



UNIVERSIDADE FEDERAL DE UBERLÂNDIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ECOLOGIA E CONSERVAÇÃO
DE RECURSOS NATURAIS

**VARIAÇÕES FLORAIS E HETEROSTILIA EM *Palicourea rigida*
(RUBIACEAE) NOS CERRADOS DO BRASIL CENTRAL**

ADRIANA DE OLIVEIRA MACHADO

2007

ADRIANA DE OLIVEIRA MACHADO

**VARIAÇÕES FLORAIS E HETEROSTILIA EM *Palicourea rigida*
(RUBIACEAE) NOS CERRADOS DO BRASIL CENTRAL**

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

ORIENTADOR

Prof. Dr. Paulo Eugênio Alves Macedo de Oliveira

Uberlândia

Março - 2007

ADRIANA DE OLIVEIRA MACHADO

**VARIAÇÕES FLORAIS E HETEROSTILIA EM *Palicourea rigida*
(RUBIACEAE) NOS CERRADOS DO BRASIL CENTRAL**

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

Aprovada em 28 de Fevereiro de 2007

Profa. Dra. Cibeles Cardoso de Castro UFRP

Profa. Dra. Ana Angélica Almeida Barbosa UFU

Profa. Dra. Renata Carmo de Oliveira (Suplente) UFU

Prof. Dr. Paulo Eugênio Alves Macedo de Oliveira
UFU
(Orientador)

Uberlândia
Março - 2007

*Dedico este trabalho a meus pais, Antonio e Neiva, que
tornaram possível mais esta conquista.
Espero que ele seja apenas o início do agradecimento e
recompensa que desejo proporcionar-lhes.
Amo-os e, de coração, agradeço por tudo que fizeram
por mim, sempre!*

AGRADECIMENTOS

Ao Prof. Paulo Eugênio, orientador que verdadeiramente orienta! Por todos os seus conselhos, idéias, apoio, e ensinamentos, sempre com muita sabedoria e paciência;

À minha família pelo apoio e sustento;

À Universidade Federal de Uberlândia pela infra-estrutura;

Ao PESCAN e ao Caça e Pesca por permitirem a realização do trabalho de campo nas suas dependências;

Ao Clesnan pela colaboração na coleta de alguns dados e nos testes estatísticos;

Ao Alexandre pelo auxílio na identificação dos beija-flores;

Ao Fred pelas caronas no incansável percurso Araguari-Uberlândia;

A todos os companheiros de curso pela amizade, companheirismo e alegrias, principalmente à Vanessa por tantas acolhidas;

À Maria Angélica por ajudar sempre nas necessidades burocráticas e por ser sempre tão prestativa e gentil;

Por último, mas não menos importante, a Deus por mais esta oportunidade e por permitir que, mesmo com todas as dificuldades, eu pudesse chegar ao fim de mais uma etapa de minha vida acadêmica.

*“Só se preserva aquilo que se ama,
e só se ama aquilo que se conhece!”*

SUMÁRIO

RESUMO	x
ABSTRACT	xi
INTRODUÇÃO	1
MATERIAL E MÉTODOS	7
A espécie estudada	7
Áreas de estudo	8
Coleta de dados	12
RESULTADOS	15
Características populacionais	15
Isoplethia	15
Morfometria e néctar	17
Sucesso reprodutivo	19
Auto-incompatibilidade	23
Visitantes florais e polinizadores	25
DISCUSSÃO	26
Caracterização das populações	26
Isoplethia	27
Diferenças morfométricas e produção de néctar	29
Sucesso reprodutivo	31
Auto-incompatibilidade	34
Polinizadores	36
CONCLUSÕES	38
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	39

ÍNDICE DE TABELA E FIGURAS

TABELA 1. Medidas florais (em centímetros) em flores brevistilas e longistilas de <i>Palicourea rigida</i> H. B. K. (Rubiaceae) no PESCAN e no CCPIU (Média $\pm$ Desvio Padrão). Médias seguidas de diferentes letras na mesma linha indicam diferenças significantes ao nível de $P < 0,05$ para comparações entre os morfos em cada população.....	18
FIGURA 1. Localização de Caldas Novas - GO e do Parque Estadual da Serra de Caldas Novas - PESCAN. Retângulo negro representa a área aproximada de estudo. (Fonte: Modificado de Lima-Ribeiro <i>et al.</i> 2006).....	09
FIGURA 2. Localização de Uberlândia - MG e do Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia - CCPIU. Retângulo negro representa a área aproximada de estudo. (Fonte: Modificado de Apolinário 1995).....	11
FIGURA 3. Aspectos da morfologia floral e biologia reprodutiva de <i>Palicourea rigida</i> H. B. K. (Rubiaceae). a e b: flores (superior: longistila; inferior: brevistila); b: flores em corte longitudinal; c: <i>Eupetomena macroura</i> visitando flor de <i>P. rigida</i> ; d: infrutescência; e: detalhe das cicatrizes de frutos caídos (seta vermelha) e flor abortada (seta branca).....	16
FIGURA 4. Alturas (cm) dos estiletes e dos estames de flores brevistilas e longistilas de <i>Palicourea rigida</i> H. B. K. (Rubiaceae). a: PESCAN, b: CCPIU.....	20
FIGURA 5. Porcentagem de pistilos com grãos-de-pólen germinando nos estigmas de flores de <i>Palicourea rigida</i> H. B. K. (Rubiaceae). Categoria 2: um a 10 grãos-de-pólen, categoria 3: 11 a 50 grãos-de-pólen, categoria 4: mais de 50 grãos-de-pólen. a: PESCAN, b: CCPIU.....	22

FIGURA 6. Crescimento de tubos polínicos em estigmas e estiletes de *Palicourea rigida* H. B. K. (Rubiaceae) após 6 horas de polinização manual. a: autopolinização em flor brevistila; b: polinização ilegítima em flor brevistila; c e e: polinização ilegítima em flor longistila (seta mostra região até onde crescem os tubos polínicos); d: autopolinização em flor longistila; f: grãos-de-pólen legítimos germinando em estigma de flor brevistila; g: grãos-de-pólen legítimos germinando em estigma de flor longistila (seta mostra os tubos polínicos chegando ao final do estilete). Micrografias a, b, d e f: escala= 100µm; c e g: escala= 200µm; e: escala= 1000µm.....24

RESUMO

Machado, Adriana O. 2007. Variações florais e heterostilia em *Palicourea rigida* H.B.K. (Rubiaceae) nos Cerrados do Brasil Central. Dissertação de Mestrado em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais. UFU. Uberlândia, MG. 47p.

A distília é um polimorfismo floral controlado geneticamente, onde as populações apresentam indivíduos com flores longistilas, que possuem estiletes longos e estames curtos, e indivíduos com flores brevistilas, que possuem estiletes curtos e estames longos. Suas populações tendem a ser isopléticas, ou seja, com indivíduos dos dois morfos na proporção 1:1, e as anomalias referentes à distribuição dos morfos nas populações têm sido normalmente associadas à fragmentação de habitats e perturbações ambientais. Além das características morfológicas de estiletes/estigmas e anteras/grãos-de-pólen, estas flores podem ainda apresentar diferenças secundárias na morfologia. Plantas heterostílicas geralmente possuem um sistema de auto-incompatibilidade, onde só há formação de frutos nos cruzamentos entre morfos. *Palicourea rigida* é uma espécie tipicamente distílica de Rubiaceae, família que contém o maior número de espécies distílicas registradas. A espécie é amplamente distribuída nos cerrados brasileiros e é polinizada por beija-flores. O objetivo do presente trabalho foi estudar diferentes populações de *P. rigida* comparando a distribuição dos morfos florais e as características associadas à heterostilia para verificar se existem assimetrias entre os morfos e diferenças entre as áreas que pudessem ser associadas às condições ou mudanças ambientais. O trabalho foi realizado no Parque Estadual da Serra de Caldas Novas - PESCAN (GO) e na RPPN do Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia - CCPIU (MG) onde foram avaliadas populações de *P. rigida* nos anos de 2005 e 2006. As populações foram caracterizadas quanto à densidade, altura e razão entre morfos dos indivíduos floridos. Quanto aos morfos florais, foram investigadas diferenças na morfometria, produção de néctar, sucesso reprodutivo e reações de incompatibilidade. Apesar de diferirem em densidade e altura dos indivíduos, ambas as populações foram isopléticas, com razão entre morfos não significativamente diferente de 1:1. As populações se mostraram distintas provavelmente devido à suas histórias de conservação, mas tais diferenças não parecem ter afetado as características associadas à distília. A anisopleτία foi observada para populações da espécie em Brasília e para outras espécies de *Palicourea*. Além da hercogamia recíproca, com diferenças marcadas entre estiletes e estames dos dois morfos, ainda houve diferenças no tamanho das anteras, dos estigmas e da corola que foram maiores em flores brevistilas. A produção de néctar variou em volume e concentração nas duas populações, mas não houve um padrão que pudesse ser associado a cada um dos morfos. Não houve diferenças quanto ao sucesso reprodutivo, que foi alto para os dois morfos e em ambas as populações, apesar da espécie ser marcadamente auto-incompatível. O sucesso reprodutivo foi considerado alto, sobretudo quando comparado com outras espécies auto-incompatíveis do Cerrado. Todos os pistilos de flores coletadas ao acaso dos dois morfos nas áreas de estudo mostraram grãos-de-pólen e tubos polínicos em profusão, o que indica alta eficiência de polinização. Houve diferença nos locais de formação das barreiras de incompatibilidade entre os morfos que corroboraram as observações anteriores para a espécie e o encontrado para várias outras Rubiaceae. De uma maneira geral a reação de incompatibilidade foi mais marcada e interrompeu o crescimento dos tubos polínicos no estigma do morfo brevistilo, enquanto foi mais variável e ocorreu ao longo do estilete no morfo longistilo. O principal visitante floral e polinizador, em ambas as áreas estudadas, foi o beija-flor *Eupetomena macroura*. A alta produtividade de frutos indica que os polinizadores efetivamente transportaram quantidades suficientes de grãos-de-pólen compatíveis entre os morfos, apesar de comumente apresentarem comportamento territorial.

Palavras-chave: heterostilia, savanas neotropicais, auto-incompatibilidade heteromórfica.

ABSTRACT

Machado, Adriana O. 2007. Floral variations and heterostyly in *Palicourea rigida* H.B.K. (Rubiaceae) in the Cerrados of Central Brazil. MSc Dissertation in Ecology and Conservation of Natural Resources. UFU. Uberlândia, MG. 47p.

The distyly is a floral polymorphism controlled genetically, where the populations present individuals with pin flowers, that possess long styles and short stamens, and individuals with thrum flowers, that possess short styles and long stamens. Their populations tend to be isoplethyc and anomalies in the distribution of pin and thrum flowers in the populations have usually been associated with the habitat fragmentation and environmental disturbances. Besides morphological characteristics of styles/stigmas anthers/pollen grains, these flowers can also present secondary differences in their morphology. Heterostylous plants usually possess a self-incompatibility system, where fruit-set occurs only after cross pollination between morphs (legitimate cross pollination). *Palicourea rigida* is a typically distylous species of the Rubiaceae, a family that contains the largest number of distylous species. The species is widely distributed in the Brazilian Cerrados and it is pollinated by hummingbirds. The objective of the present work was to study different populations from *P. rigida* comparing the distribution of pin vs. thrum individuals and other characteristics associated to heterostyly in order to verify if there were asymmetries between floral morphs and differences among areas that could be associated to environmental conditions or recent changes. The work was carried out in the Parque Estadual da Serra Caldas Novas - PESCAN (GO) and in RPPN of the Clube Caça e Pesca Ipororó de Uberlândia - CCPIU (MG) where populations of *P. rigida* were studied in 2005 and 2006. Density, height and pin/thrum ratio were assessed for flowering individuals in both areas. Flower morphs were investigated for differences in floral morphology, nectar production, reproductive success and site of self incompatibility reactions. In spite of differences in density and individuals height, both populations were isoplethyc, with ratio between floral morphs not significantly different from 1:1. The populations were different probably due to their conservation histories, but such differences do not seem to have affected other characteristics associated to distyly. The anisoplethy was observed for populations of the species in Brasília and for other species of *Palicourea*. Besides the reciprocal herkogamy, with differences marked between pin/thrum styles and stamens, there were differences in the size of the anthers, stigmas and corolla that were larger in thrum flowers. The nectar production varied in volume and concentration in the two populations, but there was not a pattern that could be associated to each one of the floral morphs. There were no differences in reproductive success, which were high for the two morphs and for both populations, in spite of the species to be remarkably self-incompatible. There were differences in the site of incompatibility barriers between floral morphs that corroborated previous observations for the species and for many other species of Rubiaceae. The incompatibility reaction was more marked and interrupted pollen tube growth in the stigma of thrum flowers, while it was more variable and occurred along the style in pin flowers. All the pistils of flowers collected from both floral morphs in the study areas showed a profusion of pollen grains and pollen tubes, which indicates high pollination efficiency. The main floral visitor and pollinator, in both studied areas, was the hummingbird *Eupetomena macroura*. The high fruit-set indicates that the pollinators transported enough compatible pollen grains between floral morphs, although they commonly presented territorial behavior. The reproductive success was considered high, specially when compared with other self-incompatible species of the Cerrado.

Keywords: heterostyly, tropical savanna, heteromorphic self-incompatibility.

INTRODUÇÃO

Heterostilia é um polimorfismo floral complexo controlado geneticamente, onde as populações são compostas por dois ou três morfos florais que diferem reciprocamente nas alturas de seus estigmas e anteras (Barrett 1992). É encontrada em aproximadamente 28 famílias de Angiospermas, incluindo monocotiledôneas e dicotiledôneas, sendo interpretada como um mecanismo que promove a polinização cruzada (Darwin 1877, Barrett *et al.* 2000b, Li & Johnston 2001). Plantas distílicas são distinguidas por apresentarem indivíduos com flores longistilas, que possuem estiletes longos e estames curtos, e indivíduos com flores brevistilas, que possuem estiletes curtos e estames longos (Ganders 1979).

De um modo geral, as espécies distílicas tendem a apresentar populações isopléticas, ou seja, ter indivíduos brevistilos e longistilos na razão 1:1 (Ganders 1979). As diferenças dos atributos florais entre morfos não deveriam então alterar o sucesso reprodutivo dos mesmos de maneira a alterar a razão isoplética. A isopletia foi citada para várias populações de Rubiaceae como *Palicourea fendleri* e *P. petiolaris* (Sobrevila *et al.* 1983), *P. padifolia* (Ree 1997, Ornelas *et al.* 2004). *Psychotria poeppigiana* (Coelho & Barbosa 2004), *P. jasminoides*, *P. birotula* e *P. pubigera* (Castro & Oliveira 2004).

As anomalias referentes à distribuição dos morfos nas populações são normalmente associadas ao tamanho das populações, à fragmentação de habitats e perturbações ambientais generalizadas. A ausência ou rarefação de um dos morfos poderia levar à quebra nos mecanismos de incompatibilidade ou outras modificações reprodutivas que possibilitassem a manutenção da espécie em ambientes desfavoráveis

(Barrett 1992, Pereira *et al.* 2006, Brys *et al.* 2007). Casos de homostilia ou monoestilia possivelmente associados a ambientes florestais fragmentados foram encontrados para *Palicourea macrobotrys* (Coelho & Barbosa 2003) e *Psychotria carthagenensis* (Consolaro 2004) no Triângulo Mineiro. Espécies de plantas heterostílicas auto-incompatíveis são particularmente sensíveis à fragmentação de habitat e interrupção nos processos de polinização devido à sua necessidade de polinização cruzada para produção de sementes (Van Rossum *et al.* 2006).

A hercogamia recíproca, ou seja, altura das anteras de um morfo correspondente à altura do estigma do outro e vice-versa, é uma característica importante de espécies verdadeiramente distílicas. Estas diferenças poderiam efetivamente reduzir a autopolinização e a polinização intramórfica, enquanto promoveriam o fluxo de pólen entre os morfos florais, porque os polinizadores tenderiam a carregar pólen de cada morfo em partes diferentes do corpo (Darwin 1877, Ganders 1974, Lloyd & Webb 1992).

Ecologicamente, o morfo longistilo poderia ter vantagens seletivas sobre o brevistilo devido à maior exposição de seu estigma, que facilita o contato com os vetores e ainda dificulta o contato com o próprio pólen. Assim as flores longistilas teriam uma função mais feminina (maternal/receptora de pólen) enquanto as flores brevistilas teriam função mais masculina (paternal/doadora de pólen) (Monteiro *et al.* 1991). Estas vantagens associadas à autocompatibilidade poderiam levar à predominância das plantas longistilas na população, ou mesmo a formação de espécies monostílicas (Consolaro 2004).

Adicionalmente às diferenças de posicionamento nas estruturas reprodutivas da flor, existem outras diferenças morfológicas/fisiológicas diretamente associadas aos morfos florais. Muito comumente estas diferenças envolvem características dos estigmas e grãos-de-pólen (Barret 1992, Dulberger 1992). Os estigmas podem diferir na forma, tamanho, ou mais comumente, no tamanho das papilas estigmáticas. Espécies heterostílicas normalmente exibem polimorfismo nos grãos-de-pólen quanto ao tamanho e número produzido por flor e, menos freqüentemente, na forma, cor ou escultura da exina (Ganders 1979).

Além das características morfológicas de anteras/grãos-de-pólen e estiletos/estigmas, as flores de espécies distílicas podem ainda apresentar diferenças

secundárias como morfologia e/ou dimensões da corola, quantidade e concentração de néctar, entre outras (Passos & Sazima 1995). Poucos são os casos de diferenças marcadas no tamanho da corola de flores brevistilas e longistilas citados na literatura. Quando ocorrem, estes mostram que geralmente as flores brevistilas são maiores em comprimento ou pelo menos mais largas, como ocorre com algumas espécies heterostílicas de *Lithospermum* (Johnston 1952, Levin 1968), de *Amsinckia* (Ganders 1976, Ornduff 1976) e de *Psychotria* (Castro *et al.* 2004). Diferenças na quantidade e/ou concentração de néctar produzido pelos morfos foram encontradas em espécies de Rubiaceae como *Palicourea padifolia* (Ornelas *et al.* 2004), *Psychotria barbiflora* (Teixeira & Machado 2004a), *P. mapourioides* e *P. pubigera* (Castro & Oliveira 2002).

Pouco se sabe sobre a origem ou as pressões seletivas que levam ao estabelecimento destas diferenças secundárias entre os morfos florais de espécies heterostílicas. Mas imagina-se que tais diferenças vão afetar o fluxo de pólen e o sucesso reprodutivo entre os morfos. Por exemplo, em um experimento de laboratório com *Palicourea fendleri*, os beija-flores transportaram maior quantidade de pólen das flores longistilas para as brevistilas (Lau & Bosque 2003). Os autores, no entanto, associam essas diferenças a maiores superfícies estigmáticas das flores brevistilas. Modelo similar foi encontrado para *Palicourea lasiorrachis* (Feinsinger & Busby 1987) e para *Psychotria suerrensii* (Stone 1995).

Plantas heterostílicas geralmente possuem um sistema de auto-incompatibilidade dialélico esporofítico, onde só há formação de frutos nos cruzamentos entre morfos, chamados cruzamentos legítimos (Barret & Richards 1990). O controle genético da auto-incompatibilidade é determinado por um “supergene” heteroalélico que compreende uma série de *loci* firmemente agrupados, que individualmente determinam o morfo com todas as suas derivações e os aspectos da incompatibilidade (Ganders 1979, Gibbs 1990). A quebra da heterostilia, freqüentemente por *crossing-over* dentro do “supergene”, pode resultar na produção de plantas homostílicas que combinam comprimento do pistilo de um morfo com comprimento dos estames do outro e que geralmente apresentam autocompatibilidade (Baker 1966, Barrett & Richards 1990). Apesar de estudos genéticos nunca terem sido realizados com espécies de Rubiaceae, é possível pensar que anomalias na razão entre morfos e surgimento de populações monostílicas ou

homostílicas em espécies tipicamente distílicas podem ser indicativos da quebra no controle genético da heterostilia (Consolaro 2004).

Com cerca de 637 gêneros e 10.700 espécies essencialmente tropicais (Mabberley 1987), a família Rubiaceae contém o maior número de espécies (416) e gêneros (91) distílicos dentre todas as famílias nas quais é conhecida a heterostilia, apresentando mais espécies heterostílicas que todas as outras famílias reunidas (Ganders 1979, Barrett & Richards 1990).

A família Rubiaceae é a quinta mais representativa do Cerrado, sendo que as dez famílias mais representativas contribuem com mais de 51% da riqueza florística deste bioma. O gênero *Palicourea* está representado por 12 espécies no Cerrado, compreendendo arbustos e subarbustos ocorrendo no cerrado (sentido restrito), cerradão, mata de galeria, campo sujo e campo rupestre (Mendonça *et al.* 1998).

O gênero *Palicourea* Aubl., pertencente à tribo Psychotrieae, é amplamente distribuído nos trópicos americanos e inclui cerca de 250 espécies de arbustos e pequenas árvores (Mabberley 1987). É tipicamente encontrado nos sub-bosques de florestas. Suas flores são geralmente tubulares, coloridas, sem odor perceptível ao olfato humano, e polinizadas por beija-flores. A heterostilia é característica do gênero *Palicourea*, estando presente em praticamente todas as espécies e parece ser condição ancestral para o gênero (Vuilleumier 1967, Taylor 1993).

Palicourea rigida H. B. K. é uma das espécies arbustivas mais freqüentes e é, provavelmente, a espécie de *Palicourea* mais comum dos cerrados brasileiros. É uma espécie de ampla distribuição, estando presente em mais de 37% das áreas de cerrado estudadas até o momento (Ribeiro & Walter 1998, Ratter *et al.* 2003). A média de densidade descrita para esta espécie na literatura é de 21 a 34 indivíduos /ha baseado em estudos realizados em Brasília (Silva-Júnior 2005). É um arbusto ou arvoreta de pequeno porte, sempre-verde, que ocorre nos cerrados (sentido restrito), cerradões, campos cerrados, campos de murundus e campos rupestres do Brasil central. Normalmente não há propagação vegetativa, mas a rebrota pode ocorrer nas raízes de plantas com parte aérea morta (Silva 1995). Por suas folhas verdes brilhantes e vistosas e por suas flores coloridas, possui considerável valor ornamental. O decocto ou infusão das folhas, raízes e cascas do caule é popularmente utilizado com depurativo, no

tratamento de doenças renais e de inflamações do aparelho reprodutor feminino (Rodrigues & Carvalho 2001, Silva-Júnior 2005).

As flores de *P. rigida* estão claramente relacionadas à síndrome de ornitofilia (*sensu* Faegri & Van der Pijl 1971). As inflorescências são cimeiras terminais com flores atrativas que facilitam o acesso e a retirada de néctar pelos beija-flores que têm o hábito de pairar durante as visitas (Stiles 1978, Robbrecht 1988). A espécie é polinizada por várias espécies de beija-flor, geralmente com comportamento de forrageamento territorialista e abelhas grandes (Oliveira 1991, Silva 1995).

O bioma Cerrado é o segundo maior do país em área e trata-se de um complexo vegetacional com relações ecológicas e fisionômicas com outras savanas dos trópicos americanos, da África e da Austrália, apresentando formações florestais, savânicas e campestres (Ribeiro & Walter 1998). A flora é característica e diferenciada, embora compartilhe espécies com os biomas adjacentes e sofra interferência direta ou indireta do clima, da sazonalidade, do solo e da ação antrópica, sobretudo da frequência de queimadas. Os reflexos destes fatores aparecem na estrutura, distribuição espacial e composição florística da vegetação (Oliveira 1998, Ribeiro & Walter 1998).

No Cerrado, existem muitas espécies visitadas e polinizadas por aves de uma maneira geral e beija-flores em particular, apesar de que poucas espécies apresentam características típicas da síndrome de ornitofilia (Oliveira & Gibbs 2002). Esta síndrome está associada a flores com corola tubular e colorida, geralmente reunidas em densas inflorescências; à produção de néctar em grandes quantidades e baixa viscosidade e à ausência de odor. Estas características se relacionam com a acuidade visual das aves e seu olfato comumente restrito (Raven *et al.* 1999).

Os beija-flores (Trochilidae) constituem o grupo mais especializado de aves nectarívoras. Restritos ao continente americano, apresentam grande diversidade e estão bem representados na maioria dos ambientes neotropicais (Stiles 1981). Nos cerrados brasileiros foram listadas no mínimo 36 espécies de beija-flores (Macedo 2002), apesar do pequeno número de plantas com características essencialmente ornitófilas (Oliveira & Gibbs 2002).

Em um trabalho feito nos cerrados de Brasília (Silva 1995), foram investigadas a biologia reprodutiva e a polinização de *Palicourea rigida* tendo sido feitas também

comparações entre os morfos florais de quatro populações. Este trabalho, apesar de bastante detalhado e interessante, não foi ainda publicado.

Como mencionado anteriormente, trabalhos recentes no bioma cerrado têm mostrado variações e anomalias nas características de populações de plantas heterostílicas da família Rubiaceae. Deste modo, o presente trabalho buscou estudar populações diferentes de *Palicourea rigida* comparando a distribuição dos morfos florais e as características associadas à heterostilia para verificar se existem assimetrias entre os morfos e diferenças entre as áreas que pudessem, de algum modo, ser associadas às condições ou mudanças ambientais.

MATERIAL E MÉTODOS

A espécie estudada

Palicourea rigida H. B. K., popularmente conhecida como “bate-caixa”, “gritadeira” (nomes que fazem referência ao som emitido pelas folhas rígidas quando tocadas), “douradinha”, “douradão”, “erva de rato” e “erva matadeira”, são arvoretas com copa formada por ramos terminais suberoso, ritidoma com fissuras profundas e cristas elevadas descontínuas formando blocos retangulares. Com hábito sempre-verde, tem floração concentrada entre setembro e março. Existe ainda, um segundo período de floração de menor intensidade entre os meses de maio e agosto, onde poucos indivíduos florescem. A frutificação se concentra na estação chuvosa (novembro a abril). Possui crescimento sazonal modular. As folhas são simples, opostas cruzadas e elípticas, rígido-coriáceas e discolores podendo atingir até 25 cm de comprimento e 15 cm de largura (Silva-Júnior 2005).

As flores estão dispostas em inflorescências cimosas pedunculadas, geralmente terminais, emitidas entre um par de folhas. As flores são pentâmeras, com coloração variando entre o amarelo e vermelho, não odoríferas, medindo em torno de 2 cm de comprimento (Silva-Júnior 2005). A antese é diurna e a duração das flores é de um dia. A corola é tubulosa com lobos livres, paredes espessas e com base dilatada unilateralmente em forma de giba com longos e sedosos pelos na parte interna. Este conjunto de características se enquadra bem na síndrome da ornitofilia (*sensu* Faegri & Van der Pijl 1971). O ovário ínfero é geralmente bilocular contendo um óvulo em cada lóculo. O estigma é do tipo seco papilado e bífido. A espécie apresenta heterostilia típica, do tipo distilia, e a forma e o tamanho do estigma diferem entre os dois morfos. Os lobos do estigma das flores brevistilas são mais longos e finos, enquanto os das flores longistilas são menores e de forma mais compacta (Silva 1995).

O néctar é produzido continuamente no disco nectarífero, que fica na base da corola, e se acumula ao longo do dia, podendo ser visualizado por transparência nas

flores ensacadas. Mesmo depois da abscisão da corola, o disco nectarífero continua secretando néctar (Silva 1995, Almeida 1997).

Os frutos são drupáceos, globosos a elipsóides, de coloração preta-arroxeadada quando maduros. Medem até 1 cm de comprimento e contém 2 sementes, sendo que uma delas é inviável, e são dispersos por aves (Wütherich *et al.* 2001, Silva-Júnior 2005).

Áreas de estudo

Parque Estadual da Serra de Caldas Novas (PESCAN)

O Parque Estadual da Serra de Caldas Novas está localizado entre os municípios de Caldas Novas e Rio Quente, no sudeste goiano entre os paralelos 17°43' e 17°50'S, e longitudes 48°40' e 48°42'O. Dista somente 5 km do centro de Caldas Novas, e possui uma área de 12.500 hectares numa área de formato elíptico, sendo o topo constituído de um grande platô, as laterais com encostas que formam muralhas naturais, e o sopé da serra fazendo divisão com fazendas e loteamentos urbanos (Figura 1). O Parque foi criado em 1970 com o objetivo maior de proteger a área de captação da chuva que abastece o lençol termal da região (Almeida & Sarmento 1998).

A fitofisionomia predominante é o cerrado (sentido restrito), mas estão presentes ainda cerradão, campo rupestre, campo sujo, mata de galeria e vereda. As características climáticas da região correspondem ao clima tropical chuvoso, quente e úmido. A pluviosidade média é de cerca de 1.500 mm anuais, e as chuvas se concentram entre setembro e abril. A temperatura média anual varia entre 20 e 25° C (Almeida & Sarmento 1998).

O trabalho foi realizado em área de cerrado preservada do platô a altitudes em torno de 990 m onde predomina um solo do tipo latossolo vermelho-amarelo.

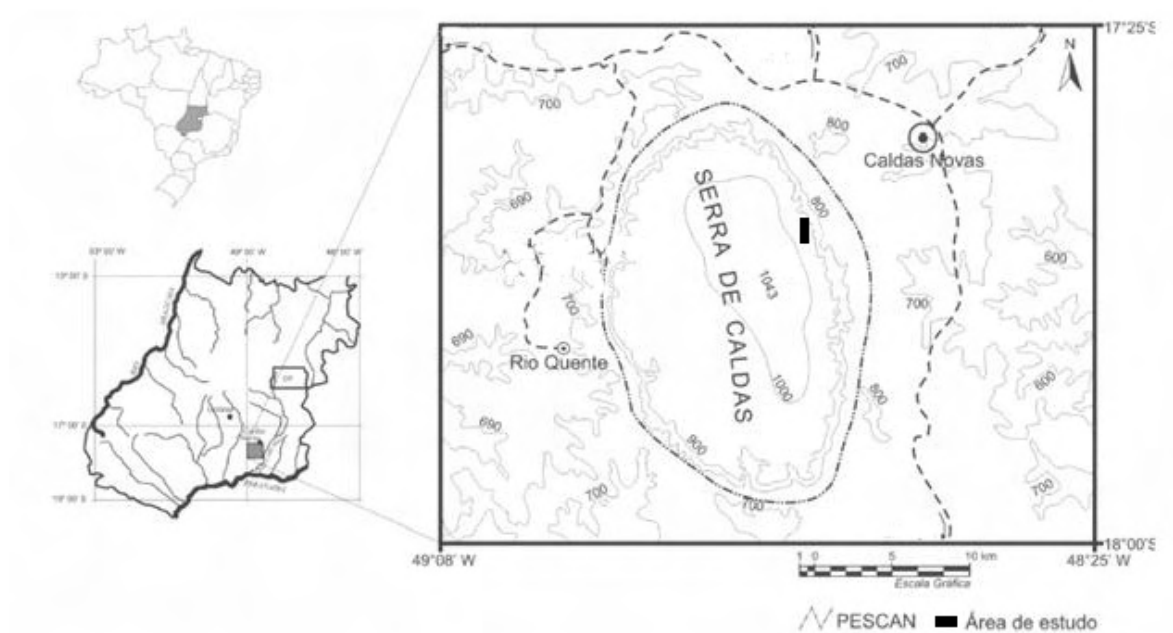


FIGURA 1. Localização de Caldas Novas - GO e do Parque Estadual da Serra de Caldas Novas - PESCAN. Retângulo negro representa a área aproximada de estudo. (Fonte: Modificado de Lima-Ribeiro *et al.* 2006).

Reserva Natural do Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia (CCPIU)

O Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia situa-se a sudoeste do município (18°55'S e 48°17'O), a 10 km do centro da cidade. Abrange uma área total de 640 hectares e possui uma RPPN (Reserva Particular do Patrimônio Natural) de 127 hectares, criada para preservar as nascentes de água do clube (Figura 2).

O cerrado (sentido restrito) é o tipo fisionômico dominante nesta reserva, que apresenta também áreas de vereda e campo sujo. O clima da região apresenta duas estações bem definidas, inverno seco e verão úmido, podendo apresentar tanto temperaturas acima de 35° C como geadas esporádicas no inverno. A precipitação anual é em torno de 1.550 mm e as médias anuais de temperatura oscilam em torno de 22° C (Rosa *et al.* 1991, Boralí 1996). A área escolhida para a realização do trabalho fica em altitudes em torno de 860 m, próxima às estradas que cortam o parque. Os solos encontrados na região são geralmente do tipo latossolo vermelho escuro, álico ou distrófico (EMBRAPA 1982).

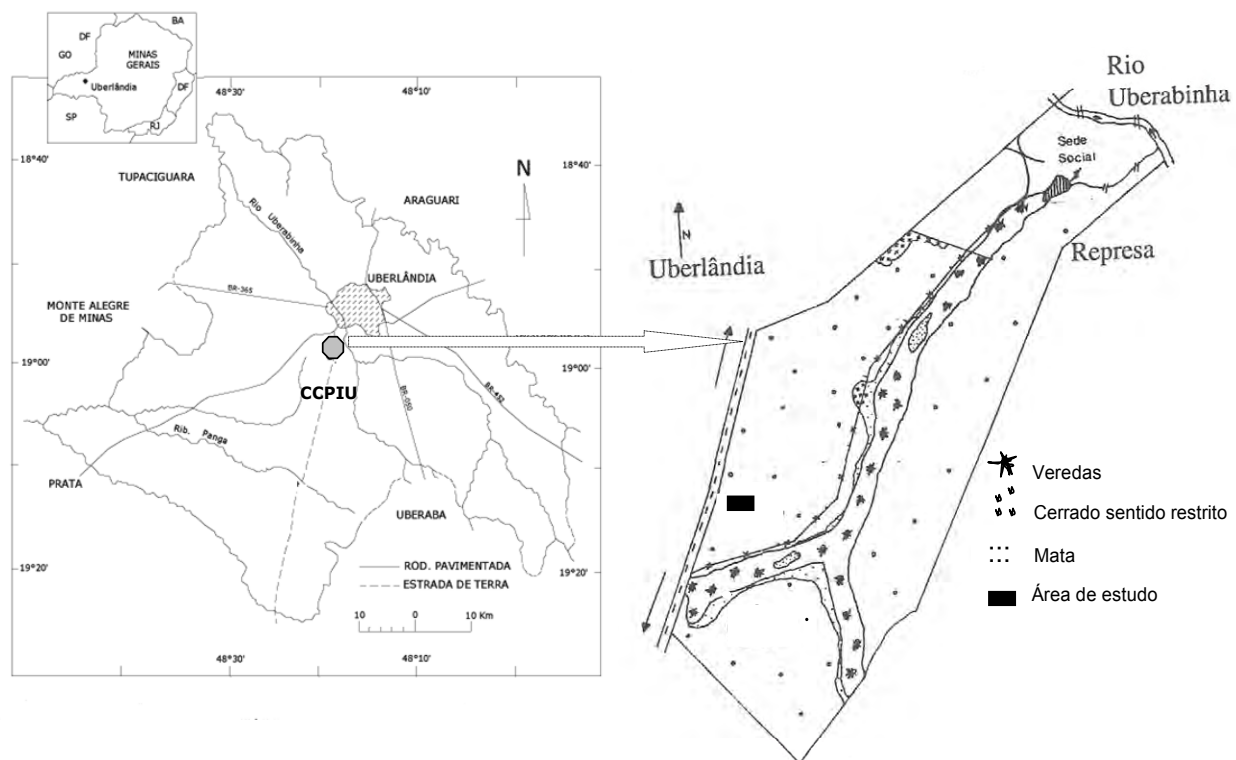


FIGURA 2. Localização de Uberlândia - MG e do Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia - CCPIU. Retângulo negro representa a área aproximada de estudo. (Fonte: Modificado de Apolinário 1995).

Coleta de dados

Os dados foram coletados nos meses de outubro de 2005 a janeiro de 2006, e de novembro de 2006 a janeiro de 2007, em ambas as áreas.

Foram estudadas populações de *Palicourea rigida* durante o principal período de floração, onde foram amostrados apenas indivíduos floridos. No PESCAN foram amostrados indivíduos para estimar densidade e tamanho populacional em Outubro de 2005 em duas áreas contíguas. Foram amostrados e referenciados geograficamente, utilizando GPS Garmim II, os 30 primeiros indivíduos encontrados em cada área onde foram anotados, para cada indivíduo, o morfo floral e a altura da planta. As coordenadas obtidas foram utilizadas para estimar a distância entre os indivíduos (um padrão de conversão foi definido utilizando coordenadas de distâncias medidas diretamente no campo). A distância média para os 30 indivíduos foi utilizada para estimar a densidade (d) de indivíduos ($d = \text{área} \times \text{distância média}^{-2}$) (Brower & Zar 1984).¹ No PESCAN as medidas de altura foram feitas em outros 80 indivíduos em 2006, sendo 40 indivíduos de cada morfo floral. Ainda em um levantamento feito nesta mesma área em 2006 (C. M. Rodrigues, dados não publicados), foram marcados 69 indivíduos na população, onde foram anotados os morfos florais de cada indivíduo para verificar a isopleitia.

No CCPIU foi feito um levantamento utilizando-se metodologia semelhante, tendo sido referenciados os primeiros 100 indivíduos encontrados na área e anotados o morfo floral, altura e o número de inflorescência por indivíduo.

Em ambas as áreas de estudo foram feitas investigações morfométricas para avaliar diferenças entre morfos florais. Para investigar a existência de diferenças no tamanho das flores, foram obtidas medidas de comprimento e diâmetro de flores com um paquímetro. Tais medidas foram feitas em cinco flores frescas de dez indivíduos de cada morfo diretamente no campo, totalizando 50 flores brevistilas e 50 longistilas em cada população. Em ambas as áreas foram coletadas ao acaso e fixadas em álcool 70°, 20 flores de cada morfo para obtenção de medidas mais detalhadas como alturas de

¹ Estes dados são parte de um trabalho de grupo realizado no curso de Ecologia de Campo em Novembro de 2005.

estiletes e estames e comprimentos de lobos estigmáticos e anteras. Estas medidas foram feitas em laboratório com um paquímetro.

Micropipetas graduadas (20 μ L) de vidro foram utilizadas para extração e obtenção das medidas de volume de néctar, enquanto a concentração de açúcares foi obtida por meio de um refratômetro de mão. Para as medidas de néctar foram utilizadas 50 flores de cada morfo no PESCAN e 24 flores de cada morfo no CCPIU. Foram tomadas de uma a duas flores por inflorescência, e de uma a duas inflorescências por indivíduo, de acordo com a disponibilidade de flores abertas em cada planta. As inflorescências foram ensacadas com organza no dia anterior para evitar contato com visitantes florais. Por ser a produção de néctar contínua ao longo do dia, as medidas de volume e concentração foram padronizadas para um mesmo período do dia, entre nove e 11 horas da manhã. Foi feita uma estimativa da quantidade de açúcar produzida pelos morfos multiplicando-se o volume pela concentração do néctar.

Para avaliar possíveis diferenças entre os morfos nos dados obtidos quanto à morfometria e produção de néctar foram utilizados os testes *t* de Student e *U* de Mann-Whitney de acordo com a normalidade dos dados que foi detectada pelo teste de Kolmogorov-Smirnov (Wilkinson 1987).

Para estimar a eficiência de polinização natural foram adotados dois procedimentos. Botões florais foram marcados com linhas coloridas. No PESCAN foram marcados 120 botões e no CCPIU 60 botões de cada morfo, sendo cinco flores por inflorescência e de duas a quatro inflorescências por indivíduo. Para esta contagem, considerou-se a formação e desenvolvimento dos frutos após 30 a 40 dias (cerca de 10 dias após a polinização é perceptível a formação do fruto). O segundo procedimento foi analisar 12 infrutescências (uma a duas por indivíduo) de cada morfo para contagem de frutos formados. As flores de *P. rigida* que não formaram frutos têm um processo de abscisão característico, onde somente a corola e as estruturas reprodutivas caem. O hipanto contendo o ovário e os discos nectaríferos são persistentes na infrutescência até a queda desta. Os discos nectaríferos são persistentes também nos frutos maduros. Deste modo, é possível estimar a produção de frutos pelo número destes ainda presentes na infrutescência e pelas cicatrizes deixadas por aqueles já caídos que são claramente distinguidas de cicatrizes de flores arrancadas (ver figura 3 e). O número total

de flores da inflorescência é obtido pela soma dos frutos com o número de flores abortadas que, como dito anteriormente, têm os discos nectaríferos persistentes. Para este procedimento fez-se necessário o total desenvolvimento de todos os frutos da infrutescência, cerca de 30 dias após a abertura dos últimos botões florais.

As diferenças entre os morfos florais foram avaliadas pelo teste *t* para proporções na avaliação feita em botões marcados (Santana & Ranal 2004) e testes *t* de Student na análise das infrutescências.

Flores dos dois morfos foram coletadas e fixadas em álcool 70° no final do dia para análise da quantidade de tubos polínicos formados por polinização natural através da técnica de microscopia de fluorescência (Martin 1959). Foram coletadas 30 flores de cada morfo em cada população, sendo de três a cinco flores por indivíduo. Para a contagem, adotaram-se quatro categorias de quantidades de grãos-de-pólen germinando; (1) grãos ausentes, (2) um a 10 grãos, (3) 11 a 50 grãos e (4) mais de 50 grãos. Essas categorias foram adotadas devido à imprecisão do número de grãos-de-pólen e tubos polínicos visualizados já que eles podem se sobrepor. As diferenças na distribuição dos pistilos nas categorias para cada morfo foram detectadas pelo χ^2 , e entre os morfos pelo χ^2 para interação (Ayres *et al.* 2000).

No CCPIU, cruzamentos legítimos (entre-morfos) e ilegítimos (intra-morfos) foram feitos, em flores previamente ensacadas, para observação de crescimento de tubos polínicos. As flores polinizadas manualmente foram coletadas ao final do dia (ca. seis horas após a polinização) e fixadas para visualização dos tubos polínicos sob microscopia de fluorescência (Martin 1959). Foram analisados cinco pistilos de cada tratamento, sendo em média dois tratamentos por planta.

Observações ocasionais de visitantes florais foram feitas durante o trabalho de campo nas duas áreas de estudo para confirmar o espectro de polinizadores citado na literatura. Alguns foram registrados por fotografias.

RESULTADOS

Características populacionais

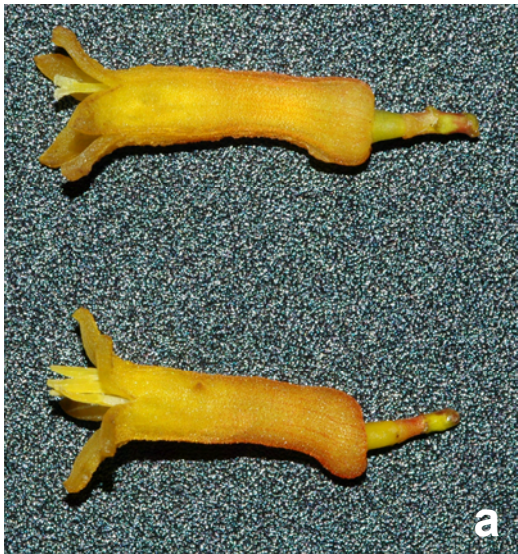
Palicourea rigida floresceu abundantemente em ambas as áreas de estudo, sendo que a floração no PESCAN tanto em 2005 como em 2006 se iniciou no mês de Setembro enquanto no CCPIU se iniciou apenas em Novembro. As populações estudadas apresentaram características florais semelhantes às observadas em outros estudos e aspectos da morfologia floral estão ilustrados na figura 3.

A densidade de indivíduos de *P.rigida* na área do PESCAN, estimada pelo método de coordenadas geográficas, foi de 28 indivíduos/ha em um dos locais de coleta e 119 indivíduos/ha no outro. A estimativa de densidade populacional de *P. rigida* no CCPIU, revelou um número sensivelmente maior, 182,61 indivíduos/ha, sendo quase duas vezes maior que as estimativas para o PESCAN. É importante notar que o método utilizado para estimar densidade envolve erros característicos das medidas com GPS. Estas estimativas devem ser tomadas no máximo em termos comparativos e não absolutos. De qualquer modo, estimativas de densidade utilizando técnicas mais usuais, como transectos e medidas diretas feitas com trena no PESCAN mostraram densidades de indivíduos floridos da mesma ordem de grandeza (C. Mendes-Rodrigues, dados não publicados). A média de altura para os indivíduos em geral foi de $2,12 \pm 0,52$ m no PESCAN, enquanto no CCPIU os indivíduos foram comumente menores, $1,14 \pm 0,27$ m.

Isoplelia

Os resultados deste estudo mostraram isoplelia, não existindo aparentemente anomalias na frequência dos morfos de *P. rigida* nas duas áreas estudadas. No PESCAN, baseando-se na amostragem de indivíduos de C. Mendes-Rodrigues, de 69 indivíduos amostrados na área, 35 foram de morfo brevistilo e 34 de morfo longistilo ($\chi^2 = 0,014$; $P = 0,9042$). No CCPIU, dos 100 indivíduos marcados, 59 foram brevistilos e 41 longistilos. Estas frequências não foram significativamente diferentes da razão esperada

FIGURA 3. Aspectos da morfologia floral e biologia reprodutiva de *Palicourea rigida* H. B. K. (Rubiaceae). a e b: flores (superior: longistila; inferior: brevistila); b: flores em corte longitudinal; c: *Eupetomena macroura* visitando flor de *P. rigida*; d: infrutescência; e: detalhe das cicatrizes de frutos caídos (seta vermelha) e flor abortada (seta branca).



de 1:1 ($\chi^2 = 3,24$; $P = 0,0719$), o que mostra uma população tipicamente isoplética também para esta área de estudo.

Apesar das diferenças quanto à altura média dos indivíduos das duas áreas de estudo, não foram verificadas diferenças significativas na altura entre os morfos, nem no PESCAN nem no CCPIU. No PESCAN, os indivíduos brevistilos tiveram uma média de altura de $2,13 \pm 0,56$ m, e os de morfo longistilo $2,10 \pm 0,47$ m ($t = -0,27$; $P = 0,79$). No CCPIU os indivíduos brevistilos tiveram média de $1,13 \pm 0,27$ m, e os longistilos de $1,17 \pm 0,27$ m ($t = 0,68$; $P = 0,50$).

No censo feito na população do CCPIU para estimar o número médio de inflorescências por indivíduo, os de morfo brevistilo tiveram média de $4,82 \pm 3,28$ inflorescências e os de morfo longistilo $5,77 \pm 5,75$ inflorescências por planta, não sendo diferentes estatisticamente ($U = 1181,0$; $P = 0,65$). Esta comparação não foi feita para o PESCAN, mas também nesta outra área não pareceu haver diferenças marcantes entre morfos, em termos de intensidade de floração, durante o período de estudo.

Morfometria e Néctar

A tabela 1 apresenta as medidas das flores e a produção de néctar de *P. rigida* nas populações do PESCAN e do CCPIU. Com relação ao tamanho das flores, na população do PESCAN, as brevistilas apresentaram-se ligeiramente maiores em comprimento que as longistilas ($U = 782,50$; $P < 0,05$), porém elas não diferiram no diâmetro da corola ($U = 1239,00$; $P > 0,05$). Na população do CCPIU as flores apresentaram diferenças tanto em comprimento ($U = 93,50$; $P < 0,0001$) quanto em diâmetro ($U = 535,50$; $P < 0,0001$), sendo as brevistilas maiores que as longistilas.

Como esperado, os resultados das análises mostraram as diferenças nas posições das estruturas sexuais das flores comprovando a heterostilia em *P. rigida*. As alturas dos estigmas foram maiores nas flores longistilas ($U = 400,00$; $P < 0,01$, resultado igual para ambas as populações do PESCAN e do CCPIU). Da mesma forma ocorreu com as alturas das anteras, sendo maior nas flores brevistilas ($U = 2,50$; $P < 0,01$ para a população do PESCAN; e $U = 44,00$; $P < 0,01$ para o CCPIU). A hercogamia recíproca pode ser observada na figura 3 b e figura 4.

TABELA 1. Medidas florais (em centímetros) em flores brevistilas e longistilas de *Palicourea rigida* H. B. K. (Rubiaceae) no PESCAN e no CCPIU (Média $\pm$ Desvio Padrão). Médias seguidas de diferentes letras na mesma linha indicam diferenças significantes ao nível de $P < 0,05$ para comparações entre os morfos em cada população.

	PESCAN		CCPIU	
	Brevistilas	Longistilas	Brevistilas	Longistilas
	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$	$\bar{X} \pm DP$
Comprimento da corola	1,89 $\pm$ 0,14a	1,83 $\pm$ 0,09b	1,89 $\pm$ 0,14a	1,48 $\pm$ 0,26b
Diâmetro da corola	0,44 $\pm$ 0,04a	0,45 $\pm$ 0,05a	0,45 $\pm$ 0,04a	0,42 $\pm$ 0,03b
Altura do estigma	1,28 $\pm$ 0,06a	1,77 $\pm$ 0,15b	1,24 $\pm$ 0,07a	1,70 $\pm$ 0,08b
Altura da antera	1,92 $\pm$ 0,08a	1,35 $\pm$ 0,19b	1,64 $\pm$ 0,16a	1,30 $\pm$ 0,15b
Comprimento lobo estigma*	0,47 $\pm$ 0,04a	0,13 $\pm$ 0,03b	0,46 $\pm$ 0,06a	0,16 $\pm$ 0,02b
Comprimento da antera**	0,46 $\pm$ 0,04a	0,40 $\pm$ 0,03b	0,43 $\pm$ 0,04a	0,39 $\pm$ 0,03b
Volume de néctar (μ L)	7,88 $\pm$ 4,58a	6,89 $\pm$ 2,61a	11,79 $\pm$ 3,42a	8,71 $\pm$ 3,22b
Concentração de néctar (%)	20,46 $\pm$ 2,17a	21,92 $\pm$ 1,89b	20,40 $\pm$ 3,10a	21,10 $\pm$ 2,41a

* 1 lobo do estigma/flor

** 1 antera/flor

O tamanho das anteras de flores brevistilas foi maior na população do PESCAN ($U= 74,00$; $P< 0,001$) e também na população do CCPIU ($U= 76,00$; $P< 0,001$). As flores brevistilas tiveram ainda maior tamanho dos lobos estigmáticos na população do PESCAN ($U< 0,001$; $P< 0,001$) e do CCPIU ($U< 0,001$; $P< 0,001$) (tabela 1).

Com relação à quantidade e concentração de néctar produzido por flor, algumas diferenças ocorreram entre os morfos, porém não houve um padrão que pudesse ser aplicado à espécie como um todo (tabela 1). Em cada área as diferenças existentes foram em parâmetros distintos. Para a população do PESCAN não houve diferenças entre os dois morfos quanto ao volume de néctar produzido ($t= -1,32$; $P> 0,05$), porém as flores longistilas tiveram néctar mais concentrado que as brevistilas ($t= 3,51$; $P< 0,05$). Por outro lado, na população do CCPIU, houve diferenças significativas no volume produzido pelos morfos ($t= -3,13$; $P= 0,0031$), que foi maior para o brevistilo, porém não houve diferenças na concentração ($t= 0,85$; $P= 0,4002$). O produto do volume pela concentração, usado como estimador para oferta energética variou significativamente apenas no CCPIU sendo maior no morfo brevistilo ($U= 170,50$; $P= 0,04$). No PESCAN este parâmetro não foi diferente entre os morfos ($U= 984,50$; $P= 0,82$).

Sucesso reprodutivo

A eficiência na formação de frutos revelou um sucesso reprodutivo igualmente alto nos dois morfos, tanto nos dados obtidos com marcação de botões quanto na contagem de frutos nas infrutescências, para ambas as populações estudadas. As análises não revelaram diferenças significativas entre os morfos em nenhuma das áreas. No PESCAN, plantas brevistilas tiveram 41,70% de sucesso de frutificação e plantas longistilas 31,80% na análise feita com botões marcados ($t= 1,56$; $P> 0,05$). No CCPIU esta mesma análise revelou também altas porcentagens de frutificação, 52,33% para o morfo brevistilo e 56,66% para o morfo longistilo ($t= 0,37$; $P> 0,05$).

Os resultados obtidos na contagem de frutos e cicatrizes em relação ao número total de flores produzidas nas inflorescências foram bastante similares entre as duas populações. Na população do PESCAN, os indivíduos brevistilos tiveram em média $51,11 \pm 13,35$ % de eficiência de frutificação, enquanto que os indivíduos longistilos tiveram

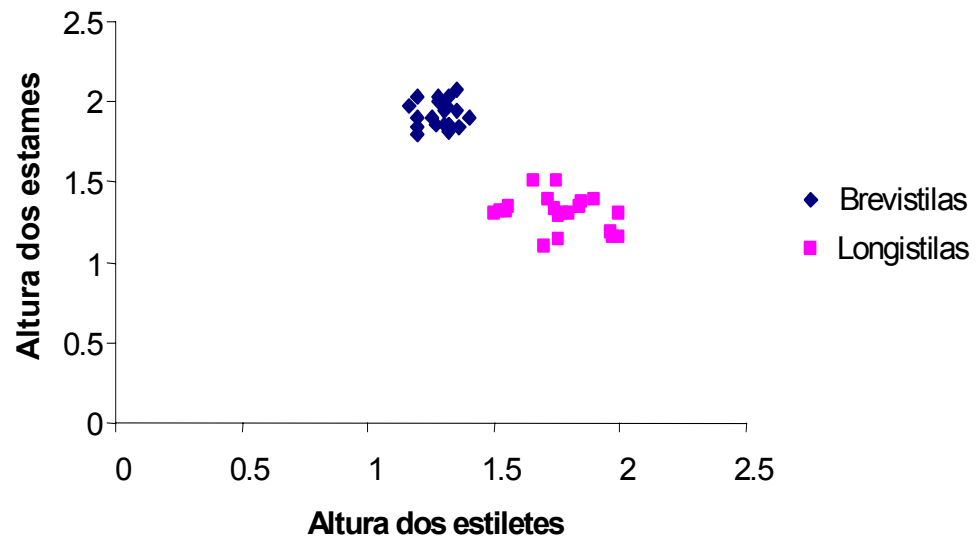
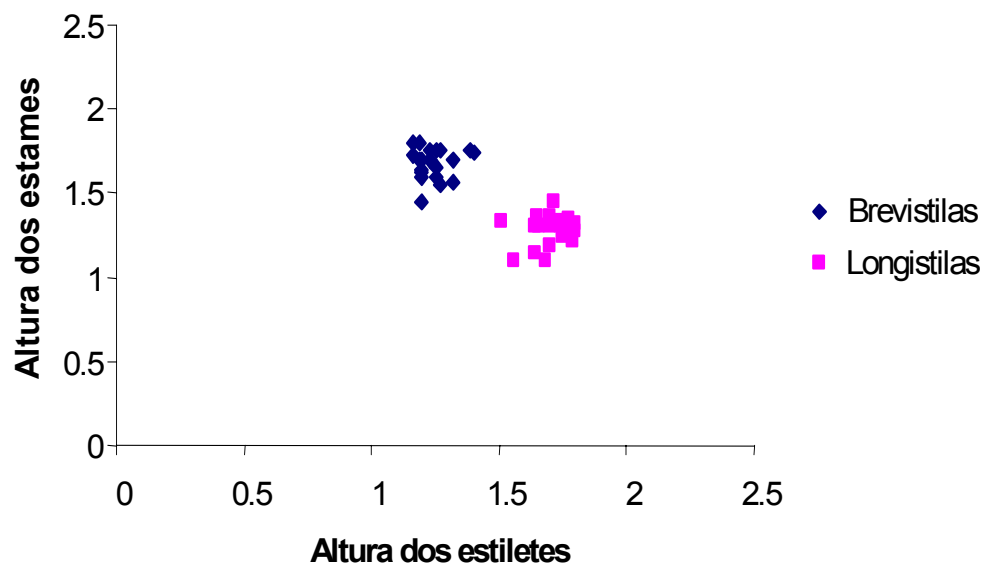
a**b**

FIGURA 4. Alturas (cm) dos estiletes e dos estames de flores brevistilas e longistilas de *Palicourea rigida* H. B. K. (Rubiaceae). a: PESCAN, b: CCPIU.

44,08 $\pm$ 11,76 % de eficiência (média por inflorescência). Estes resultados não foram diferentes entre si ($t = -1,37$; $P = 0,18$). Na população do CCPIU, os indivíduos de morfo brevistilo apresentaram em média uma eficiência de 51,33 $\pm$ 13,16 % e os de morfo longistilo 43,49 $\pm$ 14,45 % de sucesso de frutificação não sendo diferentes entre si ($t = -1,39$; $P = 0,18$). A infrutescência de *Palicourea rigida* está ilustrada na figura 3 d, e detalhes das cicatrizes dos frutos caídos e das flores que não originaram frutos podem ser visto na figura 3 e.

Analisando-se a quantidade de tubos polínicos formados após polinizações naturais, notou-se que as flores, de maneira geral, recebem uma grande carga polínica. Porém, as flores brevistilas receberam maiores quantidades de pólen que as longistilas em ambas as populações.

As flores brevistilas coletadas no PESCAN apresentaram maioria (86,70%) dos seus pistilos com mais de 50 grãos-de-pólen germinando e apenas 13,30% dos pistilos com quantidades entre 11 e 50 grãos (categorias 4 e 3 respectivamente). As flores longistilas apresentaram 60% dos seus pistilos com de 11 a 50 grãos e 40% com mais de 50 grãos (Figura 5a). Esta distribuição foi estatisticamente diferente entre os morfos ($\chi^2 = 14,07$; $P = 0,0002$) e diferente também entre as categorias para o morfo brevistilo ($\chi^2 = 16,33$; $P = 0,0001$), mas não para o morfo longistilo ($\chi^2 = 1,20$; $P = 0,2733$). Nesta população, praticamente todas as flores brevistilas receberam grandes quantidades de grãos-de-pólen (acima de 50) enquanto que, as quantidades de grãos depositados nas longistilas se distribuíram quase igualmente entre duas categorias. Nenhuma flor amostrada apresentou estigma sem grãos-de-pólen ou com quantidade entre um e 10 grãos (categorias 1 e 2 respectivamente).

Nas análises feitas em pistilos de flores do CCPIU, 96,70% das flores brevistilas tiveram mais de 50 grãos-de-pólen no estigma e apenas uma flor (3,3%) teve entre 11 e 50 grãos (categorias 4 e 3 respectivamente). As flores longistilas apresentaram 20% dos estigmas com um a 10 grãos-de-pólen, 50% contendo entre 11 e 50 grãos-de-pólen e 30% com mais de 50 grãos (categorias 2, 3 e 4 respectivamente) (Figura 5b). Também nesta população nenhuma flor amostrada deixou de apresentar grãos-de-pólen e somente as longistilas os tiveram em quantidades entre um e 10 grãos (categoria 2).

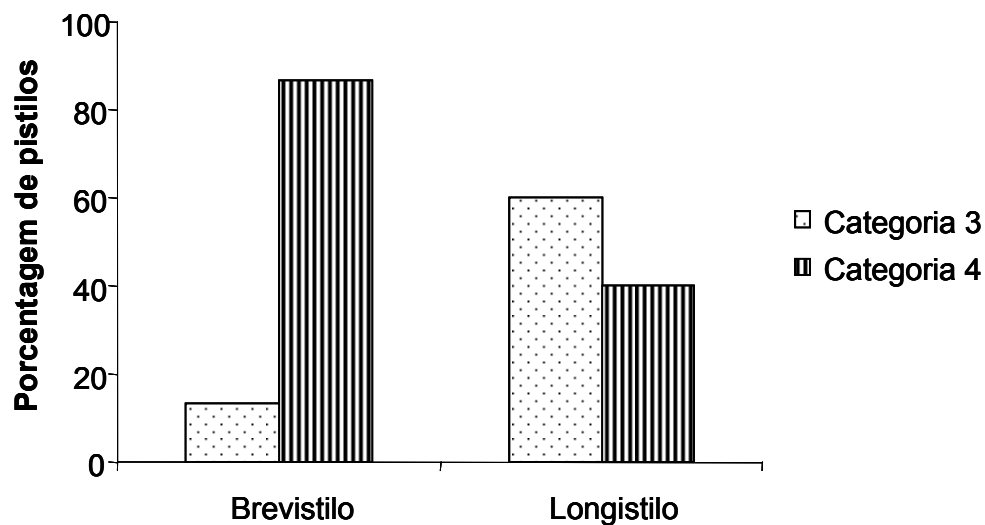
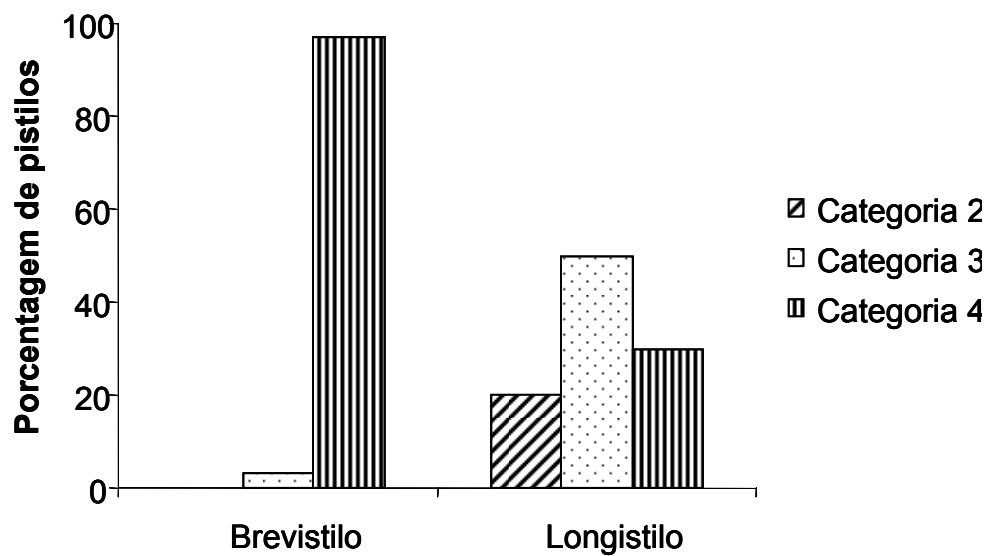
a**b**

FIGURA 5. Porcentagem de pistilos com grãos-de-pólen germinando nos estigmas de flores de *Palicourea rigida* H. B. K. (Rubiaceae). Categoria 2: um a 10 grãos-de-pólen, categoria 3: 11 a 50 grãos-de-pólen, categoria 4: mais de 50 grãos-de-pólen. a: PESCAN, b: CCPIU.

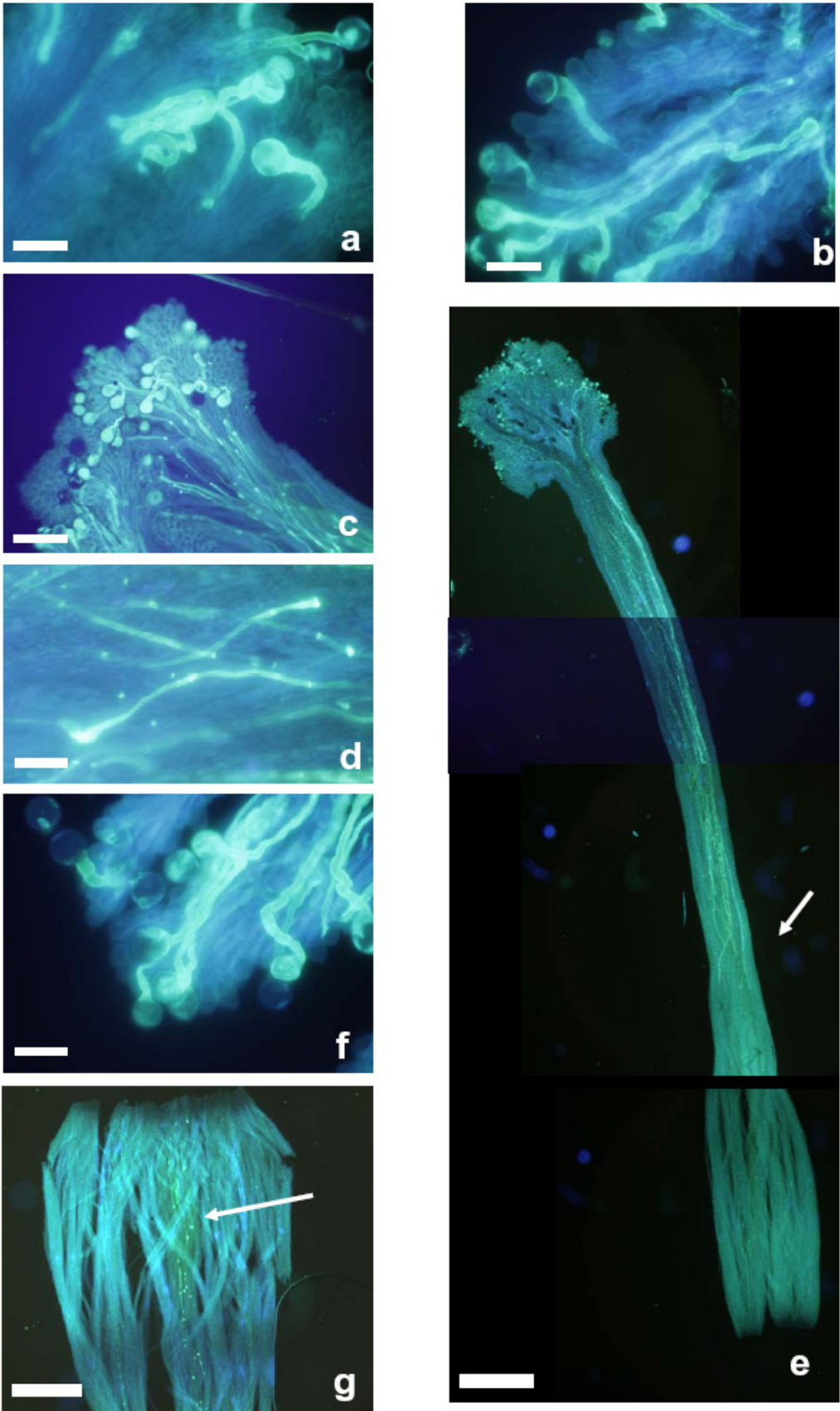
Não houve diferenças entre os morfos em termos de flores polinizadas ($\chi^2= 28,78$; $P= 0,7940$), mas houve diferença entre as categorias para o morfo brevistilo ($\chi^2= 54,20$; $P< 0,0001$), diferença que não foi observada para o morfo longistilo ($\chi^2= 4,20$; $P= 0,1225$). Os resultados encontrados nesta análise indicam que todas as flores de maneira geral receberam grandes quantidades de pólen, porém o morfo brevistilo pareceu obter uma deposição de grãos quase homogênea, enquanto que no morfo longistilo, as quantidades se distribuíram em três categorias distintas. Estas diferenças no número de grãos nos pistilos dos dois morfos podem ser devidas aos lobos estigmáticos bem maiores nas flores brevistilas.

Auto-incompatibilidade

No estudo do desenvolvimento dos tubos polínicos no gineceu, as barreiras de incompatibilidade ocorreram em diferentes locais do estilete dependendo do tipo de tratamento e do morfo floral, após mesmo intervalo de tempo (6 horas) (Figura 6). Nas flores brevistilas, os tubos polínicos formados a partir de autopolinizações, foram curtos, curvos e dilatados. Seu crescimento não ultrapassou a porção inicial do estigma (Figura 6 a). Nos cruzamentos ilegítimos destas flores, os tubos polínicos foram um pouco maiores e mais delgados, porém é evidente o intumescimento da porção final do tubo provocado pela deposição de calose na região ainda próxima à superfície estigmática (Figura 6 b). Pode-se caracterizar de forma geral que em ambos os tratamentos ilegítimos (auto e intramórfico) de flores brevistilas, as barreiras ocorreram no estigma.

A reação de incompatibilidade em pistilos de flores longistilas parece ser menos evidente. As autopolinizações resultaram em tubos polínicos mais finos e mais longos, quando comparados com os de flores brevistilas, e com muitos pontos de calose. Estes tubos podiam crescer por grandes extensões, sendo interrompidos ao longo do estilete, mas podendo chegar à sua porção basal (Figura 6 d). Da mesma forma, os tubos polínicos formados após cruzamentos ilegítimos nas flores longistilas foram encontrados em praticamente toda a extensão do estilete, porém não chegaram ao ovário (Figura 6 c e e). Nos cruzamentos legítimos nos dois morfos os tubos polínicos cresceram normalmente (Figura 6 f e g) e puderam ser observados alcançando o ovário.

FIGURA 6. Crescimento de tubos polínicos em estigmas e estiletes de *Palicourea rigida* H. B. K. (Rubiaceae) após 6 horas de polinização manual. a: autopolinização em flor brevistila; b: polinização ilegítima em flor brevistila; c e e: polinização ilegítima em flor longistila (seta mostra região até onde crescem os tubos polínicos); d: autopolinização em flor longistila; f: grãos-de-pólen legítimos germinando em estigma de flor brevistila; g: grãos-de-pólen legítimos germinando em estigma de flor longistila (seta mostra os tubos polínicos chegando ao final do estilete). Micrografias a, b, d e f: escala= 100µm; c e g: escala= 200µm; e: escala= 1000µm.



Visitantes florais e polinizadores

Os visitantes florais mais freqüentes observados nas duas áreas de estudos foram beija-flores. Quatro espécies foram identificadas nas duas áreas de estudo², *Eupetomena macroura* (beija-flor tesoura) (Figura 3 c), *Amazilia fimbriata* (beija-flor de garganta verde), *Colibri serrirostris* (beija-flor de orelha violeta) e *Heliactin bilophum* (beija-flor chifre de couro), além de abelhas grandes não identificadas. Abelhas menores, borboletas e moscas foram vistas ocasionalmente. Os beija-flores demonstraram comportamento territorialista com defesa de manchas de recurso, chegando a mostrar comportamento agressivo com outros beija-flores e com outros animais como borboletas e abelhas. Estas aves tinham o hábito de visitar uma grande quantidade de flores na mesma planta seguidamente e, quando não estavam coletando néctar, pousavam em alguma outra planta vizinha. Qualquer outro animal que se aproximava da mancha era expulso. Entenda-se por mancha uma ou algumas plantas próximas com muitas flores abertas. As visitas foram observadas ao longo de todo o dia. Não foram observadas diferenças de comportamentos dos beija-flores nos dois morfos.

As abelhas maiores introduziam parte de seu corpo na corola para retirar pólen e néctar e assim tocavam os estigmas e anteras da flor. Muitas abelhas foram vistas pilhando néctar. Elas se agarravam no tubo da corola e introduziam o aparelho bucal na parte inferior externa da giba. Outras faziam aberturas na corola para retirar o néctar e outras ainda utilizavam aberturas pré-existentes.

Formigas foram vistas nas inflorescências, mas estas não contatavam as estruturas reprodutivas das flores. Elas apenas patrulhavam os ramos das inflorescências retirando o néctar ainda exposto nos discos nectaríferos das flores já caídas. Eventualmente tinham comportamento de defesa da inflorescência expulsando outros insetos.

² Identificações e observações complementares de A. G. Franchin

DISCUSSÃO

Caracterização das populações

As populações das duas áreas estudadas são claramente distintas em termos de estrutura e conservação. A área do PESCAN, provavelmente por ser melhor protegida e ter uma história de conservação mais longa em relação à área do CCPIU, de um modo geral, tem indivíduos maiores. O PESCAN foi criado em 1970 e a área parece não ter tido uma história de uso agrícola. O CCPIU, por sua vez tem uma história de perturbação, com cortes rasos registrados em fotografias aéreas no ano de 1979 e uso semi-intensivo para criação de gado (I. Schiavini, comunicação pessoal). Obviamente as diferenças estruturais podem envolver outras características ambientais com solo e umidade, mas certamente a história de conservação e a cronologia explicam em grande parte estas diferenças. Também o fogo é característico para ambas as áreas de forma similar, ocorrendo com frequência.

A população de *Palicourea rigida* do CCPIU se apresentou mais densa que a do PESCAN talvez por ser uma área de cerrado menos preservada e conseqüentemente mais aberta. Muitos destes indivíduos são claramente rebrotos de plantas que tiveram a parte aérea morta. Os resultados obtidos neste estudo para o PESCAN estão dentro do esperado em relação a outro realizado no ano de 2004 (A. Barcelos-Silveira, dados não publicados). Neste, a média de altura dos indivíduos, sem distinção de morfo, foi de 1,97 m e a densidade foi de 77,14 indivíduos/ha. No estudo realizado em Brasília (Silva 1995) a média estimada de densidade para aquela população foi de 130,2 indivíduos/ha, resultado próximo ao encontrado em uma das áreas de estudo do PESCAN. Uma população de *P. rigida* estudada na Venezuela teve densidade de 187 indivíduos/ha (Wütherich *et al.* 2001), resultado este, próximo ao encontrado para a população do CCPIU. Todos estes estudos, porém, revelam densidades populacionais bem mais elevadas que a média relatada na literatura para as populações de *P. rigida* em geral (Silva-Júnior 2005).

Apesar das diferenças de densidade e tamanho de plantas, as populações estudadas não apresentaram características morfométricas ou de distribuição de morfos que pudessem ser associadas a estas diferentes histórias de conservação.

Isopletia

A frequência de indivíduos dos dois morfos nas populações de *P. rigida* estudadas, não revelou a dominância de um dos morfos sobre o outro, prevalecendo a tendência de isopletia esperada para espécies heterostílicas. Porém este resultado não foi encontrado na população estudada por Silva (1995) no Distrito Federal. Esta população não se apresentou isoplética, sendo que, em duas áreas as plantas longistilas foram mais frequentes e em outra área a situação foi inversa, tendo predomínio de plantas brevistilas. Mas a autora sugere que o predomínio de plantas de um dos morfos na população pode estar relacionado com propagação vegetativa das raízes e/ou perda parcial da auto-incompatibilidade. É preciso ressaltar que o número de indivíduos amostrados para as sub-populações em Brasília foi sempre menor que aqueles amostrados no presente estudo e que a anisopletia encontrada pode ser decorrente da pequena amostra. Pequenas populações de *Hottonia palustris*, uma espécie distílica da Europa, tenderam a apresentar maiores desvios da razão 1:1 entre morfos do que as populações maiores (Brys *et al.* 2007).

No gênero *Palicourea*, a isopletia foi registrada para *P. padifolia* nas populações estudadas no México (Ornelas *et al.* 2004) e na Costa Rica (Ree 1997), e para *P. fendleri* na Venezuela (Sobrevila *et al.* 1983). Das oito espécies de *Palicourea*, *Psychotria* e *Rudgea* estudadas em Viçosa, MG, (Pereira *et al.* 2006) cinco tiveram proporções equilibradas entre os morfos, e das quatro espécies de *Psychotria* estudadas na mata atlântica, três mostraram-se isopléticas sendo que para a quarta a razão não pôde ser definida devido ao tamanho reduzido da população (Castro *et al.* 2004). *Psychotria poeppigiana*, mesmo com elevada taxa de reprodução vegetativa, também apresentou isopletia na população estudada em matas de galeria de Uberlândia (Coelho & Barbosa 2004).

Aparentemente, o mecanismo primário que mantém as populações com iguais proporções de morfos é uma seleção dependente de frequência, em que há maior número de cruzamentos legítimos em relação aos ilegítimos (Barrett *et al.* 2000a). A proporção equitativa entre os morfos nas populações também pode ser explicada pelo igual sucesso reprodutivo de ambos os morfos e indica que eles produzem com igual frequência, descendentes brevistilos e longistilos.

A isopletia é a situação esperada para populações naturais de espécies heterostílicas, sobretudo em áreas relativamente preservadas. Isso porque a fragmentação de habitats pode afetar as populações distílicas, diminuindo o número de indivíduos de um dos morfos. Em termos evolutivos, se houver dominância de um dos morfos em uma população, a espécie pode se tornar autocompatível como um meio de se manter no ambiente. Isto porque a ausência ou rarefação de um dos morfos dificultaria a reprodução do outro devido à incompatibilidade heteromórfica.

Quebras no sistema de incompatibilidade (Consolaro 2004) ou o aparecimento e dominância de indivíduos homostílicos (Coelho & Barbosa 2003) têm sido relatados para espécies de Rubiaceae de ambientes florestais e podem estar associadas a processos de fragmentação ambiental. A autocompatibilidade permite ampla distribuição geográfica e a ocupação de habitats onde os polinizadores são escassos ou ausentes, ou onde o estabelecimento é, por algum motivo, comprometido (Ganders 1979, Barrett 1992).

Barrett (1992) argumenta que a anisopletia talvez seja desencadeada pela propagação vegetativa e perda da incompatibilidade intramórfica, porém muitas das espécies encontradas em populações quase monostílicas não apresentam autocompatibilidade e reprodução vegetativa, reforçando a teoria da fragmentação de habitats. *Manettia cordifolia*, por exemplo, pertence a um gênero tipicamente heterostílico (Ganders 1979) e apresentou população com monomorfismo longistílico e auto-incompatibilidade (Consolaro *et al.* 2005).

Dentro do gênero *Palicourea* onde quase todas as espécies são heterostílicas, a homostilia foi citada até então apenas para *P. alpina* (Tanner 1982), e foi encontrada na população de *P. macrobotrys* de Uberlândia e nas exsicatas de outras populações investigadas neste estudo (Coelho & Barbosa 2003). Mas, ainda assim, esta última espécie não foi considerada pelos autores como sendo uma espécie homostílica devido

ao fato de não se saber se ocorre na espécie como um todo ou apenas em populações isoladas. Em uma das populações de *P. petiolaris* estudadas na Venezuela, somente o morfo longistilo estava presente (Sobrevila *et al.* 1983).

Diferenças morfométricas e produção de néctar

Neste estudo pôde-se comprovar a hercogamia recíproca em *P. rigida* através das alturas de estigmas e anteras (ver figuras 5 e 6). A média de altura dos estames das flores brevistilas é correspondente à média de altura dos estigmas de flores longistilas e vice-versa. O estigma é claramente distinto entre os morfos sendo o das flores brevistilas bem maiores (3 vezes em média). O mesmo ocorre com a maioria das *Palicourea* e *Psychotria* estudadas até o momento (Sobrevila *et al.* 1983, Silva 1995, Ree 1997, Castro *et al.* 2004, Coelho & Barbosa 2004, Pereira *et al.* 2006). Os lobos mais longos e finos dos estigmas das flores brevistilas permanecem congestionados e não obstruem o acesso ao néctar pelos polinizadores nem são facilmente contaminados pelo pólen da própria flor. A forma mais compacta do estigma das flores longistilas, que são exsertos, evita a recepção de autopólen e permite que os estigmas sejam mais eficientes em receber pólen do morfo oposto (Sobrevila *et al.* 1983, Silva 1995).

As anteras também se mostraram maiores nas flores brevistilas, fato registrado para várias espécies de *Palicourea* (Sobrevila *et al.* 1983, Feinsinger & Busby 1987, Ree 1997), mas que, no entanto, não ocorreu nas populações de *P. rigida* de Brasília (Silva 1995). Situação inversa ocorreu com *Psychotria poepigiana* (Coelho & Barbosa 2004) onde as anteras de flores longistilas foram maiores.

Nos primeiros estudos sobre heterostilia, poucas espécies heterostílicas foram relatadas apresentando diferenças, entre os morfos florais, em relação ao tamanho das flores ou outras características secundárias. Quando tais diferenças ocorreram, na maioria das vezes, as flores brevistilas foram maiores (Ganders 1979, Hamilton 1990). No entanto, estudos recentes têm revelado que várias espécies heterostílicas mostram assimetrias entre as medidas das flores dos morfos. Este foi o caso para as duas populações de *Palicourea rigida*, que apresentaram variações significativas de tamanho da corola no presente estudo. As flores brevistilas de outras Rubiaceae também exibiram

maior comprimento que as longistilas como *Palicourea padifolia* (Ree 1997, Ornelas *et al.* 2004), *P. petiolaris* e *P. fendleri* (Sobrevila *et al.* 1983), as espécies de *Psychotria* estudadas na Mata Atlântica (Castro *et al.* 2004), *Palicourea longepedunculata*, *P. marcgravii*, *Psychotria hastisepala*, *P. nuda* e *Rudgea lanceolata* (Pereira *et al.* 2006) e *Sabicea cinerea* (Teixeira & Machado 2004b).

Diferenças em atributos florais como tamanho da corola e/ou características relativas ao néctar poderiam ser esperadas como forma de aumentar atratividade aos visitantes florais das flores brevistilas. Esta maior atratividade poderia ser uma forma de compensar a inserção do estigma que poderia dificultar a polinização neste morfo, em relação às flores longistilas (Dulberger 1992). Estas diferenças, no entanto, não apresentam um padrão nas espécies e nas populações estudadas. Populações diferentes de *Palicourea fendleri* e *P. petiolaris* exibiram diferenças entre os morfos em algumas populações da Venezuela e em outras não (Sobrevila *et al.* 1983). O mesmo ocorreu em *Palicourea rigida* quando foram comparadas as populações de Brasília com as aqui estudadas. Estas diferenças podem ser resultado do polimorfismo natural da espécie, mas tais assimetrias têm sido associadas a vários fatores ambientais, principalmente à fragmentação de habitats. As diferenças poderiam funcionar como uma forma de um dos morfos aumentar seu sucesso reprodutivo em resposta à sua menor frequência na área, aumentando a atratividade das flores do morfo em desvantagem (Dulberger 1992). Como as populações aqui estudadas são isopléticas, as diferenças encontradas são provavelmente parte do polimorfismo natural da espécie.

Quanto ao néctar, este variou em relação à concentração de equivalentes de sacarose somente na população do PESCAN, onde as flores longistilas apresentaram maior concentração de açúcares no néctar, o que não ocorre com a população do Caça e Pesca, e nem com a população de *P. rigida* do Distrito Federal (Silva 1995). A população do Caça e Pesca apresentou diferenças significativas quanto ao volume de néctar produzido, sendo maior nas flores longistilas. Em outra Rubiaceae, *Psychotria barbiflora*, estudada no Parque Estadual Dois Irmãos, Recife-PE, as flores longistilas apresentaram maior volume e menor concentração de néctar (Teixeira & Machado 2004a). Maior quantidade de néctar nas flores longistilas também ocorreu em uma população *Palicourea padifolia* do México (Ornelas *et al.* 2004). Diferenças na concentração de

açúcares no néctar foram encontradas também em *Psychotria mapourioides* e *P. pubigera* sendo que as flores brevistilas tiveram maiores concentrações (Castro & Oliveira 2002). Em *Psychotria poeppigiana*, nenhuma diferença foi encontrada entre os morfos no que se refere ao volume e concentração de néctar (Coelho & Barbosa 2004).

Variações na quantidade ou concentração de néctar entre os morfos florais poderiam surgir na medida em que um destes morfos tivesse alguma desvantagem no sucesso reprodutivo em relação ao outro, como forma adicional de aumentar a atratividade dos polinizadores às flores deste morfo. No entanto, não existe na literatura nenhum relato de correlação entre a variação destes parâmetros com o sucesso reprodutivo de cada morfo.

A quantidade de néctar produzido pelas flores de *P. rigida* é menor que o observado para flores tipicamente polinizadas por beija-flores (Baker 1975, Buzato *et al.* 2000). Menores quantidades de néctar têm sido associadas às estratégias de manter os polinizadores em movimento e fazer com que eles visitem mais flores para saciar as suas necessidades nutricionais, aumentando assim o fluxo de pólen entre as plantas (Navarro 1999, Coelho & Barbosa 2003). As concentrações encontradas no presente estudo também estão um pouco abaixo do referenciado para beija-flores em geral (25,4%) (Pyke & Waser 1981).

A produção contínua de néctar em *P. rigida* e sua secreção mesmo depois da queda da corola e dos órgãos sexuais da flor fazem com que sejam comuns formigas patrulhando as inflorescências e se alimentando deste néctar. Este fato foi observado também para outra população de *P. rigida* (Silva 1995) e em outras Rubiaceae como *P. macrobotrys* (Coelho & Barbosa 2003) e *Tocoyena formosa* (Santos & Del Claro 2001).

Sucesso reprodutivo

Apesar das diferenças relativas à morfometria e à produção de néctar encontradas entre os morfos florais de *Palicourea rigida*, o sucesso reprodutivo da espécie foi relativamente alto e similar entre os dois morfos (45% em média), considerando os dois métodos utilizados para os dois morfos nas duas populações. Este resultado foi mais elevado que os encontrados para as populações de *P. rigida* em Brasília (26,5%) (Silva

1995). Mas foi semelhante ao encontrado para outras *Palicourea* como *P. padifolia* (Ree 1997), *P. petiolaris* e *P. fendleri* (Sobrevila *et al.* 1983) e *P. macrobotrys* (Coelho & Barbosa 2003). Vale ressaltar que esta última espécie foi homostílica e autocompatível na população estudada. Outras Rubiaceae como *Psychotria suterella* (Lopes & Buzato 2005), *P. jasminoides* (Castro *et al.* 2004), *P. nuda* (Castro & Araújo 2004) e *Sabicea cinerea* (Teixeira & Machado 2004b) tiveram resultados semelhantes, sendo todas elas fortemente auto-incompatíveis. O sucesso reprodutivo para estas espécies variou em torno de 50% após polinização natural.

A eficiência de frutificação de *P. rigida* é relativamente alta quando comparada com outras plantas arbóreas auto-incompatíveis do Cerrado (em torno de 7%). Como exemplo, podemos citar algumas espécies auto-incompatíveis de outras famílias que são polinizadas por abelhas grandes como *Kielmeyera speciosa* (10%), *Ouratea hexasperma* (16%), *Qualea parviflora* (2%) e *Q. multiflora* (3%) (Oliveira 1991). O sucesso reprodutivo encontrado é explicado pelas altas frequências de pistilos polinizados encontrados nas populações estudadas. Todas as flores amostradas apresentaram indícios de polinização devido à constatação do crescimento de tubos polínicos nos estiletes, sendo que não houve diferenças marcadas entre os morfos.

A maior quantidade de grãos-de-pólen nos estigmas de flores brevistilas de *P. rigida* indicaria um maior potencial de formação de frutos nestas plantas, o que não corroboraria com a hipótese da função masculina atribuída às flores brevistilas de espécies distílicas (Monteiro *et al.* 1991). Essa maior quantidade de grãos-de-pólen, depositada nos estigmas de flores brevistilas, estaria associada à maior superfície estigmática destas flores. *Palicourea fendleri* também obteve maiores quantidades de grãos-de-pólen depositadas nos estigmas de flores brevistilas devido à sua maior área (Lau & Bosque 2003). Maior superfície estigmática nas flores brevistilas parece funcionar como uma forma de compensar as desvantagens reprodutivas deste morfo em relação ao morfo longistilo (Ree 1997). Esta grande quantidade de tubos polínicos crescendo nos pistilos de flores brevistilas sugere ainda que os polinizadores tenham sido eficientes em transportar pólen entre os diferentes morfos, já que as reações de incompatibilidade nestas flores ocorrem, de forma geral, no estigma.

Embora as diferenças entre as duas populações estudadas não tenham sido testadas estatisticamente, o sucesso de frutificação parece ter sido maior na área do CCPIU. Isto pode ser explicado pelo porte e quantidade de inflorescências de cada planta, que nesta área foram menores. Plantas maiores apresentariam maior quantidade de flores e teriam uma alta frequência de visitação por parte dos polinizadores. Porém, elas teriam maiores taxas de geitonogamia, que é a transferência do pólen da antera para o estigma de outra flor situada na mesma planta (Jong *et al.* 1992), diminuindo a porcentagem de cruzamentos legítimos necessários para a reprodução. Além disto, a população do CCPIU é mais densa que a do PESCAN. Na distílica *Primula veris*, por exemplo, o *fruit-set* foi positivamente correlacionado com a densidade de plantas na Bélgica (Van Rossum *et al.* 2006).

Não ocorreram diferenças significativas na produção de frutos entre morfos florais de *Palicourea rigida*, apesar da ocorrência de algumas diferenças morfométricas entre os morfos. Diferenças em atributos florais entre morfos também não interferiram no sucesso reprodutivo de *P. lasiorrachis* na Costa Rica (Feinsinger & Busby 1987) nem em *P. padifolia* no México (Ornelas *et al.* 2004). Entretanto, algumas diferenças interpopulacionais foram registradas na eficácia reprodutiva dos morfos de *P. petiolaris* e *P. fendleri* na Venezuela (Sobrevila *et al.* 1983). Variações semelhantes ocorreram entre períodos estudados para *P. rigida* no Distrito Federal, mas não foram feitas comparações entre as populações neste estudo (Silva 1995). Plantas com flores longistilas de *Psychotria barbiflora* formaram mais frutos do que as brevistilas, sugerindo uma possível função feminina a estas flores para as populações observadas no cerrado (Monteiro *et al.* 1991). *Erythroxylum suberosum* (Erythroxylaceae) é uma espécie distílica do Cerrado que não apresentou diferenças no tamanho das flores dos dois morfos e, tão pouco, diferenças significativas na produção de frutos (Emerique 2002).

As características diferenciais entre os morfos florais das espécies heterostílicas têm sido associadas à eficiência das polinizações legítimas. Dimorfismo entre os grãos de pólen, superfície e papilas estigmáticas nos morfos florais diminuiriam ou anulariam a possibilidade dos cruzamentos ilegítimos, os quais poderiam permitir combinações deletérias de genes (Vuilleumier 1967, Ganders 1979, Barrett 1992).

Auto-incompatibilidade

Apesar do alto *fruit-set*, a espécie é claramente distílica, isoplética e auto-incompatível (Silva 1995), indicando que polinizações legítimas são vitais para a manutenção de populações auto-regenerativas. A auto-incompatibilidade associada ao dimorfismo floral em *Palicourea* foi caracterizada primeiramente por Sobrevila & Arroyo (1982) em floresta tropical da Venezuela e em *P. rigida* foi confirmada por polinizações controladas nas populações do Distrito Federal (Silva 1995). As observações de crescimento de tubos polínicos sob microscopia de fluorescência em pistilos resultantes de polinizações controladas confirmaram a auto-incompatibilidade e incompatibilidade intramorfo.

Os locais de formação da barreira de incompatibilidade foram diferentes para cada morfo. De forma geral, as barreiras de incompatibilidade nas autopolinizações e polinizações intramórficas de flores brevistilas ocorrem no estigma, seja na superfície ou na região do estilete próxima a ela. Nas flores longistilas as barreiras ocorrem ao longo do estilete, podendo o crescimento dos tubos polínicos atingir grandes extensões deste. Este padrão está de acordo com os resultados encontrados para *P. rigida* por Silva (1995) e para Rubiaceae heterostílicas de uma maneira geral (Bawa & Beach 1983). Em um estudo feito com 14 Rubiaceae na Costa Rica, para sete delas as diferenças entre morfos quanto aos locais onde se formam as barreiras de incompatibilidade foram praticamente idênticas aos de *P. rigida* (Bawa & Beach 1983). Tais diferenças na posição das barreiras de incompatibilidade foram encontradas também em outras espécies distílicas de Rubiaceae como *Palicourea longepedunculata*, *Psychotria hastisepala* (Pereira *et al.* 2006), *Psychotria poeppigiana* (Coelho & Barbosa 2004), *Psychotria suterella* (Lopes & Buzato 2005); e mesmo em espécies heterostílicas de outras famílias, como em duas espécies de *Erythroxylum* estudadas no Cerrado (Barros 1998).

De fato, vários autores relatam que os locais de formação destas barreiras são variáveis, não só entre os morfos, mas também entre espécie (Bawa & Beach 1983, Gibbs 1990). Os grãos-de-pólen maiores de flores brevistilas crescem mais rápido em pistilos de flores longistilas que o inverso. Estas diferenças na velocidade de crescimento dos tubos polínicos, associadas ao grau de reação de incompatibilidade mais forte em

flores brevistilas, são importantes no sentido de dificultar a fertilização destas flores por pólen de mesmo morfo, já que o comprimento dos seus pistilos é menor. Se a velocidade de crescimento dos tubos polínicos fosse a mesma nos pistilos de flores brevistilas, estes tubos poderiam penetrar o ovário e conseqüentemente fertilizar os óvulos (Dulberger 1992). Observações de crescimento de tubos polínicos incompatíveis nos tecidos estilares de Rubiaceae distílicas sugerem que dois ou mais mecanismos de incompatibilidade distintos estejam presentes na família (Bawa & Beach 1983). Reações de incompatibilidade ocorrendo nos tecidos do pistilo parecem ser características das espécies heterostílicas, não ocorrendo geralmente com as demais plantas auto-incompatíveis do Cerrado (Oliveira 1991).

A autocompatibilidade em espécies heterostílicas é associada a espécies homostílicas ou espécies com populações com apenas um dos morfos florais. Assim ocorreu em *Palicourea macrobotrys* e *Psychotria carthagenensis* nas populações de Uberlândia (Coelho & Barbosa 2003, Consolaro 2004). *Palicourea petiolaris* foi parcialmente autocompatível em duas populações estudadas, sendo que em uma delas o morfo brevistilo era ausente, enquanto que *P. fendleri* foi fortemente auto-incompatível nas mesmas populações onde esta espécie tinha as mesmas proporções de indivíduos brevistilos e longistilos. O nível de autocompatibilidade de *P. petiolaris* variou entre populações geograficamente isoladas, sendo considerado bem mais forte na população onde só havia indivíduos longistílicos (Sobrevila *et al.* 1983). Uma população de *Psychotria suterella* estudada em São Paulo foi completamente auto-incompatível (Lopes & Buzato 2005) enquanto que outra população de um fragmento florestal do mesmo Estado foi autocompatível (Grandisoli 1997) sugerindo quebra do sistema de incompatibilidade da espécie nesta última população. Desta maneira, a isopletia em espécies distílicas, como descrito para *P. rigida*, pode ser um forte indicativo de um sistema de incompatibilidade funcional.

Hamilton (1990) considera que o surgimento da autocompatibilidade intramórfica tenha sido necessária para manter o sucesso reprodutivo das espécies onde o morfo oposto tenha desaparecido. Isto teria se dado pela perda ou relaxamento da capacidade de inibição do crescimento dos tubos polínicos devido a uma quebra de ligação do “supergene” para heterostilia, onde as características morfológicas se mantêm, mas a

regulação do sistema de incompatibilidade torna-se independente (Baker 1966). Outra possibilidade seria as falhas no sistema de incompatibilidade do morfo longistilo, que parecem ser comuns (Hamilton 1990). Normalmente, quando apenas um dos morfos está presente numa população, este morfo é o longistilo.

Em *P. rigida*, que ocorre em populações amplas num contínuo de vegetação de savana, os problemas de fragmentação de habitat que parecem estar associados ao surgimento de anomalias no sistema de reprodução de Rubiaceae de ambientes florestais (Coelho & Barbosa 2003, Consolaro 2004) talvez sejam menos importantes. Fragmentação de habitat deve ter um impacto importante principalmente sobre o fluxo de pólen entre plantas de morfos diferentes. Neste sentido, a isopletia e disponibilidade de polinizadores devem ser fundamentais para manter populações auto-regenerativas.

Polinizadores

Palicourea rigida é polinizada principalmente por beija-flores confirmando suas características ornitófilas. O principal polinizador nas duas áreas estudadas foi *Eupetomena* dada a frequência de visitas deste beija-flor às plantas de *P. rigida*. As espécies de beija-flores adicionais observadas nas áreas do PESCAN e do CCPIU têm em comum o fato de serem basicamente de mesmo tamanho (em torno de 10 cm) e são um pouco menores que *Eupetomena macroura* (acima de 16 cm), o que poderia explicar sua dominância. Na área de cerrado estudada no Distrito Federal, esta espécie não foi citada e *Colibri serrirostris* foi considerado o principal polinizador, tendo cinco outras espécies de beija-flores como polinizadores adicionais (Silva 1995), sendo que destes, apenas *Amazilia fimbriata* é comum às áreas de Brasília e as deste estudo. *C. serrirostris* também é um beija-flor com comportamento fortemente territorialista.

Trabalhos feitos com outras *Palicourea* reafirmam a ornitofilia para o gênero. *P. petiolaris* e *P. fendleri*, tiveram como principais polinizadores duas espécies de beija-flores, *Chlorostilbon alice* e *Amazilia tobaci*, e uma espécie de *Bombus* como polinizador adicional (Sobrevila et al. 1983). *Thalurania furcata* foi considerada a espécie de beija-flor mais importante no processo de polinização de *P. macrobotrys*, que foi visitada ainda por *Phaetornis pretrei* e alguns lepidópteros e abelhas (Coelho & Barbosa 2003). Os beija-

flores e abelhas também foram os principais visitantes de *P. padifolia* (Ree 1997, Ornelas *et al.* 2004). *P. lasiorrachis* é polinizada pelo beija-flor *Lampornis calolaema* na Costa Rica (Feinsinger & Busby 1987). Outras Rubiaceae são também polinizadas por beija-flores como *Psychotria nuda* (Castro & Araújo 2004), *Sabicea cinerea* (Teixeira & Machado 2004b), *Ferdinandusa speciosa* (Castro & Oliveira 2001) e *Manettia cordifolia* (Consolaro *et al.* 2005).

No Parque Estadual da Serra de Caldas Novas e no Caça e Pesca, *P. rigida* parece constituir uma das mais importantes fontes de alimento para os beija-flores durante seu período de floração, pois apresenta altas densidade populacional e recompensa floral. Os beija-flores complementam ainda sua dieta com pequenos insetos que neste caso utilizam as flores de *P. rigida* como local de abrigo. A oferta de flores e plantas densamente floridas possibilitou inclusive comportamento territorial dos beija-flores mais comuns.

Apesar do comportamento territorialista dos beija-flores, que maximiza a geitonogamia, o sucesso reprodutivo de *P. rigida* é relativamente alto nas duas populações. Mesmo visitando muitas vezes todas as flores de uma mesma planta, o intercâmbio de pólen entre os diferentes morfos é eficiente para a polinização cruzada exigida para a reprodução desta espécie. A produção de frutos é facilitada ainda pelo fato de *P. rigida* possuir apenas dois óvulos em cada flor o que faz com que uma pequena quantidade de pólen compatível seja suficiente para frutificação. A estratégia de forrageamento do polinizador exerce importante função no fluxo de pólen e conseqüente taxa de frutificação de espécies distílicas que necessitam deste fluxo entre morfos para seu sucesso reprodutivo (Dulberger 1992).

A família Rubiaceae é a maior em número de espécies heterostílicas dentre todas as famílias de Angiospermas. No entanto, poucos são os estudos que buscam diferenciar os morfos quanto às características secundárias e relacionar as possíveis variações com o sucesso reprodutivo, tendo em foco ainda, as mudanças ambientais e a fragmentação de habitat. Sendo assim, estudos futuros com espécies heterostílicas contribuirão imensamente no entendimento da ecologia deste interessante grupo de plantas, assim como, na conservação dos ambientes naturais, sobretudo, o Cerrado.

CONCLUSÕES

As populações de *Palicourea rigida* do PESCAN e do CCPIU são tipicamente distílicas, ou seja, apresentam isopleia, hercogamia recíproca, e sistema de incompatibilidade auto e intramórfica. As densidades populacionais estão dentro do esperado em relação a outras áreas de estudo que, mesmo sendo distantes, têm características ambientais semelhantes. As populações diferem quanto à densidade e altura dos indivíduos provavelmente devido às suas histórias de conservação. As populações são isopléticas mantendo as mesmas proporções de indivíduos brevistilos e longistilos, como se espera para populações naturais de espécies heterostílicas.

Algumas variações morfométricas secundárias foram encontradas entre os morfos, porém estas variações não foram constantes quando comparamos as duas populações entre si e com as estudadas em outros locais. As diferenças que porventura ocorreram na morfometria das flores, pareceram não ser perceptíveis aos polinizadores, que visitaram indistintamente ambos os morfos, de forma que não interferiram no sucesso reprodutivo da espécie. As diferenças referentes às medidas de néctar também pareceram não afetar a eficácia reprodutiva, mesmo porque estas diferenças não ocorreram da mesma forma nas populações estudadas.

Apesar do forte sistema de incompatibilidade auto e intramorfo e do comportamento territorialista dos beija-flores, em ambas as populações o sucesso reprodutivo foi igualmente alto, tanto em plantas de morfo brevistilo quanto em plantas de morfo longistilo. Esta alta produtividade de frutos indica que os polinizadores, efetivamente transportaram quantidades suficientes de grãos-de-pólen compatíveis entre os morfos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, E.M. 1997. Interação entre formigas e *Palicourea rigida* (Rubiaceae) na vegetação de cerrado. Monografia de Bacharelado. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, MG.
- ALMEIDA, A.F. & SARMENTO, F.N.M. (coord.) 1998. Parque Estadual da Serra de Caldas – Plano de Manejo. CTE (Centro Tecnológico de Engenharia Ltda), FEMAGO – Fundação Estadual do Meio Ambiente. Goiânia, GO.
- APOLINÁRIO, V.A.R. 1995. Levantamento fitossociológico das espécies arbóreas do cerrado (s.s.) do Clube Caça e Pesca Itororó de Uberlândia - MG. Monografia de Bacharelado. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, MG.
- AYRES, M.; AYRES JÚNIOR, M.; AYRES, D.L. & SANTOS, A.S. 2000. Bio Estat 2.0: aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas.
- BAKER, H.G. 1966. The evolution, functioning and breakdown of heteromorphic incompatibility systems. I. The Plumbaginaceae. *Evolution* 20:349-368.
- BAKER, H.G. 1975. Sugar concentrations in nectar from hummingbird flowers. *Biotropica* 7:37-41
- BARRETT, S.C.H. & RICHARDS, J.H. 1990. Heterostyly in tropical plants. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 55:35-61.
- BARRETT, S.C.H. 1992. Heterostylous genetic polymorphisms: model systems for evolutionary analysis. *In*: S.C.H. Barrett (ed.). *Evolution and function of heterostyly*. Springer-Verlag. Berlin, 1-24.
- BARRETT, S.C.H.; JESSON, L.K. & BAKER, A.M. 2000a. The evolution and function of polymorphisms in flowering plants. *Annals of Botany* 85:253-265.

- BARRETT, S.C.H.; WILKEN, D.H. & COLE, W.W. 2000b. Heterostyly in the Lamiaceae: the case of *Salvia brandegeei*. *Plant Systematics and Evolution* 223:211-219.
- BARROS, M.G. 1998. Sistemas reprodutivos e polinização em espécies simpátricas de *Erythroxylum* P. Br. (Erythroxylaceae) do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 21:159-166
- BAWA, K.S. & BEACH, J.H. 1983. Self-incompatibility in the Rubiaceae of a tropical lowland forest. *American Journal of Botany* 70:1281-1288.
- BORALI, M.P. 1996. A Reserva Particular do Patrimônio Natural Caça e Pesca Itororó - Uberlândia - MG. Monografia de Bacharelado. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, MG.
- BROWER, J.E. & J.H. ZAR. 1984. Field & laboratory methods for general ecology. W.C. Brown Publishers. Dubuque, Iowa.
- BRYN, R.; JACQUEMYN, H. & HERMY, M. 2007. Impact of mate availability, population size, and spatial aggregation of morphs on sexual reproduction in a distylous, aquatic plant. *American Journal of Botany* 94:119-127.
- BUZATO, S.; SAZIMA, M. & SAZIMA, I. 2000. Hummingbird-pollinated floras at three Atlantic Forest sites. *Biotropica* 32:824-841.
- 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. 2001. Reproductive biology of the protandrous *Ferdinandusa speciosa* Pohl (Rubiaceae) in southeastern Brazil. *Revista Brasileira de Botânica* 24:167-172.
- CASTRO, C.C. & OLIVEIRA P.E.A.M. 2002. Pollination biology of distylous Rubiaceae in the Atlantic Rain Forest, SE Brazil. *Plant Biology* 4:640-646.

- 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* 6:1-6.
- COELHO, C.P. & BARBOSA, A.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.A. 2004. Biologia reprodutiva de *Psychotria poeppigiana* Mült. Arg. (Rubiaceae) em mata de galeria. *Acta Botânica Brasilica* 18:481-489.
- CONSOLARO, H.N. 2004. Biologia reprodutiva de duas espécies de Rubiaceae de mata de galeria do Triângulo Mineiro-MG. Dissertação de Mestrado. Universidade Federal de Uberlândia. Uberlândia, MG.
- CONSOLARO, H.N.; SILVA, E.B. & OLIVEIRA, P.E. 2005. Variação floral e biologia reprodutiva de *Manettia cordifolia* Mart. (Rubiaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 28:85-94.
- DARWIN C. 1877. The different forms of flowers and plants of the same species. John Murray. London.
- DULBERGER R. 1992. Floral polymorphisms and their functional significance in the heterostylous syndrome. *In*: Barrett S.C.H. (ed.). *Evolution and function of heterostyly*. Springer-Verlag. Berlin, 41-77.
- EMERIQUE, S.D.C. 2002. Ecologia reprodutiva de *Erythroxylum suberosum* S. Hil.: distília vs. especialização de funções reprodutivas. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo. São Paulo, SP.
- EMPRESA BRASILEIRA DE PESQUISA AGROPECUÁRIA. 1982. Serviço Nacional de Levantamento e Conservação de Solos. Levantamento de média intensidade dos

- solos e avaliação da aptidão agrícola das terras do Triângulo Mineiro. Rio de Janeiro (Boletim de pesquisa, 1).
- FEINSINGER, P. & BUSBY, W.H. 1987. Pollen carryover: experimental comparisons between morphs of *Palicourea lasiorrachis* (Rubiaceae) a distylous, bird-pollinated, tropical treelet. *Oecologia* 73:231-235.
- FAEGRI, K. & VAN DER PIJL, L. 1971. The principles of pollination ecology. Pergamon Press. Oxford.
- GANDERS, F.R. 1974. Disassortive pollination in the distylous plant *Jepsonia heterandra*. *Canadian Journal of Botany* 52:2401-2406.
- GANDERS, F.R. 1976. Pollen flow in distylous populations of *Amsinckia* (Boraginaceae). *Canadian Journal of Botany* 54:2530-2535.
- GANDERS, F.R. 1979. The biology of heterostyly. *New Zealand Journal of Botany* 17:607-635.
- GIBBS, P. 1990. Self-incompatibility in flowering plants: a neotropical perspective. *Revista Brasileira de Botânica* 13:125-136.
- GRANDISOLI, E.A.C. 1997. Biologia reprodutiva e estrutura da população de *Psychotria suterella* Müll. Arg. (Rubiaceae) em um fragmento de mata secundária em São Paulo (SP). Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo. São Paulo, SP.
- HAMILTON, C.W. 1990. Variations on a distylous theme in Mesoamerican *Psychotria* subgenus *Psychotria* (Rubiaceae). *Memoirs of the New York Botanical Garden* 55:62-75.
- JONG, T.J.; WASER, N.M.; PRICE, M.V. & RING, R.M. 1992. Plant size, geitonogamy and seed set in *Ipomopsis aggregate*. *Oecologia* 89:310-315.

- JOHNSTON, I.M. 1952. Studies in Boraginaceae XXIII. A survey of the genus *Lithospermum*. J. Arnold Arbor 33:299-363.
- LAU, P. & BOSQUE, C. 2003. Pollen flow in the distylous *Palicourea fendleri* (Rubiaceae): an experimental test of the disassortative pollen flow hypothesis. Oecologia 135:593-600.
- LEVIN, D.A. 1968. The breeding system of *Lithospermum caroliniense*: adaptation and counteradaptation. American Naturalist 102:427-441.
- 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.
- LIMA-RIBEIRO, M.S.; PINTO, M. P.; COSTA, S.S.; NABOUT, J.C.; RANGEL, T.F.L.V.B.; MELO, T.L. & MOURA, I.O. 2006. Associação de *Constrictotermes cyphergaster* Silvestri (Isoptera: Termitidae) com espécies arbóreas do Cerrado brasileiro. Neotropical Entomology 35:49-55.
- LLOYD D.G. & WEBB C.J. 1992. The selection of heterostyly. In: Barrett S.C.H. (ed.). Evolution and function of heterostyly. Springer-Verlag. Berlin, 179-207.
- 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 Botânica 28:785-795.
- MABBERLEY, D.J. 1987. The plant-book. A portable dictionary of the higher plants. Cambridge University Press. Cambridge.
- MACEDO, R.H.F. 2002. The avifauna: ecology, biogeography and behavior. In: OLIVEIRA, P.S. & MARQUIS, R.J. (ed.). The Cerrados of Brazil. Columbia University Press. New York.

- MARTIN, F.N. 1959. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Tech.* 34:125.
- MENDONÇA, R.C.; FELFILI, J.M.; WALTER, B.M.T.; SILVA-JÚNIOR, M.C.; REZENDE, A.V.; FILGUEIRAS, T.S. & NOGUEIRA, P.E. 1998. Flora vascular do Cerrado. *In*: SANO, S.M. & ALMEIDA, S.P. (orgs). Cerrado: ambiente e flora. EMBRAPA. Planaltina, DF.
- MONTEIRO, R.; NAKAJIMA, J.N.; RIBEIRO, J.L.S. & TOLEDO, J.C. 1991. Morfologia e distribuição espacial das formas heterostílicas de *Psychotria barbiflora* DC. (Rubiaceae). *Naturalia* 16:137-146.
- NAVARRO, L. 1999. Pollination ecology and effect of nectar removal in *Macleania bullata* (Ericaceae). *Biotropica* 4:618-625.
- OLIVEIRA, P.E.A.M. 1991. The pollination and reproductive biology of a cerrado wood community in Brazil. PhD thesis. University of St. Andrews. Scotland.
- OLIVEIRA, P.E.A.M. 1998. Fenologia e biologia reprodutiva das espécies de Cerrado. *In*: SANO, S.M. & ALMEIDA, S.P. (orgs). Cerrado: ambiente e flora. EMBRAPA. Planaltina, DF.
- OLIVEIRA, P.E.A.M. & GIBBS, P.E. 2002. Pollination and reproductive biology in Cerrado plant communities. *In*: OLIVEIRA, P.S. & MARQUIS, R.J. (ed.). The Cerrados of Brazil. Columbia University Press. New York.
- ORNDUFF, R. 1976. The reproductive system of *Amsinckia grandiflora*, a distylous species. *Systematic Botany* 1:57-66
- ORNELAS, J.F.; GONZÁLES, C.; JIMÉNEZ, L.; LARA, C. & MARTINÉZ, A.J. 2004. Reproductive ecology of distylous *Palicourea padifolia* (Rubiaceae) in a tropical montane cloud forest. II. Attracting and rewarding mutualistic and antagonistic visitors. *American Journal of Botany* 91:1061-1069.

- PASSOS, L. & SAZIMA, M. 1995. Reproductive biology of the distylous *Manettia luteo-rubra* (Rubiaceae). *Botanica Acta* 108:309-313.
- PEREIRA, Z.V.; VIEIRA, M.F. & CARVALHO-OKANO, R.M. 2006. Fenologia da floração, morfologia floral e sistema de incompatibilidade em espécies distílicas de Rubiaceae em fragmento florestal do Sudeste brasileiro. *Revista Brasileira de Botânica* 29: 471-480.
- PYKE, G.H. & WASER, N.M. 1981. The production of dilute nectars by hummingbird and honeyeater flowers. *Biotropica* 13:260-270.
- RATTER, J.A.; BRIDGEWATER, S. & RIBEIRO, J.F. 2003. Analysis of the floristic composition of the brasilian cerrado vegetation III: comparison of the woody vegetation of 376 areas. *Edinburgh Journal of Botany* 60: 57-109
- RAVEN, P.H.; EVERT, R.F. & EICHHORN, S.E. 1999. Biology of plants. 6th ed. W.H. Freeman and company. New York.
- REE, R.H. 1997. Pollen flow, fecundity and the adaptive significance of heterostyly in *Palicourea padifolia* (Rubiaceae). *Biotropica* 29:298-308.
- RIBEIRO, J.F. & WALTER, B.M.T. 1998. Fitofisionomias do bioma Cerrado. In: SANO, S.M. & ALMEIDA, S.P. (orgs). Cerrado: ambiente e flora. EMBRAPA. Planaltina, DF.
- ROBBRECHT, E. 1988. Tropical woody Rubiaceae. *Opera Botanica Belgica* 1:1-271.
- RODRIGUES, V.E.G. & CARVALHO, D.A. 2001. Levantamento etnobotânico de plantas medicinais no domínio Cerrado na região do Alto Rio Grande, Minas Gerais. *Ciências Agrotécnicas* 25:102-123. Lavras, MG
- ROSA, R.; LIMA, S.C. & ASSUNÇÃO, W.L. 1991. Abordagem preliminar das condições climáticas de Uberlândia. *Sociedade & Natureza* (5/6):91-108.

- SANTANA, D.G. & RANAL, M.A. 2004. Análise da Germinação - um enfoque estatístico. Editora Universidade de Brasília. Brasília, DF.
- SANTOS, J.C. & DEL-CLARO, K. 2001. Interação entre formigas, herbívoros e nectários extraflorais em *Tocoyena formosa* (Cham. & Schlechtd.) K. Schum. (Rubiaceae) na vegetação do cerrado. *Revista Brasileira de Zoociências* 3:77-92.
- SILVA, A.P. 1995. Biologia Reprodutiva e Polinização de *Palicourea rigida* H.B.K. (Rubiaceae). Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília. Brasília, DF.
- SILVA-JÚNIOR, M. C. 2005. 100 Árvores do Cerrado – guia de campo. Rede de Sementes do Brasil. Brasília, DF.
- SOBREVILA, C. & ARROYO M.T. 1982. Breeding systems in a montane tropical cloud forest in Venezuela. *Plant Systematic and Evolution* 140:19-37.
- 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.
- STILES, F.G. 1978. Temporal organization of flowering among the hummingbird food plants of a tropical wet forest. *Biotropica* 10:194-210.
- STILES, F.G. 1981. Geographical aspects of bird-flower coevolution, with particular reference to Central America. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 68:323-351.
- STONE, J.L. 1995. Pollen donation patterns in a tropical distylous shrubs (*Psychotria suerrens*; Rubiaceae). *American Journal of Botany* 82:1390-1398.
- TAYLOR, C.M. 1993. Revision of *Palicourea* (Rubiaceae: Psychotrieae) in the West Indies. *Moscosoia* 7: 201-241.
- TANNER, E. 1982. Breeding systems in a tropical forest in Jamaica. *Biological Journal of the Linnean Society* 18:263-278.

- TEIXEIRA, L.A.G. & MACHADO, I.C. 2004a. Biologia da polinização e sistema reprodutivo de *Psychotria barbiflora* DC. (Rubiaceae). *Acta Botanica Brasilica* 18:853-862.
- TEIXEIRA, L.A.G. & MACHADO, I.C. 2004b. *Sabicea cinerea* Aubl. (Rubiaceae): distilia e polinização em um fragmento de floresta Atlântica em Pernambuco, Nordeste do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 27:193-204.
- VAN ROSSUM, F.; DE SOUSA, S.C. & TRIEST, L. 2006. Morph-specific differences in reproductive success in the distylous *Primula veris* in a context of habitat fragmentation. *Acta Oecologica* 30:426-433.
- VUILLEUMIER, B.S. 1967. The origin and evolutionary development of heterostyly in the angiosperms. *Evolution* 21:210-226.
- WILKINSON, L. 1987. SYSTAT: The system for statistics. Evanston, Ill: SYSTAT.
- WÜTHERICH, D.; AZÓCAR, A.; GARCÍA-NUÑEZ, C. & SILVA, J.F. 2001. Seed dispersal in *Palicourea rigida*, a common treelet species from Neotropical savannas. *Journal of Tropical Ecology* 17:449-458.