6		2.8		0.2		2.8		7.14	
<i>Faria et al. 2011</i>	<i>Psychotria carthagenensis</i>	4.65	7.09	6.49	4.45	1.84	2.64	5.01	5.37	36.73	49.16
	<i>Psychotria carthagenensis</i>	4.43	7.46	7.11	4.5	2.68	2.96	4.9	5.33	54.69	55.53
	<i>Psychotria carthagenensis</i>	4.12	6.71	6.5	4.23	2.38	2.48	4.53	4.88	52.54	50.82
<i>Fonseca et al. 2008</i>	<i>Psychotria brachypoda</i>	11.11	14.59	15.54	10.16	4.43	4.43	15.04	15.78	29.45	28.07
<i>Hamilton 1989 a</i>	<i>Psychotria carthagenensis</i>	3.0	4.5	5.5	3.5	2.5	1.0	3.0	3.0	83.33	33.33
	<i>Psychotria clivorum</i>	2.5	4.0	4.0	2.5	1.5	1.5	2.5	2.5	60.00	60.00
	<i>Psychotria alamarinensis</i>		4.0		2.5	0.0	1.5	3.0	3.0	0.00	50.00
	<i>Psychotria micrantha</i>	1.5	3.0	4.0	2.5	2.5	0.5	2.0	2.0	125.00	25.00
	<i>Psychotria neillii</i>		2.5		2.0	0.0	0.5	2.0	2.0	0.00	25.00
	<i>Psychotria quinquerradiata</i>	3.5	6.5	7.5	5.0	4.0	1.5	5.0	5.0	80.00	30.00
	<i>Psychotria viridis**</i>	2.0		2.5		0.5	0.0	1.5		33.33	
	<i>Psychotria pleuropoda</i>	3.0	4.0	5.0	3.0	2.0	1.0	3.0	3.0	66.67	33.33
	<i>Psychotria balancanensis</i>	3.0		4.5		1.5	0.0	3.0	3.0	50.00	0.00

continuação...

Hamilton 1989 b	<i>Psychotria costivenia</i>	3.0	5.0	5.0	3.5	2.0	1.5	3.5	3.5	57.14	42.86
	<i>Psychotria fendleri</i>	2.5		4.0		1.5	0.0	2.5		60.00	
	<i>Psychotria flava</i>	3.0	5.0	5.0	3.5	2.0	1.5	3.0	3.0	66.67	50.00
	<i>Psychotria grandis</i>	2.0	4.0	4.0	2.5	2.0	1.5	2.5	2.5	80.00	60.00
	<i>Psychotria horizontalis</i>	3.5	6.0	6.0	3.5	2.5	2.5	3.5	3.5	71.43	71.43
	<i>Psychotria papantlensis</i>	3.0	7.5	6.0	5.0	3.0	2.5	5.0	5.0	60.00	50.00
	<i>Psychotria bakeri</i>		1.5		1.0	0.0	0.5	3.0	3.0	0.00	16.67
	<i>Psychotria graciliflora</i>	2.5	3.5	5.0	2.5	2.5	1.0	2.5	2.5	100.00	40.00
	<i>Psychotria jimenezii</i>	2.0	3.0	4.0	2.0	2.0	1.0	2.5	2.5	80.00	40.00
	<i>Psychotria laselvensis</i>	2.0	3.5	5.5	3.0	3.5	0.5	3.0	3.0	116.67	16.67
	<i>Psychotria liesneri</i>	1.5		2.2		0.7	0.0	1.5		46.67	
	<i>Psychotria marginata</i>	1.8	3.0	4.5	2.5	2.7	0.5	2.5	2.5	108.00	20.00
	<i>Psychotria orosiana</i>	3.5	3.5	6.5	2.0	3.0	1.5	5.0	5.0	60.00	30.00
	<i>Psychotria parviflora</i>	2.0	5.0	5.0	3.5	3.0	1.5	4.0	4.0	75.00	37.50
	<i>Psychotria remota</i>	1.5	2.5	2.5	2.0	1.0	0.5	1.5	1.5	66.67	33.33
	<i>Psychotria aguilarii</i>	2.0	3.5	3.5	2.0	1.5	1.5	3.5	3.5	42.86	42.86
	<i>Psychotria boquetensis</i>	2.0	3.5	3.5	2.0	1.5	1.5	3.0	3.0	50.00	50.00
	<i>Psychotria chagrensis</i>	6.0	8.0	9.0	5.0	3.0	3.0	7.0	7.0	42.86	42.86

	<i>Psychotria erythrocarpa</i>	2.5	3.5	4.0	2.5	1.5	1.0	2.5	2.5	60.00	40.00
	<i>Psychotria fosteri</i>	3.0		4.5		1.5	0.0	3.5		42.86	
	<i>Psychotria fruticetorum</i>	2.0	3.5	5.0	2.5	3.0	1.0	3.5	3.5	85.71	28.57
	<i>Psychotria jinotegensis</i>	3.0	5.5	5.0	4.0	2.0	1.5	4.0	4.0	50.00	37.50
	<i>Psychotria mirandae</i>		4.0		3.0		1.0		3.0		33.33
	<i>Psychotria nervosa</i>	2.5	5.0	5.0	2.5	2.5	2.5	3.0	3.0	83.33	83.33
	<i>Psychotria cascajalensis</i>		1.5		1.0		0.5		1.5		33.33
	<i>Psychotria chiriquina</i>	4.5	6.0	6.0	5.0	1.5	1.0	6.0	6.0	25.00	16.67
	<i>Psychotria dwyeri</i>	2.5	3.0	4.5	2.0	2.0	1.0	2.5	2.5	80.00	40.00
	<i>Psychotria hornitensis</i>	4.0		6.0		2.0	0.0	4.0		50.00	
	<i>Psychotria lundellii</i>	2.0	4.0	4.0	2.0	2.0	2.0	2.5	2.5	80.00	80.00
	<i>Psychotria mexiae</i>	3.5	5.0	7.0	3.0	3.5	2.0	4.5	4.5	77.78	44.44
	<i>Psychotria olgae</i>	3.5	4.0	6.0	3.0	2.5	1.0	3.5	3.5	71.43	28.57
	<i>Psychotria panamensis</i>	3.0	5.0	6.0	3.0	3.0	2.0	3.0	3.0	100.00	66.67
	<i>Psychotria sarapiquensis</i>	3.0	4.0	4.5	2.5	1.5	1.5	3.0	3.0	50.00	50.00
	<i>Psychotria stockwellii</i>	4.0	5.5	7.0	4.0	3.0	1.5	5.0	5.0	60.00	30.00
	<i>Psychotria trichotoma</i>	2.5	3.5	4.0	2.0	1.5	1.5	2.5	2.5	60.00	60.00
Hamilton 1989 c	<i>Psychotria limonensis</i>	2.0	3.5	3.5	2.2	1.5	1.3	2.0	2.0	75.00	65.00

continuação...

	<i>Psychotria tenuifolia</i>	1.5	3.0	3.0	1.5	1.5	1.5	2.0	2.0	75.00	75.00
	<i>Psychotria alfaroana</i>	2.5	6.0	5.0	3.5	2.5	2.5	4.0	4.0	62.50	62.50
	<i>Psychotria calophylla</i>	3.5	4.5	6.0	3.0	2.5	1.5	4.0	4.0	62.50	37.50
	<i>Psychotria chitariana</i>	4.5		7.0		2.5	0.0	5.0		50.00	
	<i>Psychotria dressleri</i>	10.0	14.0	14.0	10.0	4.0	4.0	12.0	12.0	33.33	33.33
	<i>Psychotria hammelii</i>	3.0		5.0		2.0	0.0	4.0		50.00	
	<i>Psychotria insueta</i>	2.0		4.0		2.0	0.0	2.0		100.00	
	<i>Psychotria monteverdensis**</i>	2.5		4.0		1.5	0.0	3.0		50.00	
	<i>Psychotria psychotriifolia</i>	1.5	2.5	3.0	2.0	1.5	0.5	1.5	1.5	100.00	33.33
	<i>Psychotria rosulatifolia</i>	2.0		6.0		4.0	0.0	4.0		100.00	
	<i>Psychotria sixaolensis</i>	3.0		6.0		3.0	0.0	4.0		75.00	
Hernandez & Ornelas 2007	<i>Palicourea padifolia</i>	12.1	14.3	17.1	6.9	5	7.4	14.7	16.5	34.01	44.85
	<i>Palicourea padifolia</i>	8.2	10.9	15	5.2	6.8	5.7	13.5	16.4	50.37	34.76
	<i>Palicourea padifolia</i>	7.8	11.98	14.7	5.3	6.9	6.68	13.3	16.2	51.88	41.23
	<i>Palicourea padifolia</i>	8	9.9	12.6	3.9	4.6	6	11.7	14.7	39.32	40.82
	<i>Palicourea padifolia</i>	8.4	12.7	17	6.5	8.6	6.2	14.1	17.3	60.99	35.84
	<i>Palicourea padifolia</i>	6.2	8.4	11.9	4	5.7	4.4	11.4	13	50.00	33.85
	<i>Palicourea padifolia</i>	5.6	9	10.7	4.4	5.1	4.6	10.1	14.3	50.50	32.17

continuação...

	<i>Palicourea padifolia</i>	7.6	9.2	11.9	3.7	4.3	5.5	12.2	13.7	35.25	40.15
	<i>Palicourea padifolia</i>	5.1	9.5	10	2.4	4.9	7.1	9.4	10.9	52.13	65.14
	<i>Palicourea padifolia</i>	9.4	12.5	15.6	4.6	6.2	7.9	14.3	16.1	43.36	49.07
<i>Koch et al. 2010</i>	<i>Psychotria carthagenensis</i>	2.14	3.31	6.2	3.92	4.06	0.61	6.04	6.68	67.22	9.13
<i>Li et al. 2010</i>	<i>Mussaenda pubescens</i> ***	10.7	14.64	13.71	4.54	3.01	10.1	20.18	22.34	14.92	45.21
<i>Lopez & Buzato 2005</i>	<i>Psychotria suterella</i>	12.83	17.43	16.98	12.04	4.15	5.39	13.28	13.83	31.25	38.97
<i>Machado et al. 2010</i>	<i>Palicourea rígida</i>	1.24	1.71	1.88	1.5	0.64	0.21	1.83	1.86	34.97	11.29
	<i>Palicourea rígida</i>	1.36	1.92	1.77	1.28	0.41	0.64	1.73	1.92	23.70	33.33
	<i>Palicourea rígida</i>	1.3	1.64	1.7	1.64	0.4	0	1.7	1.71	23.53	0.00
<i>Maruyama et al. 2010</i>	<i>Faramea cyanea</i>	0.948	1.294	1.335	0.677	0.387	0.617	0.958	1.158	40.40	53.28
<i>Mendonça & Anjos 2006</i>	<i>Palicourea crocea</i>	13.02	18.81	17.63	12.38	4.61	6.43	18.26	20.66	25.25	31.12
<i>Novo 2010</i>	<i>Guetarda platypoda</i>	15.62	17.9	16.79	11.11	1.17	6.79	16.5	18.53	7.09	36.64
<i>Oliveira 2008</i>	<i>Psychotria trichophoroides</i>	6.5	11.4	12.2	6.2	5.7	5.2	10.4	12.2	54.81	42.62
	<i>Psychotria prunifolia</i> **	7.9		11.2		3.3		11.2		29.46	
<i>Passos & Sazima 1995</i>	<i>Manettia luteo-rubra</i>					3.54	4.84	13.28	13.83	26.66	35.00
<i>Pelissaro 2012</i>	<i>Psychotria leiocarpa</i>	5.38	7.79	7.85	5.38	2.47	2.41	5.9	6.13	41.86	39.31
	<i>Psychotria carthagenensis</i>	2.72	3.81	4.3	2.62	1.58	1.19	2.23	2.29	70.85	51.97
	<i>Psychotria miriantha</i> **	2.89		3.12		0.23		2.55		9.02	

continuação...

<i>Pereira et al. 2006</i>	<i>Palicourea longipedunculata</i>	6.05	9.75	9.15	7.5	3.1	2.25	8.27	11.75	37.48	19.15
	<i>Palicourea marcgravii</i>	13.4	19.95	20.6	11.65	7.2	8.3	18.7	21.85	38.50	37.99
	<i>Psychotria conjugens</i>	4.7	7.02	7.3	4.2	2.6	2.82	6.75	7.15	38.52	39.44
	<i>Psychotria hygrophiloides**</i>		6.3		4.04		2.26		6.2		36.45
	<i>Psychotria hastisepala</i>	9.99	12.87	10.8	8.57	0.81	4.3	11.6	14.18	6.98	30.32
	<i>Psychotria nuda</i>	13	19.4	20.08	9.35	7.08	10.05	21	22.9	33.71	43.89
	<i>Psychotria sessilis</i>	5.55	7.85	7.8	5.05	2.25	2.8	7.6	7.75	29.61	36.13
	<i>Rudgea lanceolata</i>	4.95	8.3	10.35	5.15	5.4	3.15	7.95	9.95	67.92	31.66
<i>Ree 1997</i>	<i>Palicourea padifolia</i>	10.4	13.3	13.4	6.4	3	6.9	12.1	14	24.79	49.29
<i>Riveros et al. 1995</i>	<i>Hedyotis salzmannii</i>	1.79	4.44	5.79	3.74	4	0.7	5.42	5.88	73.80	11.90
<i>Rodrigues & Consolaro 2013</i>	<i>Psychotria goyazensis**</i>	2.77		3.27		0.5		3.1		16.13	
<i>Santos et al. 2008</i>	<i>Psychotria spectabilis</i>	2.25	3.22	3.03	1.38	0.78	1.84	3.16	3.33	24.68	55.26
	<i>Palicourea virens *</i>	1.6		1.52		0.08		2.09		3.83	
<i>Sobrevila et al. 1983</i>	<i>Palicourea petiolares</i>	6.1	11.7	10.8	6.5	4.7	5.2	11.6	12.4	40.52	41.94
	<i>Palicourea petiolares</i>	7.4	13.9	12.6	6.4	5.2	7.5	13.9	14.4	37.41	52.08
	<i>Palicourea petiolares**</i>	6.9		10.4		3.5		12.2		28.69	
	<i>Palicourea flenderi</i>	11.7	15.2	14.4	9.7	2.7	5.5	16.3	17.8	16.56	30.90
	<i>Palicourea flenderi</i>	11	14.5	14.2	10.5	3.2	4	14.8	17	21.62	23.53

continuação...

<i>Teixeira e Machado 2004a</i>	<i>Sabicea cinerea</i>	14.8	18	19.6	14.6	4.8	3.4	24.2	27.7	19.83	12.27
<i>Teixeira e Machado 2004b</i>	<i>Psychotria barbiflora</i>	4.4	6.1	7.9	4.3	3.5	1.8	6.8	6.5	51.47	27.69
<i>Valois-Cuesta et al. 2009</i>	<i>Psychotria poeppigianna</i>	1.07	1.47	1.78	0.99	0.71	0.48	1.83	1.85	38.80	25.95
<i>Valois-Cuesta et al. 2011</i>	<i>Palicourea demissa</i>	13.3	19.6	17.1	13.4	3.8	6.2	14.5	19	26.21	32.63
<i>Virillo et al. 2007</i>	<i>Psychotria ternunervis</i>	5.8	8.4	8.1	5.6	2.3	2.8	6.2	6.5	37.10	43.08

* Espécies homostílicas ** Espécies monomórficas *** Espécies com dimorfismo estilar

Tabela 2 – Média e desvio padrão dos valores da separação estigma/antera (%) comparados com a altura da corola, obtidos do levantamento de espécies distílicas que apresentam medidas morfométricas florais e variações nos graus de hercogamia intrafloral em Rubiaceae, obtidos de diversos artigos e estudos.

	Pin	Thrum	Monomórfica	Homostílica
<i>Palicourea</i> (n=26)	34.69 ± 12.23	34.39 ± 13.07	-----	-----
<i>Psychotria</i> (n=92)	54.83 ± 25.41	42.08 ± 16.05	-----	-----
Todas as populações (n=143)	49.73 ± 25.57 a	40.32 ± 16.73 b	20.41 ± 18.02 c	3.6 ± 0.43 d

* Letras diferentes na mesma linha indicam diferença significativa P<0,01 (Kruskal-Wallis)

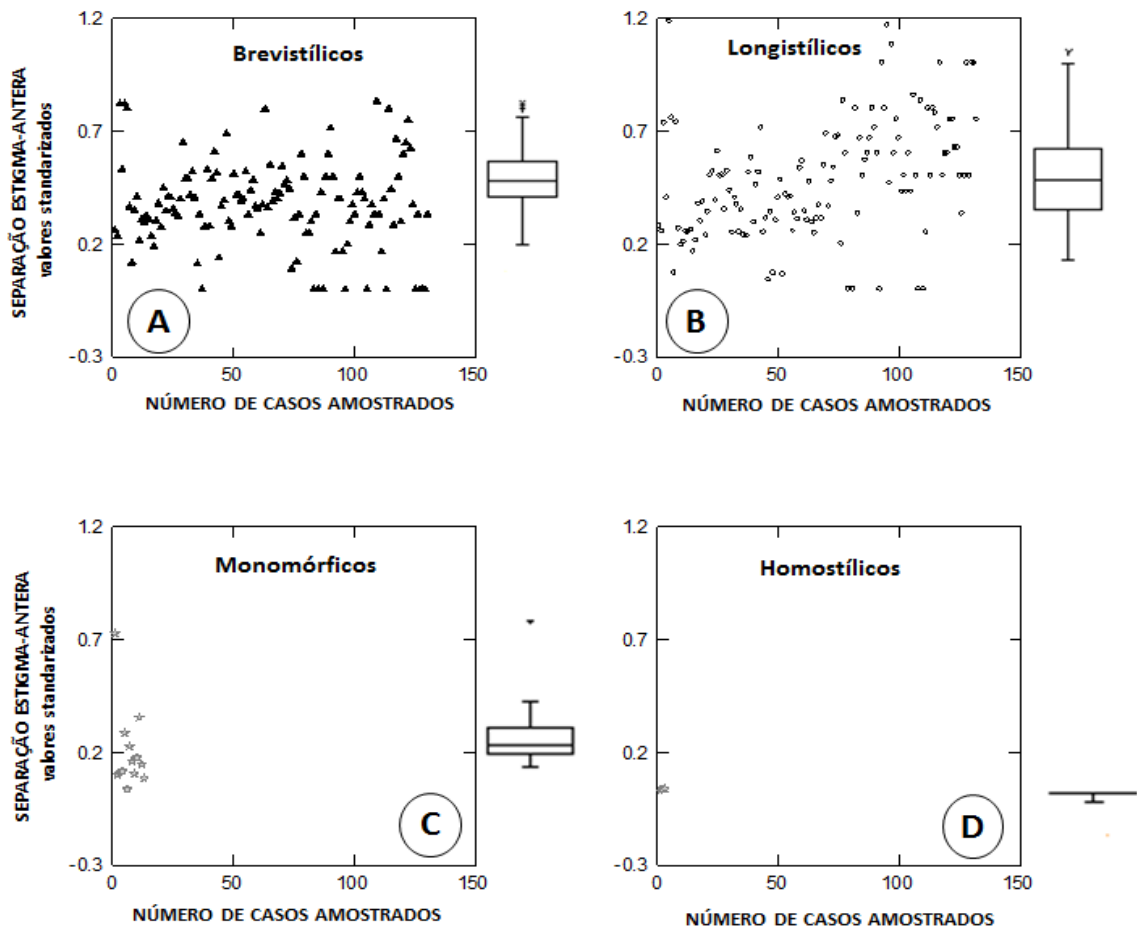


Figura 01 – Distribuição dos valores de separação estigma/antera comparados com o tamanho da corola, obtidos do levantamento de espécies distílicas que apresentam medidas morfométricas florais e variações nos graus de hercogamia intrafloral em Rubiaceae, avaliados de diversos artigos e estudos. **A** – Indivíduos brevistílicos de populações distílicas; **B** – Indivíduos longistílicos de populações distílicas; **C** – Indivíduos de populações monomórficas e **D** – Indivíduos homostílicos.

Os dados obtidos, quando dispostos em um gráfico de dispersão, demonstram uma tendência visual de redução da hercogamia intrafloral partindo dos morfos distílicos, passando pelos indivíduos de populações monomórficas até chegar nos indivíduos homostílicos (**Figura 2**).

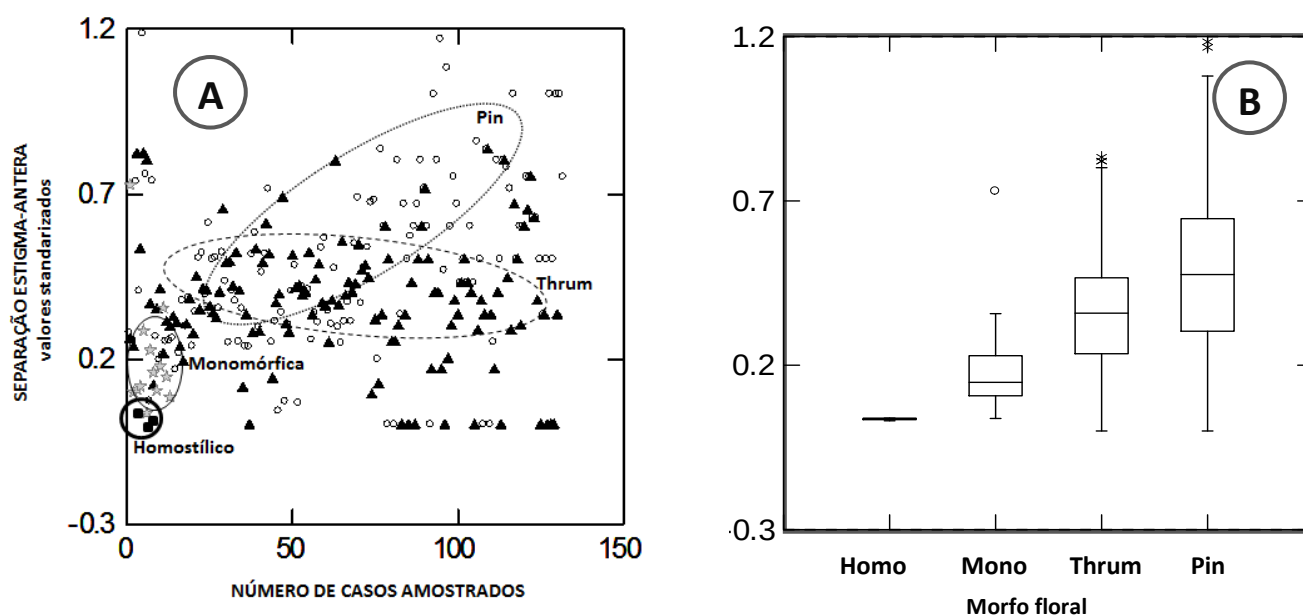


Figura 02 – Distribuição dos valores de separação estigma/antera comparados com o tamanho da corola, obtidos do levantamento de espécies distílicas que apresentam medidas morfométricas florais e variações nos graus de hercogamia intrafloral em Rubiaceae, avaliados de diversos artigos e estudos. **A** - Os círculos indicam a maior concentração de indivíduos de determinado morfo (▲ brevistílicos; ○ longistílicos; ★ monomórficas e ■ homostílicas). **B** – Boxplots demonstrando a tendência de redução da hercogamia intrafloral de acordo com o morfo floral dos indivíduos.

Os dados de separação estigma/antera e altura das peças reprodutivas, obtidas das espécies avaliadas nesse estudo, demonstraram grande variação na hercogamia intrafloral entre as espécies (**Figura 3**). A espécie *P. colorata* demonstrou uma maior homogeneidade da hercogamia em flores longistilas, comparado com as flores brevistilas, enquanto que no tamanho das peças reprodutivas (**Figura 3 B**) fica evidente a maior variação na altura dos estames de flores brevistilas e isso se reflete na razão entre os coeficientes de variação dos órgãos sexuais (**Figura 4**). Já para a espécie *P. capitata* (**Figura 3 C e D**), percebe-se uma homogeneidade em ambos os morfos, tanto nas alturas das peças reprodutivas quanto na separação estigma antera, também demonstrado na figura 4. Para a espécie *P. hofmanseggiana* (**Figura 3 E e F**) fica evidente o menor tamanho das peças reprodutivas e consequentemente da hercogamia, e uma menor homogeneidade em flores longistiladas, apresentando uma razão entre os coeficientes de variação dos órgãos sexuais maior do que as demais espécies (**Figura 4**). A espécie *P. prunifolia* (**Figura 3 G e H**) o monomorfismo é evidente e também uma maior variação no tamanho dos estames. Já para a espécie *P. gracilentia* (**Figura 3 I e J**) pode-se perceber a grande variação na altura das peças reprodutivas (**Figura 3 J**) o que reflete na separação estigma/antera. Também pode perceber a maior variação entre os órgãos baixos (**Figura 4**). Por fim quando avaliamos a espécie *Palicourea croceoides* (**Figura 3 L e M**) percebe-se uma reduzida variação na separação estigma/antera

(Figura 3 L) o que é demonstrado também na altura das peças sexuais (Figura 3 M), e na razão entre os coeficientes de variação (Figura 4).

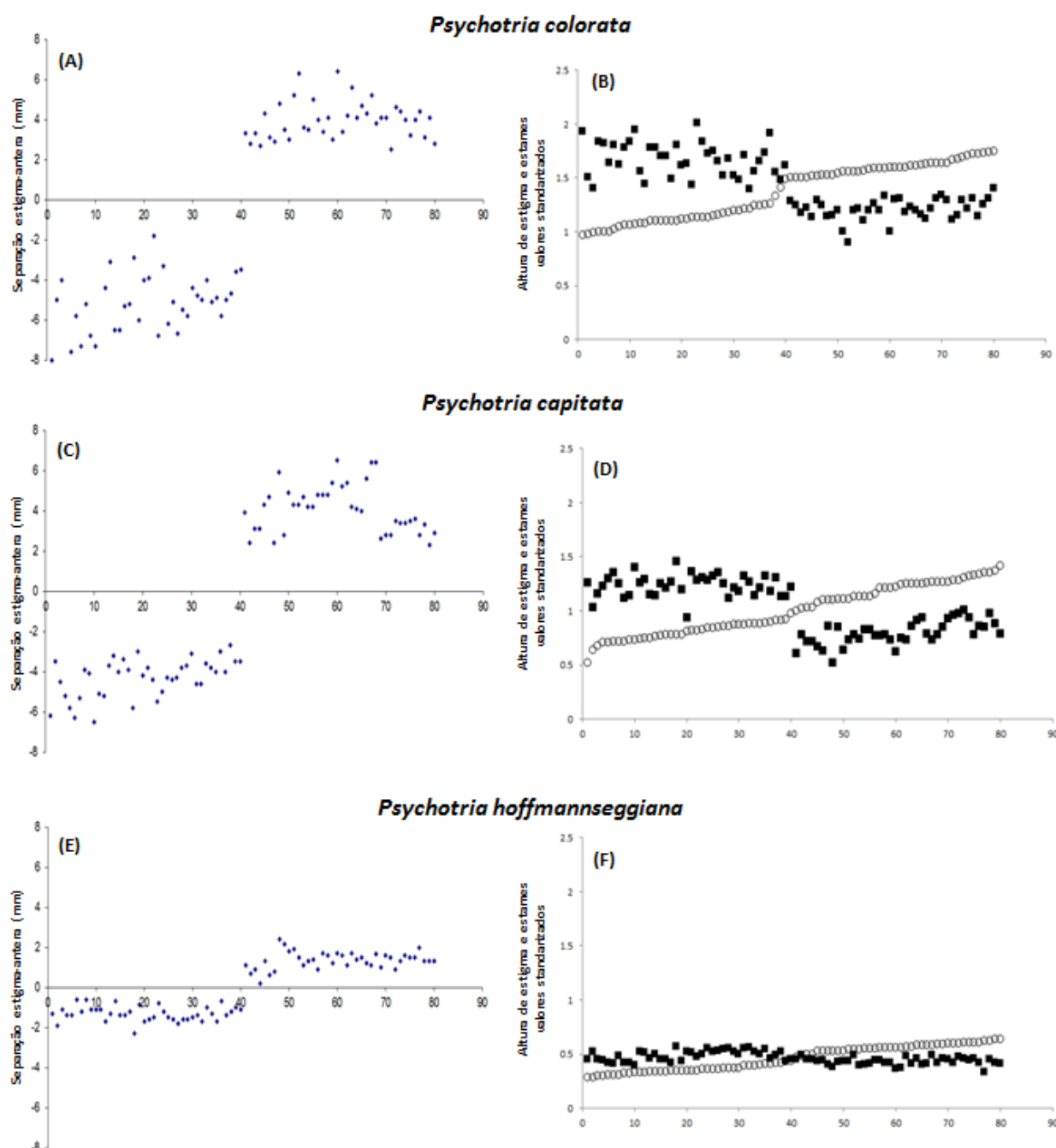


Figura 03 – Distribuição das flores quanto a separação estigma-antera (gráficos A, C e E) e altura das anteras (■) e altura dos estigmas (○) (gráficos B, D e F) em seis espécies de Rubiaceae em área de Mata Estacional semi decidual na região Sul do estado de Goiás. Cada ponto indica a diferença entre altura do estigma menos a altura das anteras de um indivíduo nos gráficos A, C e E. Os gráficos B, D e F valores das anteras e estigmas foram estandardizados para facilitar a comparação. *continua*.

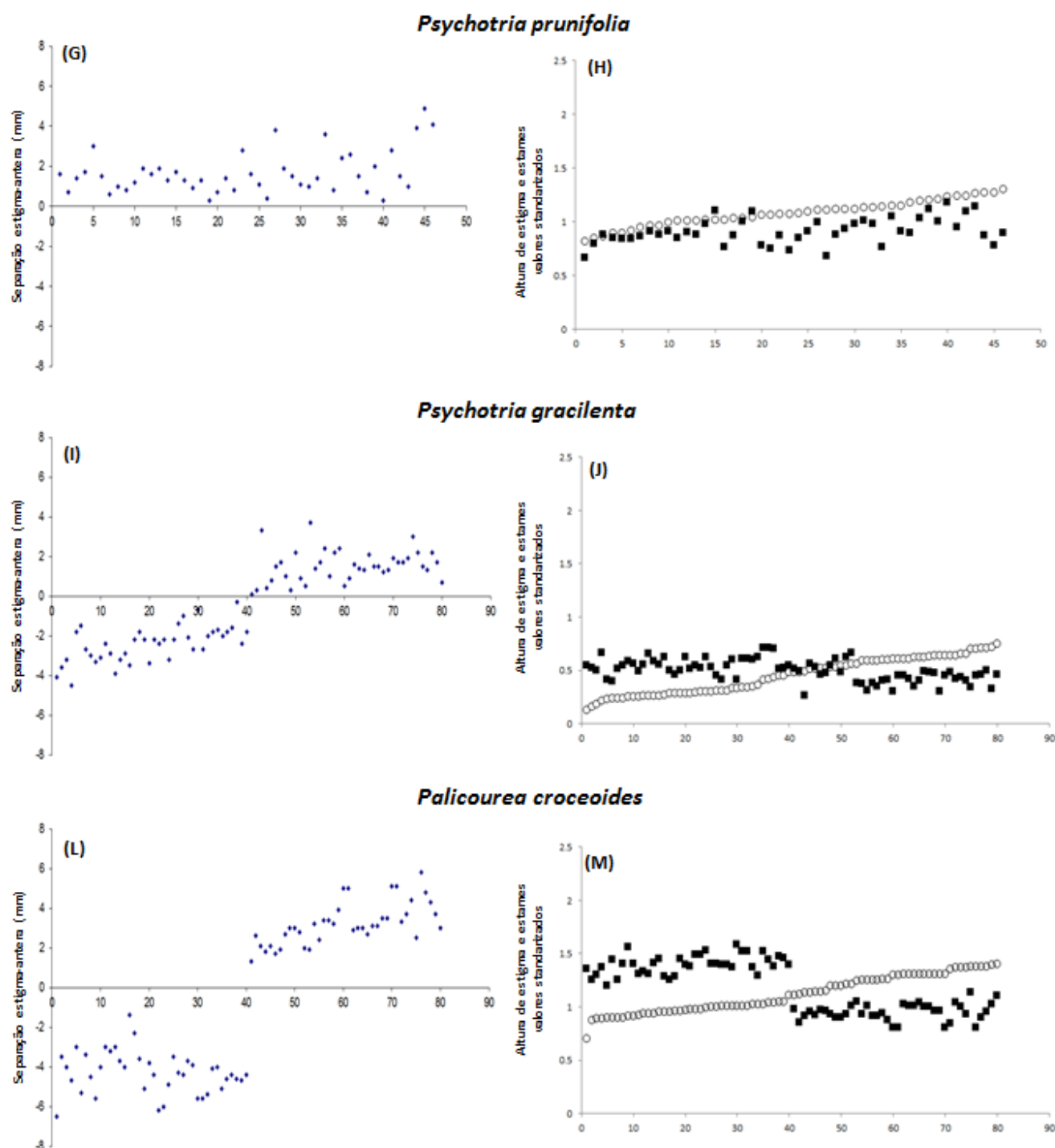


Figura 03 – Distribuição das flores quanto a separação estigma-antera (gráficos **G**, **I** e **L**) e altura das anteras (■) e altura dos estigmas (○) (gráficos **H**, **J** e **M**) em seis espécies de Rubiaceae em área de Mata Estacional semi decidual na região Sul do estado de Goiás. Cada ponto indica a diferença entre altura do estigma menos a altura das anteras de um indivíduo nos gráficos **A**, **C** e **E**. Os gráficos **B**, **D** e **F** valores das anteras e estigmas foram standardizados para facilitar a comparação.

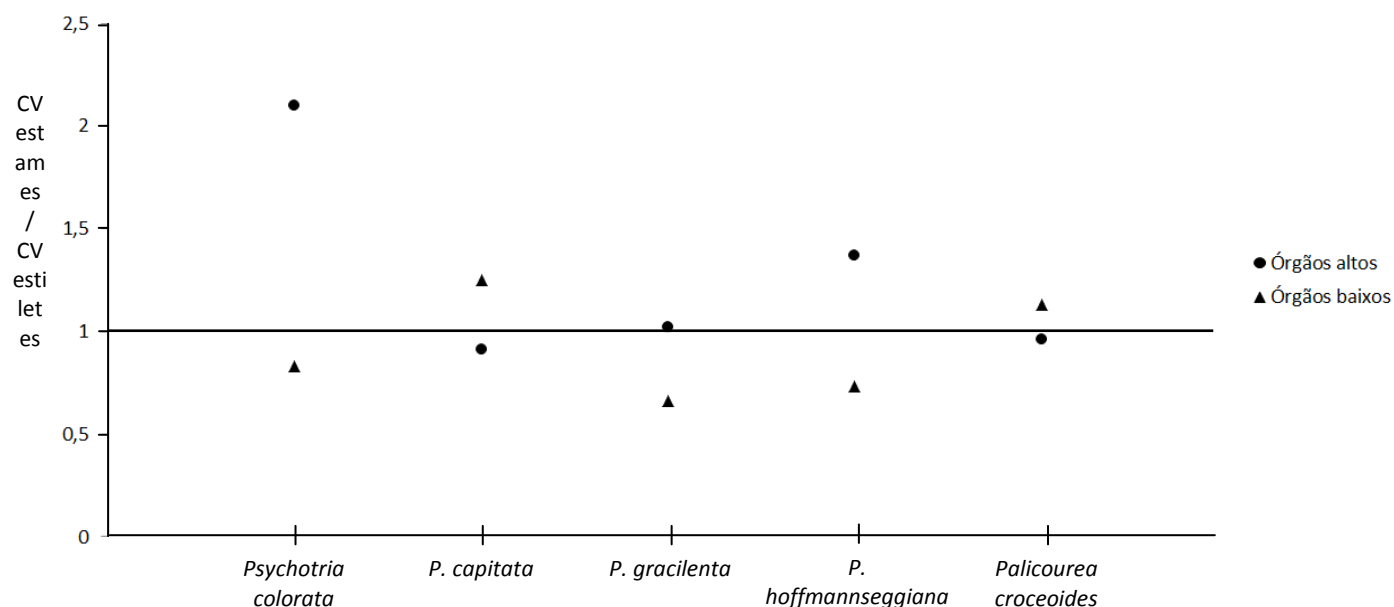


Figura 04 – Distribuição da razão entre o coeficiente de variação de estames pelo coeficiente de variação de estiletos, entre órgãos altos (R_H) e órgãos baixos (R_L) em cinco espécies de Rubiaceae em área de Mata Estacional semidecidual na região Sul do estado de Goiás-Brasil. Valores maiores que um indicam que a variação na altura dos estames é maior que a variação na altura dos estiletos, valores menores que um indicam que a variação na altura dos estiletos é maior que a variação na altura dos estames, indicando reciprocidade entre os órgãos.

4.6 - Discussão

Populações de espécies distílicas que apresentam variações do sistema reprodutivo, demonstrando anisopleitia (ZHOU et al. 2012), monomorfismo (OLIVEIRA 2008, CONSOLARO 2008, RODRIGUES & CONSOLARO 2013), e homostilia (COELHO e BARBOSA 2003; CONSOLARO 2008) vem, cada vez mais, sendo descritas, principalmente em ambientes marginais, ou com intensas pressões ambientais, como é o caso do Cerrado. Muitos dos trabalhos que destacam essas populações citam a grande influência que pequenas variações na hercogamia recíproca podem gerar no sucesso reprodutivo dessas populações (FAIVRE & MCDADE, 2001; WU et al. 2010; VALOIS-CUESTA et al. 2011). Mas antes de influenciar a hercogamia recíproca, alterações na altura de estames e estigma, afetam diretamente a separação entre as peças masculinas e femininas dentro da flor, o que pode alterar de forma marcante a capacidade de auto interferência e auto deposição de pólen (BODBYL-ROELS & KELLY 2011; BRAMOW et al. 2012), o que geralmente ocorre em populações e indivíduos monomórficos ou homostílicos.

A redução da hercogamia entre as peças reprodutivas, característica básica da homostilia, como em *Palicourea macrobotrys* (COELHO E BARBOSA 2003) e *Palicourea coriaceae* (CONSOLARO 2008), aumenta as chances de autopolinização, o que pode trazer vantagens (BRAMOW et al. 2012). Um

trabalho atual que trouxe informações interessantes sobre a influência recíproca das peças reprodutivas dentro da flor, gerando auto interferência, foi o de Li et al (2013). Esses autores estudaram espécies do gênero *Epimedium*, e avaliaram a influência da hercogamia e dicogamia na auto interferência entre as peças reprodutivas. Os resultados demonstraram que a hercogamia é mais eficiente do que a dicogamia e também que quanto mais forte a hercogamia, menos interferência entre os órgãos sexuais ocorre, demonstrando a influência da separação estigma/antera na taxa de deposição de auto pólen.

Espécies homostílicas vêm sendo citadas como mais bem sucedidas do que heterostílicas em condições ecológicas que limitam o polinizador, influenciam a abundância da atividade de visitação, ou ainda quando reduzem a densidade dos morfos, como exemplo em *Amsinckia*, (GANDERS 1975); Plumbaginaceae, (BAKER 1966); *Primula* (KELSO 1992; RICHARDS 2003; GUGGISBERG et al. 2006); *Psychotria*, (SAKAI & WRIGHT 2008); *Turnera* (BARRETT & SHORE 1987). Alguns exemplos de espécies que perderam a distília para a homostília podem ser encontrados em descrições de espécies de ambientes alpinos ou árticos (DARWIN 1877; RICHARDS 2003 e VOS et al. 2012), tudo isso talvez como uma estratégia de manutenção das populações e segurança reprodutiva (FAUSTO-JR et al. 2001; FENSTER & MARTÍN-RODRIGUEZ 2007; MARTÍN-RODRIGUEZ & FENSTER 2010).

O trabalho de Vallejo-Marín & Barrett (2009), trabalhando com *Eichornia paniculata* identificaram uma maior redução da hercogamia no morfo medistílico, sem uma associação com alterações dos traços florais, e juntamente com essa redução a modificação do sistema reprodutivo, se tornando auto compatível, demonstrando um possível caminho para o monomorfismo ou a homostília. Já o trabalho de Kissling & Barrett (2013), trabalhando com o gênero *Exochaenium* (Gentianaceae) identificaram diversas características hercogâmicas nas espécies estudadas, e reconheceram a quebra da distília em algumas espécies, com uma clara redução da hercogamia intra floral nessas espécies, resultado similar ao encontrado no presente estudo, com clara redução da hercogamia a medida que as formas variantes surgem.

Algumas populações homostílicas retêm reações de incompatibilidade dialélica residual, sugerindo que elas se originaram de longi-homostílicos recombinantes com estigmas e anteras em alturas equivalentes (TAMARI et al. 2001). Outras características, como a presença de separação espacial entre os órgãos masculinos e femininos em plantas homostílicas (hercogamia), já foram descritos em *Primula* (AL WADI & RICHARDS 1993; TREMAYNE & RICHARDS, 1993); em *Amsinckia* (JOHNSTON & SCHOEN 1996); em *Turnera* (BARRETT & SHORE 1987); *Narcissus* (MEDRANO et al. 2005; LARRINAGA et al. 2009) e *Palicourea* (COELHO & BARBOSA 2003), como podemos perceber nas populações homostílicas avaliadas, que mesmo apresentando pequena hercogamia, ela é evidente. Do mesmo modo que em populações monomórficas, que se imagina como a situação intermediária do

processo evolutivo, apresenta hercogamia um pouco maior que dos indivíduos homostílicos, mas menor que as populações distílicas típicas, mas apresentando diferença significativa.

Outros trabalhos destacaram que essas diferenças hercogâmicas em plantas homostílicas podem atuar negativamente na taxa de autopolinização espontânea (BREESE, 1959; HOLTSFORD & ELLSTRAND 1992; BELAOUSSOFF & SHORE 1995; KARRON et al. 1997; BRUNET & ECKERT 1998; MOTTEN & STONE, 2000; HERLIHY & ECKERT 2007; MEDRANO et al. 2005), pois o aumento da distância estigma/antera pode reduzir o número de auto pólen depositado sobre o estigma (WEBB & LLOYD 1986), dando força a questão da seleção da autopolinização quando a hercogamia é reduzida (BRAMOW et al. 2012).

A transição da heterostilia para a homostilia é a mais frequente mudança evolutiva em biologia floral e sistemas de cruzamento que ocorre em grupos heterostílicos (BARRETT & SHORE 2008; KISSLING & BARRETT 2013). Alguns trabalhos como o de Vos et al. (2012), estudando as variações em populações homostílicas, identificaram certo grau de hercogamia e variação dessa hercogamia ao longo da antese floral, flores novas possuem uma hercogamia maior que flores mais velhas (flores duram de 6 a 12 dias). Dessa forma, é concebível que esta variação no desenvolvimento da flor, se suficientemente grande para afetar a função floral, pode oferecer oportunidades de acasalamento contrastantes em diferentes estágios de antese, incluindo a possibilidade de atraso na autopolinização espontânea. Os autores sugerem uma estratégia de segurança reprodutiva para essa situação. Outros trabalhos também descrevem oportunidades de acasalamento que mudam com a idade da flor, embora a evidência experimental seja pouco estudada (MARSHALL et al. 2010). Essas questões reforçam as hipóteses de estratégias de segurança reprodutiva em plantas (MARTÉN-RODRIGUEZ & FENSTER 2010) e mesmo não sendo avaliado nesse estudo levantam muitas questões para a família Rubiaceae e principalmente o gênero *Palicourea*.

Mesmo com alterações nas características florais, o sucesso na seleção de formas variantes da distilia, depende da redução ou perda da incompatibilidade, e uma característica que se pode relacionar com a perda da incompatibilidade é a redução do tamanho das flores e de suas características (ORNDUFF 1969; LI & JOHNSTON 2001; LI & JOHNSTON 2010; BRAMOW et al. 2012; KISSLING & BARRETT 2013), ou ainda a redução da hercogamia intra floral (VALLEJO-MÁRIN & BARRETT 2009; KISSLING & BARRETT 2013), pois é considerada como uma característica que promove a autopolinização, como descrito em espécies de *Mimulus* (FENSTER et al. 1995). Espécies xenógamas geralmente apresentam grandes flores medidas pelo peso seco de biomassa comparado com flores autógamas (CRUDEN & LYON 1985). Nesse caso a diferença morfológica no tamanho das flores,

evidenciado em vários trabalhos com Rubiaceae, pode ser um indício do comportamento reprodutivo e das estratégias selecionadas.

Essa mudança para a predominância da autocompatibilidade ocorreu em várias ocasiões, dentro de vários gêneros (LI & JOHNSTON 2001; LI & JOHNSTON 2010; KISSLING & BARRETT 2013), provavelmente em resposta à seleção para a garantia da reprodução em condições onde um serviço de polinização não era confiável (BARRETT & SHORE 2008; MARTÉN-RODRIGUEZ & FENSTER 2010). Embora a aquisição da homostilia esteja associado com a presença de flores pequenas e a perda de traços florais que favoreçam o cruzamento, como o observado em *Waltheria ovata* (BRAMOW et al. (2012), *Mimulus guttatus* (BODBYL-ROELS & KELLY 2011), *Psychotria* (SAKAI & WRIGHT 2008); *Eichornia* (KOHN et al. 1996), e *Amsinckia* (SCHOEN et al. 1997; LI & JOHNSTON 2010), outras características podem ser vistas, como por exemplo em *Turnera*, onde algumas populações homostílicas têm flores grandes e apresentam um grau moderado de hercogamia, além de exibirem sistemas de cruzamento mistos (BELAOUSSOFF & SHORE 1995).

Charlesworth & Charlesworth (1979) sugerem que se um morfo homostílico possui autocompatibilidade maior que zero e depressão endogâmica menor que 0,5 quando introduzido em populações distílicas, ele tende a substituir os outros morfos. Mas isto não é comum, pois vários trabalhos encontram poucos indivíduos homostílicos (BIR-BAHADUR 1970; CROSBY 1949; PAILLER et al. 1998; CONSOLARO et al. 2009), enquanto outros encontram um predomínio desse morfo nas populações (BOYD et al. 1990; COELHO & BARBOSA 2003; CONSOLARO et al. 2011). Não havendo até o momento uma explicação lógica para essa variação. No levantamento realizado, somente três populações de indivíduos homostílicos foram registrados, dificultando as análises sugeridas.

Boyd et al. (1990) em estudo realizado com *Primula vulgaris* avaliou sobrevivência, polinização e razão entre morfos em diferentes populações e encontrou resultados interessantes. Com relação à densidade de morfos, sobrevivência, tamanho da planta e crescimento clonal não encontraram desvantagem ecológica para os longi homostílicos, e em alguns casos encontraram um aumento da proporção de homostílicos na população. O resultado mostra também uma redução na proporção e sobrevivência de brevistílicos. Isto pode ter uma relação direta com a incompatibilidade do grão de pólen longi homostílicos em fecundar flores brevistílicas, como observado no trabalho de Barrett & Shore (2008). E toda essa diversidade de estratégias pode ter uma relação direta com diferentes graus de hercogamia intrafloral funcionando como o início de um processo de alterações no sistema reprodutivo, como o observado por Vallejo-Marín & Barrett (2009).

Uma alteração na eficiência de polinização pode ter sido responsável pela evolução da heterostilia bem como pela sua quebra para a homostilia (GANDERS 1979), isto porque indivíduos homostílicos

quando presentes em grandes populações distílicas terão um baixo sucesso reprodutivo, pois seu fitness adaptativo é menor comparado com indivíduos distílicos. Mas em áreas fragmentadas, onde as populações distílicas estão reduzidas e o serviço de polinização está comprometido, essa característica pode ter uma vantagem adaptativa bem maior e facilmente dominar toda a população (CHARLESWORTH & CHARLESWORTH 1979). Esta questão é uma das vantagens dos indivíduos homostílicos sobre os indivíduos heterostílicos. A produção de sementes nos morfos distílicos é limitada pelo polinizador (PIPER et al. 1984) e, conseqüentemente, homostílicos auto compatíveis às vezes produzem mais sementes do que heterostílicos. Isto foi confirmado por Sakai & Wright (2008) que observaram um maior número de frutos e sementes produzidos pelos indivíduos homostílicos e monomórficos de *Psychotria* na Costa Rica, mesmo recebendo menos visitas que plantas distílicas, podendo ser uma estratégia de segurança reprodutiva demonstrada por essas populações (FAUSTO-JR et al. 2001).

Outra questão que pode favorecer os indivíduos homostílicos, é que o grão de pólen desses indivíduos é capaz de fertilizar flores longistílicas, mas não fecundam as brevistilas, e todas as sementes geradas serão homostílicas quando o pólen parental for um homozigoto e metade das sementes será homostílicas quando o pólen parental for um heterozigoto (BOYD et al. 1990) facilitando ainda mais sua dominância e explicando algumas das vantagens adaptativas. Relacionando mais uma vez com a redução da hercogamia intrafloral destacado nesse trabalho.

Apesar destas vantagens, homostilia manteve-se localizada e rara em populações onde ela foi descoberta à décadas atrás (CURTIS & CURTIS, 1985). Estudos genéticos (PIPER et al. 1984, PIPER & CHARLESWORTH 1986) não foram capazes de explicar o fracasso de indivíduos homostílicos em se espalhar como previsto por modelos populacionais genéticos (FISHER 1949; CROSBY 1949, 1960; BODMER 1960).

Richards (1986) considera que homostílicos provavelmente ocorrem em baixa frequência (<1%) em todas as populações selvagens de *P. vulgaris*, e Ford (1975) e Bodmer (1984) também acreditam nessa baixa frequência dos indivíduos homostílicos, funcionando apenas como uma alternativa de dispersão e colonização de novas áreas. Se assim for, então a presença de frequências mais elevadas de homostilia em apenas algumas populações não pode ser atribuída à raridade do evento de recombinação no supergene que produz este fenótipo. Isto pode ser confirmado pelos trabalhos de Coelho & Barbosa (2003) e Consolaro et al. (2009; 2011), onde populações inteiras de plantas homostílicas, em gêneros dominados por espécies distílicas, foram encontradas.

Richards (1997) destaca também que em ambientes isolados, fragmentados ou perturbados, os indivíduos homostílicos tem uma vantagem maior no estabelecimento, visto que a não dependência de polinizadores, favoreceria a autofertilização e a formação de novos indivíduos, o que dificilmente seria

possível com indivíduos distílicos auto e intra morfo incompatíveis, destacando mais uma vez estratégias de segurança reprodutiva apresentada pelas plantas (MARTÉN-RODRIGUEZ & FENSTER 2010).

Alguns trabalhos trazem explicações interessantes para o surgimento e manutenção de indivíduos e populações homostílicas. Consolaro (2008), estudando *Psychotria* e *Palicourea* no Cerrado, destaca caminhos evolutivos em espécies distílicas, onde a distília seria uma característica primitiva, pressões de seleção diferenciada, influenciada por polinizadores e/ou isolamento, levariam ao predomínio de um dos morfos florais, geralmente associado com autocompatibilidade ou intra morfo compatibilidade gerando populações monomórficas, o que mais tarde levaria a uma homostília auto compatível, transformando completamente o sistema reprodutivo da espécie e/ou população, informações similares também são citadas por (SANTOS-GALLY et al. 2013). E todo esse processo pode ser iniciado pela simples redução da hercogamia intrafloral e a alteração do fluxo simétrico de pólen, aumentando a auto interferência e auto polinização espontânea, associado com a quebra do sistema de auto incompatibilidade (ARROYO & BARRETT 2000).

A partir dos dados observados com as espécies de Rubiaceae, podemos perceber então duas forças seletivas intra florais, uma que favorece o aumento da distância entre os verticilos sexuais, aumentando a hercogamia e ampliando o potencial de xenogamia (FERRERO et al. 2011a), é o caso das espécies distílicas como *Psychotria colorata* e *Palicourea croceoides*; e outra força que reduz a distância entre os verticilos e aumenta as chances de deposição de auto pólen (BODBYL-ROELS & KELLY 2011) como é o caso de *Psychotria prunifolia*. Ambas as forças seletivas com participação direta dos visitantes florais, através da intensidade e qualidade das visitas, como observado por Bramow et al. (2012).

Algo similar também foi registrado por Sakai & Wright (2008) estudando *Psychotria* na Costa Rica, os autores encontraram espécies monomórficas, homostílicas e distílicas, com grande variação na fecundidade e nas taxas de visitação. Mesmo com ampla vantagem na formação de frutos em plantas monomórficas e homostílicas os autores citam que as espécies homostílicas e monomórficas são raras em sua distribuição, e destacam que avaliações de autofertilização em espécies raras merecem uma atenção maior em florestas tropicais.

4.7 - Conclusão

O entendimento das variações de grupos distílicos pode ter uma explicação direta na questão dos polinizadores, nesse caso avaliar a hercogamia intra floral e a reciprocidade entre os morfos é importante. Mas a avaliação das variações intraflorais, ou seja, da hercogamia, é essencial para se identificar mudanças sutis que de certa forma vão alterar todo o sistema reprodutivo mais tarde. Os dados indicam uma tendência interessante entre compatibilidade e redução da hercogamia intrafloral, o que afeta a reciprocidade e aumenta as chances de auto polinização e/ou auto interferência. Aprofundar os estudos nessa questão, a partir de mais populações avaliadas de uma determinada espécie, em mais áreas, aumentando os dados coletados, pode trazer resultados interessantes e alguns questionamentos serem respondidos, entre eles a real força dos polinizadores nas alterações morfológicas dos traços florais.

4.8 - Referências bibliográficas

- AL WADI, H., RICHARDS, A.J. 1993. Primary homostyly in *Primula* L. subgenus *Sphondilia* (Duby) Rupr. and the evolution of distyly in *Primula*. New Phytologist 124:329-338.
- ARROYO, J., BARRETT, S. C. H. 2000. Discovery of Distyly In *Narcissus* (Amaryllidaceae). American journal of botany, 87(5), 748–751.
- ARROYO, J., & DAFNI A. 1995. Variation in habitat, season, flower traits, and pollinators in dimorphic *Narcissus tazetta* L. (Amaryllidaceae) in Israel. New Phytologist 129: 135–145.
- AYRES, M.; AYRES JR., M.; AYRES, D.L. & SANTOS, A.S. 2003. BioEstat 3.0. Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Sociedade Civil Mamirauá /MCT-CNPq /Conservation International.
- BAKER, H.G. 1955. Self compatibility and establishment after long distance dispersal. Evolution, 9, 347–349
- BAKER, H.G. 1966. The evolution, functioning and breakdown of heteromorphic incompatibility systems I. The Plumbaginaceae. Evolution 18:507-512.

- BARRETT S. C. H. & SHORE J. S. 2008. New insights on heterostyly: comparative biology, ecology and genetics. In: Franklin-Tong V. E. (ed.). *Self-Incompatibility in Flowering Plants: Evolution, Diversity, and Mechanisms*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 3–32.
- BARRETT, S. C. H. 2002. The evolution of plant sexual diversity. *Nature reviews. Genetics*, 3(4), 274–84.
- BARRETT, S.C.H., LLOYD, D.G & ARROYO, J. 1996. Styler polymorphisms and the evolution of heterostyly. In: *Floral Biology: Studies on Floral Evolution in Animal-Pollinated Plants* (Eds. D.G. Lloyd & S.C.H. Barrett) pp. 339–376. Chapman & Hall, New York.
- BARRETT, S. C. H. & SHORE, J. S. 1987. Variation and evolution of breeding systems in *Turnera ulmifolia* L. complex (Turneraceae). *Evolution* 41: 340-354.
- BARRETT, S.C.H. 1992. Heterostylous genetic polymorphisms: model systems for evolutionary analysis. In: Barrett, S. C. H. (ed.). *Evolution and function of heterostyly. Monographs on theoretical and applied genetics*. Springer-Verlag, Berlin. p. 1-24.
- BELAOUSSOFF, S. & SHORE, J.S. 1995. Floral correlates and fitness consequences of mating-system variation in *Turnera ulmifolia*. *Evolution*, 49, 545–556.
- BIR BAHADUR. 1970. Heterostyly and homostyly in *Pentas lanceolata* (Forsk.) Delf.
- BJORKMAN, T. 1995. The effectiveness of heterostyly in preventing illegitimate pollination in dish-shaped flowers. *Sex. Plant Reprod.* 8: 143-146.
- BODBYL-ROELS, S., & KELLY, J. K. 2011. Rapid evolution caused by pollinator loss in *Mimulus guttatus*. *Evolution; international journal of organic evolution*, 65(9), 2541–52
- BODMER, W. F. 1984. Sex and generations of primroses. *Nature*, 310, 731.
- BODMER, W. F. 1960. The genetics of homostyly in populations of *Primula vulgaris*. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*, 242, 517-549.
- BOYD, M., SILVERTOWN, J., AND TUCKER, C. 1990. Population ecology of heterostyle and homostyle *Primula vulgaris*: growth, survival and reproduction in field populations. *J. Ecol.* 78: 799–813.

- BRAMOW, C., HARTVIG, I., LARSEN, S. B., & PHILIPP, M. 2012. How a heterostylous plant species responds to life on remote islands: a comparative study of the morphology and reproductive biology of *Waltheria ovata* on the coasts of Ecuador and the Galápagos Islands. *Evolutionary Ecology*, 1-18.
- BREESE, E.L. 1959. Selection for differing degrees of outbreeding in *Nicotiana rustica*. *Annals of Botany NS*, 23, 331–344.
- BRUNET, J. & ECKERT, C.G. 1998. Effects of floral morphology and display on outcrossing in Blue Columbine, *Aquilegia caerulea* (Ranunculaceae). *Functional Ecology*, 12, 596–606.
- CASTRO, C. C., OLIVEIRA, P. E. A M., & ALVES, M. C. 2004. Breeding system and floral morphometry of distylous *Psychotria* L. species in the Atlantic rain forest, SE Brazil. *Plant biology* (Stuttgart, Germany), 6(6), 755–60.
- CASTRO C. C. & ARAÚJO A. C. 2004. Distyly and sequential pollinators of *Psychotria nuda* (Rubiaceae) in the Atlantic rain forest, Brazil. *Plant Systematics and Evolution* 244: 131–139.
- CHARLESWORTH, D. 1979. The Evolution and Breakdown of Tristyly. *Evolution*, 33(1), 486–498.
- CHARLESWORTH, B., & CHARLESWORTH, D. 1979. The Maintenance and Breakdown of Distyly. *The American Naturalist*, 114(4), 499–513.
- 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., 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 *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae). *Plant Species Biology* 26: 24–320.
- CROSBY, J. L. 1949. Selection of an unfavourable gene-complex. *Evolution*, 3, 212-230.
- CROSBY, J. L. 1960. The use of electronic computation in the study of random fluctuations in rapidly evolving populations. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London B*, 242, 551-573.
- CRUDEN, R. W., & LYON, D. L. 1985. Patterns of biomass allocation to male and female functions in plants with different mating systems. *Oecologia*, 66, 299–306.
- CURTIS, J. & CURTIS, C. F. 1985. Homostyle primroses revisited; 1 Variation in time and space. *Heredity*, 54, 227-234.
- DARWIN C.R. 1877. The different forms of flowers on plants of the same species. John Murray, London
- DULBERGER R 1992. Floral polymorphisms and their functional significance in the heterostylous syndrome. In: Barrett SCH (ed) *Evolution and Function of Heterostyly*. Springer-Verlag: New York, pp 41–84
- ECKERT, C.G., SAMIS, K.E. & DART, S. 2006. Reproductive assurance and the evolution of uniparental reproduction in flowering plants. *The Ecology and Evolution of Flowers* (eds L.D. Harder & S.C.H. Barrett), pp. 183–203. Oxford University Press, Oxford.
- ENNOS RA. 1981. Quantitative studies of the mating system in two sympatric species of *Ipomoea* (Convolvulaceae). *Genetica* 57: 93–98.
- FAIVRE, A.M. & 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.
- FARIA, R. R., FERRERO, V., NAVARRO, L., & ARAUJO, A. C. 2011. Flexible mating system in distylous populations of *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae) in Brazilian Cerrado. *Plant Systematics and Evolution*, 298(3), 619–627.
- FAUSTO, JR, J. A.; ECKHART, V.M.; GEBER, M.A. 2001. Reproductive assurance and the evolutionary ecology of self-pollination in *Clarkia xantiana* (Onagraceae). *American Journal of Botany* 88(10): 1794–1800.

- FENSTER, C.B. & MARTÍN-RODRÍGUEZ, S. 2007. Reproductive assurance and the evolution of pollination specialization. *International Journal of Plant Sciences*, 168, 215–228.
- FENSTER, C.B., DIGGLE, P.K., BARRETT, S.C.H. & RITLAND, K. 1995. The genetics of floral development differentiating two species of *Mimulus* (Scrophulariaceae). *Heredity* 74:258–266.
- FERRERO, V., ARROYO, J., CASTRO, S., & NAVARRO, L. 2011a. Unusual heterostyly: style dimorphism and self-incompatibility are not tightly associated in *Lithodora* and *Glandora* (Boraginaceae). *Annals of botany*, 109(3), 655–65.
- FERRERO, V., CHAPELA, I., ARROYO, J., & NAVARRO, L. 2011b. Reciprocal style polymorphisms are not easily categorised: the case of heterostyly in *Lithodora* and *Glandora* (Boraginaceae). *Plant biology* (Stuttgart, Germany), 13 Suppl 1, 7–18.
- FISHER, R. A. 1949. A theoretical system of selection for homostyle *Primula*. *Sankhya*, 9, 325–342.
- FONSECA, L. C. N., ALMEIDA, E. M. DE, & 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(1), 63–69.
- FORD, E. B. 1975. *Ecological Genetics*, 4th edn. Chapman & Hall, London.
- GANDERS, F.R. 1979. The biology of heterostyly. *New Zealand Journal of Botany* 17: 607–635.
- GANDERS, F. R. 1975. Fecundity in Distylous and Self-Incompatible Homostylous Plants of *Mitchella repens* (Rubiaceae). *Evolution*, 29(1), 186–188.
- GARCÍA-CAMACHO, R. & TOTLAND, O. 2009. Pollen limitation in the alpine: a meta-analysis. *Arctic, Antarctic and Alpine Research*, 41, 103–111.
- GUGGISBERG, A., MANSION, G., KELSO, S. & CONTI, E. 2006. Evolution of biogeographic patterns, ploidy levels, and breeding systems in a diploid-polyploid species complex of *Primula*. *New Phytologist*, 171, 617–632.
- HAMILTON, C. W. 1989a. A Revision of Mesoamerican *Psychotria* Subgenus *Psychotria* (Rubiaceae), Part II: Species 17–47. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 76(2), 386–429.
- HAMILTON, C. W. 1989b. A Revision of Mesoamerican *Psychotria* Subgenus *Psychotria* (Rubiaceae), Part III: Species 48–61 and Appendices. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 76(3), 886–916.

- HAMILTON, C. W. 1989c. A Revision of subgenus *Psychotria* (Rubiaceae), part i : introduction and Species 1-16. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 76(1), 67–111.
- HERLIHY, C.R. & ECKERT, C.G. 2007. Evolutionary analysis of a key floral trait in *Aquilegia canadensis* (Ranunculaceae): Genetic variation in herkogamy and its effect on the mating system. *Evolution*, 61, 1661–1674.
- HERNÁNDEZ, A., & ORNELAS, J. F. 2007. Disassortative pollen transfer in distylous *Palicourea padifolia* (Rubiaceae), a hummingbird-pollinated shrub 1. *Ecoscience*, 14(1), 8–16.
- HOLTSFORD, T.P. & ELLSTRAND, N.C. 1992. Genetic and environmental variation in floral traits affecting outcrossing rate in *Clarkia tembloriensis* (Onagraceae). *Evolution*, 46, 216–225.
- JIA, J., & TAN, D. Y. 2012. Variation in style length and anther–stigma distance in *Ixiolirion songaricum* (Amaryllidaceae). *South African Journal of Botany*, 81, 19–24.
- JOHNSTON, M.O. & SCHOEN, D.J. 1996. Correlated evolution of self-fertilization and inbreeding depression: an experimental study of nine populations of *Amsinckia* (Boraginaceae). *Evolution*, 50, 1478–1491.
- KARRON, J.D., JACKSON, R.T., THUMSER, N.N. & SCHLICHT, S.L. 1997. Out-crossing rates of individual *Mimulus ringens* genets are correlated with anther-stigma separation. *Heredity*, 79, 365–370.
- KELSO, S. 1992. The genus *Primula* as a model for evolution in the Alaskan flora. *Arctic and Alpine Research*, 24, 82–87.
- KISSLING, J. & BARRETT, S.C.H. 2013. Variation and evolution of herkogamy in *Exochaenium* (Gentianaceae): implications for the evolution of distyly. *Annals of Botany* 112: 95–102, 2013
- KOCH, A. K., SILVA, P. C. DA, & SILVA, C. A. 2010. Biologia reprodutiva de *Psychotria carthagenensis* (Rubiaceae), espécie distílica de fragmento florestal de mata ciliar, Centro-Oeste do Brasil. *Rodriguésia*, 61(3), 551–558.
- KOHN, J.R., GRAHAM, S.W., MORTON, B., DOYLE, J.J. & BARRETT, S.C.H. 1996. Reconstruction of the evolution of reproductive characters in Pontederiaceae using phylogenetic evidence from chloroplast DNA restriction-site variation. *Evolution*, 50, 1454–1469.

- LARRINAGA, A.R., GUITIÁN, P., GARRIDO, J.L. & GUITIÁN, J. 2009. Floral morphology and reproductive success in herkogamous *Narcissus cyclamineus* (Amaryllidaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 278, 149–157.
- LAU, P., & BOSQUE, C. 2003. Pollen flow in the distylous *Palicourea fendleri* (Rubiaceae): an experimental test of the Disassortative Pollen Flow Hypothesis. *Oecologia*, 135(4), 593–600.
- LI, X.X., ZOU, Y., XIAO, C.L., GITURU, R. W., GUO, Y.-H., & YANG, C.F. 2013. The differential contributions of herkogamy and dichogamy as mechanisms of avoiding self-interference in four self-incompatible *Epimedium* species. *Journal of evolutionary biology*, 1–10.
- LI, A.-M., WU, X.-Q., ZHANG, D.-X., & BARRETT, S. C. H. 2010. Cryptic dioecy in *Mussaenda pubescens* (Rubiaceae): a species with stigma-height dimorphism. *Annals of botany*, 106(4), 521–31.
- LI, P. & JOHNSTON, M.O. 2010. Flower development and the evolution of self-fertilization in *Amsinckia*: the role of heterochrony. *Evolutionary Biology*, 37, 143–168.
- LI, P., & JOHNSTON, M. O. 2001. Comparative floral morphometrics of distyly and homostyly in three evolutionary lineages of *Amsinckia* (Boraginaceae). *Canadian Journal of Botany*, 79, 1332–1348.
- LLOYD, D. G., & SCHOEN, D. J. 1992. Self and cross fertilization in plants I Functional Dimensions. *International Journal of Plant Sciences*, 153(3), 358–369.
- LLOYD D. G. & WEBB C. J. 1992a The evolution of heterostyly. In: Barrett S. C. H. (ed.). *Evolution and Function of Heterostyly*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 151–178.
- LLOYD D. G. & WEBB C. J. 1992b The selection of heterostyly. In: Barrett S. C. H. (ed.). *Evolution and Function of Heterostyly*. Springer-Verlag, Berlin, pp. 179–207.
- LLOYD, D. G. 1980. Demographic factors and mating patterns in Angiosperms. In O. T. Solbrig [ed.], *Demography and evolution in plant populations*, 67–88. Blackwell, Oxford, UK
- LOPES, L. E., & BUZATO, S. 2005. Biologia reprodutiva de *Psychotria suterella* Muell. Arg. (Rubiaceae) e a abordagem de escalas ecológicas para a fenologia de floração e frutificação. *Revista Brasileira de Biociências*, 28(4), 785–795.
- MACHADO, I. C., LOPES, A. V, & SAZIMA, M. 2010. Contrasting bee pollination in two co-occurring distylic species of *Cordia* (Cordiaceae, Boraginales) in the Brazilian semi-arid Caatinga: generalist

- in *C. globosa* vs. specialist in *C. leucocephala*. Anais da Academia Brasileira de Ciências, 82(4), 881–91. Retrieved from <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21152762>
- MARSHALL, D.L., AVRITT, J.J., MALIAKAL-WITT, S., MEDEIROS, J.S. & SHANER, M. G.M. 2010. The impact of plant and flower age on mating patterns. *Annals of Botany*, 105, 7–22.
- MARTÍN-RODRÍGUEZ, S. & FENSTER, C.B. 2010. CHARLES B. Pollen limitation and reproductive assurance in Antillean Gesneriaceae: a specialists vs. generalist comparison. *Ecology*, 91(1), 2010, pp. 155–165
- MARUYAMA, P. K., AMORIM, F. W., & OLIVEIRA, P. E. 2010. Night and day service: Distyly and mixed pollination system in *Faramea cyanea* (Rubiaceae). *Flora - Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants*, 205(12), 818–824.
- MEDRANO, M., HERRERA, C. M., & BARRETT, S. C. H. 2005. Herkogamy and mating patterns in the self-compatible daffodil *Narcissus longispathus*. *Annals of botany*, 95(7), 1105–11.
- MENDONÇA, L. B., & ANJOS, L. DOS. 2006. Flower morphology, nectar features, and hummingbird visitation to *Palicourea crocea* (Rubiaceae) in the Upper Paraná River floodplain, Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 78(1), 45–57.
- MOTTEN, A.F. & STONE, J.L. 2000. Heritability of stigma position and the effect of stigma-anther separation on outcrossing in a predominantly self-fertilizing weed, *Datura stramonium* (Solanaceae). *American Journal of Botany*, 87, 339–347
- NOVO, R. R. 2010. Biologia reprodutiva de *Guettarda platypoda* Dc . (Rubiaceae) em uma área de restinga no estado de Pernambuco. Dissertação de mestrado. Universidade Federal Rural de Pernambuco.
- OLIVEIRA, A.S. 2008. Biologia reprodutiva de *Psychotria* L. (Rubiaceae) em floresta estacional semidecidual no sudeste brasileiro. Dissertação de Mestrado. Unicamp.
- ORNDUFF, R. 1969. Reproductive biology in relation to systematics. *Taxon*, 18, 121–133.
- PAILLER, T., HUMEAU, L., FIGIER, J., & THOMPSON, J. D. 1998. Reproductive trait variation in the functionally dioecious and morphologically heterostylous island endemic *Chassalia corallioides* (Rubiaceae). *Biological Journal of the Linnean Society*, 64(3), 297–313.

- PASSOS, L., & SAZIMA, M. 1995. Reproductive biology of the distylous *Manettia luteo-rubra* (Rubiaceae). *Botanica Acta*, 108, 309–313.
- PELISSARO, T. M. 2012. Fenologia e biologia floral de três espécies simpátricas de *Psychotria* L. (Rubiaceae) em floresta estacional em Santa Maria, RS, Brasil. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Santa Maria.
- PERERIA, Z. V, VIEIRA, M. F., & CARVALHO-OKANO, R. M. De. 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(3), 471–480.
- PIPER, J. G. & CHARLESWORTH, B. 1986. The evolution of distyly in *Primula vulgaris*. *Biological Journal of the Linnean Society* 29, 1223-1237.
- PIPER, J.G., CHARLESWORTH, B. & CHARLESWORTH, D. 1984. A high rate of self-fertilization and increased seed fertility of homostyle primroses. *Nature*, 310,50–51.
- REE, R. H. 1997. Pollen Flow , Fecundity , and the Adaptive Significance of Heterostyly in *Palicourea padifolia* (Rubiaceae). *Biotropica*, 29(3), 298–308.
- RICHARDS, A.J. 2003. *Primula*, 2nd edn. Timber, Batsford, London.
- RICHARDS, A.J. 1986. Plant breeding systems. Allen & Unwin, London
- RICHARDS, J.H. & KOPTUR, S. 1993. Floral variation and distyly in *Guettarda scraba* (Rubiaceae). *American Journal of Botany* 80:31-40
- RICHARDS, A. J. 1997. Plant breeding systems, 2nd ed. Chapman and Hall, London, UK.
- RIVEROS, G. M., BARRIA, O. R., & HUMANA, A. M. 1995. Self-compatibility in distylous *Hedyotis salzmannii* (Rubiaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 194, 1–8.
- RODRIGUES, E. B., & CONSOLARO, H. 2013. Atypical distyly in *Psychotria goyazensis* Mull . Arg . (Rubiaceae), an intramorph self-compatible species. *Acta Botanica Brasilica*, 27(1), 155–161.
- SCHOEN, D.J., JOHNSTON, M.O., L'HEUREUX, A.-M. & MARSOLAIS, J.V. 1997 Evolutionary history of the mating system in *Amsinckia* (Boraginaceae). *Evolution*, 51, 1090–1099.
- SAKAI S. & WRIGHT S. J. 2008. Reproductive ecology of 21 coexisting *Psychotria* species (Rubiaceae): heterostyly lost? *Biological Journal of the Linnean Society* 93: 125–134.

- SAMPSON, D. A., & KREBS, R. A. 2012. Quantitative evaluation of reciprocal herkogamy in the distylous species, *Hedyotis caerulea* (Rubiaceae). *Plant Systematics and Evolution*, 298(7), 1361–1370.
- SANTOS-GALLY, R., GONZALEZ-VOYER, A., & ARROYO, J. 2013. Deconstructing Heterostyly: the Evolutionary Role of Incompatibility System, Pollinators, and Floral Architecture. *Evolution of flower polymorphism in Daffodils*, 1-11
- SANTOS, O. D. A., WEBBER, A. C., & COSTA, F. R. C. 2008. Biologia reprodutiva de *Psychotria spectabilis* Steyrm. e *Palicourea cf. virens* (Poepp & Endl.) Standl. (Rubiaceae) em uma floresta tropical úmida na região de Manaus, AM, Brasil. *Acta Botanica Brasilica*, 22(1), 275–285.
- SOBREVILA, C.; RAMIREZ, N. & ENRECH, N. X. 1983. Reproductive biology of *Palicourea fendleri* and *P. petiolares* (Rubiaceae), heterostylous shrubs of a tropical cloud forest in Venezuela. *Biotropica* 15: 161-169.
- TAMARI, F., A. ATHANASIOU, AND J. S. SHORE. 2001. Pollen tube growth and inhibition in distylous and homostylous *Turnera* and *Piriqueta* (Turneraceae). *Canadian Journal of Botany* 79: 578–591.
- TEIXEIRA, L. A. G., & MACHADO, I. C. 2004a. *Sabicea cinerea* Aubl. (Rubiaceae): distília e polinização em um fragmento de floresta Atlântica em Pernambuco, Nordeste do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 27(1), 193–204.
- TEIXEIRA, L. A. G., & MACHADO, I. C. 2004b. Biologia da polinização e sistema reprodutivo de *Psychotria barbiflora* DC. (Rubiaceae). *Acta Botanica Brasilica*, 18(4), 853–862.
- TREMAYNE, M. & RICHARDS, A.J. 1993. Homostyly and herkogamous variation in *Primula* L. section *Muscarioides* Balf-F. *Evolutionary Trends In Plants*, 7,67–72.
- VALLEJO-MARÍN, M. & BARRETT S.C.H. 2009. Modification of flower architecture during early stages in the evolution of self-fertilization. *Annals of Botany* 103: 951–962
- VALOIS-CUESTA, H., LÓPEZ-PEREA, D. Y., & QUINTO-VALOYES, Z. 2009. Reproductive ecology of *Psychotria poeppigiana* (Rubiaceae): a comparative analysis between long-styled and short-styled plants *ecología de la reproducción de Psychotria poeppigiana* (Rubiaceae): un análisis comparativo entre plantas longiestiladas y br. *Ecotrópicos*, 22(1), 1–12.

- VALOIS-CUESTA, H., SORIANO, P. J., & ORNELAS, J. F. 2012. Gender specialization in *Palicourea demissa* (Rubiaceae), a distylous, hummingbird-pollinated treelet. *Plant Systematics and Evolution*, 298(5), 975–984.
- VALOIS-CUESTA, H., SORIANO, P. J., & ORNELAS, J. F. 2011. Dimorphisms and self-incompatibility in the distylous species *Palicourea demissa* (Rubiaceae): possible implications for its reproductive output. *Journal of plant research*, 124(1), 137–46.
- VIRILLO, C. B.; RAMOS, F. N. R.; CASTRO, C. C. & SEMIR, J. 2007. Floral biology and breeding system of *Psychotria tenuinervis* Muell. Arg. (Rubiaceae) in the Atlantic rain forest, SE Brazil. *Acta Botanica Brasilica* 21: 879-884.
- VOS, J. M., KELLER, B., ISHAM, S. T., KELSO, S., & CONTI, E. 2012. Reproductive implications of herkogamy in homostylous primroses: variation during anthesis and reproductive assurance in alpine environments. (T.-L. Ashman, Ed.) *Functional Ecology*, 26(4), 854–865.
- WEBB, C.J. & LLOYD, D.G. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in Angiosperms II. *Hercogamy*. *New Zealand Journal of Botany* 24:163-178
- WOLFE, L.M. & BARRETT, S.C.H. 1989. Patterns of pollen removal and deposition in tristylous *Pontederia cordata* L. (Pontederiaceae). *Biological Journal of the Linnean Society* 36: 17–329
- WU, X., LI, A, & ZHANG, D. 2010. Cryptic self-incompatibility and distyly in *Hedyotis acutangula* Champ. (Rubiaceae). *Plant biology (Stuttgart, Germany)*, 12(3), 484–94.
- ZHOU, W., BARRETT, S. C. H., WANG, H., & LI, D. Z. 2012. Loss of floral polymorphism in heterostylous *Luculia pinceana* (Rubiaceae): a molecular phylogeographic perspective. *Molecular ecology*, 21, 4631–4645.

CONCLUSÃO GERAL

Quando se finda um trabalho dessa natureza é mais fácil chegar a diversas dúvidas do que resolver algum questionamento prévio. Os dados demonstraram que as espécies de *Psychotria* e *Palicourea* avaliadas apresentam diferentes mecanismos de resposta reprodutiva, sendo geralmente distílicas, isopléticas, autoincompatíveis e com hercogamia recíproca não perfeita. Das 10 espécies identificadas nos 20 fragmentos avaliados, somente duas espécies se mostraram anômalas com relação a distília, apresentando monomorfismo e homostília, além de autocompatibilidade. As condições dos fragmentos, como tamanho e condição ambiental pode não ser a causa direta dessas alterações, já que isso pode ter uma origem em eventos estocásticos, biogeográficos e evolutivos que as espécies podem sofrer ao longo de sua história evolutiva. Identificar as reais pressões que fazem essas características surgirem e se fixarem em uma população e/ou espécie é um dos maiores desafios presentes no estudo reprodutivo de espécies heterostílicas.

Algumas conclusões merecem uma atenção maior, como a ampla distribuição, nos fragmentos, da espécie *Psychotria prunifolia* que se mostra monomórfica e autocompatível. Essa característica, trás vantagem para essa espécie no momento da colonização e/ou na escassez de polinizadores em uma área, mas essa mesma questão não pode ser pensada no caso da espécie homostílica *Palicourea macrobotrys*, visto que esta espécie foi encontrada em somente um fragmento e com apenas um indivíduo identificado, não apresentando nenhuma dominância nas áreas, mesmo sendo autocompatível. A autocompatibilidade encontrada nas populações longimonomórficas de *Psychotria prunifolia* pode não ter uma base genética forte como descrito para outras espécies de espécies heterostílicas, isto porque, mesmo com as características distílicas presentes na população (anteras mais baixas que o estigma) a compatibilidade foi evidenciada, ou seja a autocompatibilidade pode não estar totalmente relacionada com a quebra do sistema heteromórfico, sendo que o oposto já foi descrito em outros trabalhos, demonstrando a importância de estudos mais detalhados do sistema heteromórfico e da compatibilidade em Rubiaceae.

As variações dos graus de hercogamia intra e intermorfo demonstrado pelas populações avaliadas mostram que mesmo com diferentes níveis de reciprocidade as populações estão equilibradas com relação a razão entre morfos, o que indica uma funcionalidade dos polinizadores com relação ao fluxo de pólen. Podemos concluir dessa forma que pequenas alterações nos graus de hercogamia, em populações distílicas, não desequilibram o fluxo de pólen causando variações nos sistemas distílicos. Mas se essas variações na hercogamia forem, de certa forma, um pouco mais acentuadas, como nas populações monomórficas ou homostílicas, isso pode ser o início de um processo de alteração de todo mecanismo distílico, reforçando uma maior deposição de auto pólen e auto interferência das peças sexuais fazendo surgir dessa forma as populações variantes autocompatíveis.

Entender as pressões que levam as espécies a esses caminhos evolutivos que geram a quebra ou a manutenção da heterostilia, principalmente na família Rubiaceae e mais especificamente na tribo Psychotrieae ainda são muito pouco conhecidos. Avançar os estudos nas questões funcionais, genéticas e filogenéticas são essenciais para se entender os benefícios e prejuízos que essas características anômalas trazem para as populações envolvidas, ainda mais em fragmentos florestais isolados. Temos muito trabalho pela frente...