



Universidade Federal de Uberlândia

Instituto de Biologia



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

BIOLOGIA REPRODUTIVA DE DUAS ESPÉCIES
DE RUBIACEAE DE MATA DE GALERIA DO
TRIÂNGULO MINEIRO - MG

HÉLDER NAGAI CONSOLARO

2004

FICHA CATALOGRÁFICA

C755b Consolaro, Hélder Nagai, 1980-
Biologia reprodutiva de duas espécies de Rubiaceae de mata de galeria do Triângulo Mineiro-MG / Hélder Nagai Consolaro. - Uberlândia, 2004.
58f. : il.
Orientador: Paulo Eugênio Alves Macedo de Oliveira.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Uberlândia, Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais. Inclui bibliografia.
1. Plantas - Reprodução - Teses. 2. Rubiaceae - Teses. 3. Manettia - Teses. 4. Polinização - Teses. 5. Psychotria - Teses. 6. Heterostilia - Teses. I. Oliveira, Paulo Eugênio Alves Macedo de. II. Universidade Federal de Uberlândia. Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais. III. Título.

CDU: 581.16 (043.3)

HÉLDER NAGAI CONSOLARO

**BIOLOGIA REPRODUTIVA DE DUAS ESPÉCIES DE RUBIACEAE DE MATA DE
GALERIA DO TRIÂNGULO MINEIRO – MG**

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 – MG
2004

HÉLDER NAGAI CONSOLARO

**BIOLOGIA REPRODUTIVA DE DUAS ESPÉCIES DE RUBIACEAE
DE MATAS DE GALERIA DO TRIÂNGULO MINEIRO – MG**

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 16 de fevereiro de 2004

BANCA EXAMINADORA:

Prof. Dra. Isabel Cristina Machado

Universidade Federal de Pernambuco – UFPE

Prof. Dra. Solange Cristina Augusto

Universidade Federal de Uberlândia – UFU

Prof. Dr. Paulo Eugênio Alves Macedo de Oliveira

Universidade Federal de Uberlândia – UFU
(Orientador)

Uberlândia – MG
2004

O JARDINEIRO FEZ UMA DESCOBERTA

O jardineiro fez uma descoberta,
chamou sua família e toda a vizinhança.

Mostrou, apontou, gritou:

- Uma margarida!
- Mas...o que vale uma margarida!
- Nasceu uma margarida...
- Foi uma experiência.
- Mas você é jardineiro ou cientista?
- Nasceu sem semear?

Sem semear?

Ninguém entendeu a sua experiência:
que qualquer canteiro traz
uma semente de margarida, basta um jardineiro.

Hélio Consolaro

Dedico este trabalho aos meus avós (paternos e maternos) que deixaram como aprendizado aos meus pais a lição de que apoiar a educação de um filho é a maior herança que uma família pode deixar. Família, amo vocês!

Agradecimentos

“Nenhum homem é uma ilha” (John Donne). Por isso esta dissertação não poderia ter sido realizada sem o auxílio de outras pessoas que, de alguma forma me apoiaram intelectualmente e sentimentalmente. São poucas palavras, mas elas tentam transmitir a minha mais pura gratidão.

Ao Prof. Dr. Paulo Eugênio A. M. de Oliveira por ter depositado confiança em meu trabalho, além de ter transmitido seu respeito, atenção e dedicação, mostrando que é possível ser um profissional de sucesso com humildade. Agradeço ainda, sua disponibilidade em abrir-me portas para o futuro Doutorado. Obrigado, Paulo.

Ao Prof. Dr. Peter E. Gibbs pelas valiosas críticas e sugestões ao longo da elaboração do manuscrito.

A Prof. Dra. Celine de Melo pelas sugestões no segundo capítulo.

As funcionárias Maria Angélica, D. Dulce e Flavinha que sempre me ajudaram nos momentos burocráticos, e Marcinha e Péricles pela ajuda nos procedimentos laboratoriais.

Ao Sr. José Xavier (Seu Zé do Panga) por ter me acolhido em sua residência, transmitindo companheirismo e amizade.

As biólogas Elaine Bento e Simone Carolina Souza e Silva por terem concordado que este trabalho poderia ser continuado e finalizado por mim.

Aos amigos cujo apoio foi fundamental em diferentes fases deste trabalho: Alan Costa, Alexandre Franchin, Alzira da Silva Dias, Cláudio Muniz, Cristiano Peres Coelho, Licléia Rodrigues da Cruz, Marcela Yamamoto, Meyr Pereira Cruz, Polyanna Custódio Duarte, Rafael Soares de Arruda, Rubem Samuel de Ávila Júnior e Simone Mendes.

Ao amigo Rodrigo pelas infundáveis caronas a Estação Ecológica do Panga.

Ao amigo Felipe Amorin pelas inúmeras horas de ajuda no trabalho de campo e de laboratório.

As pessoas anônimas que gentilmente me cederam carona no retorno da Estação Ecológica do Panga.

A Prof. Dra. Solange Cristina Augusto e a bióloga Cláudia Inês da Silva pela identificação das abelhas.

A Prof. Dra. Adriana Arantes pela identificação das plantas.

Ao Prof. Dr. Kleber Del-Claro pela identificação das borboletas.

Ao Prof. Dr. Júlio Mendes e Prof. Dra. Cecília Lomônaco de Paula pela identificação das moscas.

A amiga "Formiga" (Anne) e ao amigo "Fiat Lux" (Lourenço) pela ajuda na elaboração do abstract.

Aos amigos Néelson Dip, Luís Henrique Mantovani de Farias e Georgia Carla que, apesar da distância, sempre me incentivaram e apoiaram nas horas difíceis.

Aos meus companheiros de Mestrado e Curso de Campo que de alguma forma me apoiaram nesta jornada.

A Prof. Dra. Maria Rosângela Sigrist pela orientação na monografia (Graduação), na qual foi de fundamental importância no meu aprendizado científico, requisito essencial para o desenvolvimento desta dissertação.

A minha família (Consa, Leninha, Tai, Vó Guta, Vô Luís, Du, Tio Zé e Murilo), que sempre me incentivou e apoiou nas horas de apuro.

Agradeço em especial a família Diniz Bastos (Pessoa, Milaca, Rabiba, D. Virgínia e José Eugênio) pela atenção, carinho e simpatia que me transmitiram na chegada e na vivência em Uberlândia. Considero-os, minha família Uberlandense.

Ao Programa de Pós-graduação em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais pelo apoio na elaboração e desenvolvimento deste trabalho.

As pessoas que me ajudaram de alguma forma, mas aqui não foram citadas.

A CAPES, pelo apoio financeiro.

ÍNDICE

RESUMO GERAL.....	ix
ABSTRACT.....	x
INTRODUÇÃO GERAL.....	01

CAPÍTULO 1 - BIOLOGIA REPRODUTIVA E POLINIZAÇÃO DE *Psychotria carthagenensis* JACQ. (RUBIACEAE), NA ESTAÇÃO ECOLÓGICA DO PANGA, UBERLÂNDIA, MG.

08

1 INTRODUÇÃO.....	09
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	10
2.1 Área de estudo e espécie estudada.....	10
2.2 Fenologia.....	10
2.3 Distília e Sistema reprodutivo.....	11
2.4 Biologia floral e Visitantes.....	12
3 RESULTADOS.....	13
4 DISCUSSÃO.....	21

CAPÍTULO 2 - VARIAÇÃO FLORAL E BIOLOGIA REPRODUTIVA DE *Manettia cordifolia* MART. (RUBIACEAE).

26

1 INTRODUÇÃO.....	27
2 MATERIAIS E MÉTODOS.....	29
2.1 Área de estudo e espécie estudada.....	29
2.2 Biologia floral e Visitantes.....	30
2.3 Morfometria floral e Sistema reprodutivo.....	30
3 RESULTADOS.....	31
4 DISCUSSÃO.....	39

CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	46
CONCLUSÕES.....	49
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	50

RESUMO GERAL

Rubiaceae é a maior família que contém espécies distílicas dentro das Angiospermas. Espécies com este polimorfismo floral podem apresentar variações de diferentes formas e graus, tais como: originar derivações como homostilia, monomorfia e dioícia ou apresentar variações tanto entre populações distílicas da mesma espécie, quanto entre gêneros e espécies tipicamente distílicos. Este estudo teve como objetivo conhecer a biologia floral, incluindo a polinização e o sistema reprodutivo, de duas espécies de Rubiaceae comuns em mata de galeria do Triângulo Mineiro, *Psychotria carthagenensis* Jacq. e *Manettia cordifolia* Mart.. O estudo foi realizado na Estação Ecológica do Panga e margens do Rio Uberabinha (Uberlândia, MG) e complementado com observações de material botânico depositado em herbários da região. *Psychotria carthagenensis* é um arbusto com flores brancas, pequenas, polinizadas por abelhas. A espécie é claramente distílica com dois morfos distintos e hercogamia recíproca. Entretanto, a população estudada apresentou um grande desequilíbrio na isopleτία (149 indivíduos longistilos e apenas um brevistilo) juntamente com a condição de autocompatibilidade. Dados de herbário e observações em outras áreas de matas indicaram que outras populações podem apresentar isopleτία ou dominância do morfo longistilo, de modo que a monostilia é uma característica de populações isoladas e não da espécie como um todo. *Manettia cordifolia* é uma liana com flores com características típicas da síndrome de ornitofilia, ou seja, coloração vermelha, néctar abundante e ausência de odor. Seu polinizador principal foi o beija-flor *Phaetornis pretrei*. A espécie não foi considerada tipicamente distílica, apesar de estar dentro de um gênero tido como distílico. Suas características sugerem uma espécie com monomorfismo longistílico, provavelmente derivado de um ancestral distílico, pois não foram encontrados indivíduos brevistilos. Os testes de polinizações controladas indicam que a espécie é auto-incompatível e não apomítica. De um modo geral, variações nas características heterostílicas podem estar associadas a vários fatores ecológicos, todavia é possibilitada por eventos de cross-over do supergene que controla a distilia ou por multiplicação vegetativa de plantas de um dos morfos florais. Em termos ecológicos, o morfo longistilo pode ter vantagens seletivas sobre o brevistilo, dado o posicionamento exserto do estigma, gerando assimetria no fluxo de pólen. Estas vantagens associadas à autocompatibilidade podem levar a predominância das plantas longistilas em populações e mesmo a formação de espécies monostílicas. Cabe notar que, apesar das espécies estudadas parecerem estágios diferentes do processo descrito, em *Manettia cordifolia* ocorreu a aquisição, provavelmente secundária, de mecanismos de auto-esterilidade. A interpretação dos resultados obtidos é dificultada pela ausência de informações sobre o controle genético da heterostilia nas Rubiaceae. Informações sobre a distribuição geográfica e sobre a filogenia dos grupos poderão ajudar a entender melhor a situação das espécies e o surgimento destas características.

Palavras-chave: Rubiaceae, *Psychotria*, *Manettia*, heterostilia, sistema de incompatibilidade, anisopleτία, monomorfismo, polinização.

ABSTRACT

Rubiaceae is the largest family with distylous species among the Angiosperms. This floral polymorphism may vary in form and degree leading to homostyly, monomorphism and dioecy, either in populations of the same species or between species of typically distylous genera. The objective of this study was to know the floral biology, including pollination and breeding systems of two Rubiaceae species common in gallery forest of Triângulo Mineiro, MG. *Psychotria carthagenensis* Jacq. and *Manettia cordifolia* Mart.. The study was carried out in The Panga Ecological Station and riverside of the Uberabinha (Uberlândia, MG), and complemented with observations of botanic material deposited in herbaria of the region. *P. carthagenensis* is a understory shrub with small, bee pollinated white flowers. The specie is clearly distylous with two markedly different morphs and reciprocal herkogamy. However, the studied population showed a large deviation from isoplethy (149 pin individuals and only one thrum), alongside self-compatibility condition. Data of herbaria and observations in other area of forest indicated that others populations may show isoplethy or dominance of the pin morph, of form that monostyly is a characteristic of isolate populations and not of the specie in general. *M. cordifolia* is a vine with flowers characteristics typical of hummingbird pollination syndrome, such as red tubular corolla, abundant nectar and absence of odor. The main pollinator was the hummingbird *Phaetornis pretrei*. The plant cannot be considered a typically distylous specie, although it is in a genera known as distylous. The observed characteristics indicate a specie with pin-monomorphy, probably derived of a distylous ancestral. Controlled pollinations showed a self-incompatible and non-apomictic species. In general, variations in heterostylous characteristics can be associated with different factors but are result of either a crossing-over inside the supergene that controls the distyly or vegetative growth. In ecological terms, the pin morph may have selective advantages over the thrum morph, given the exsert position of the stigma; creating an asymmetry on the pollen flow towards the pin morph. These advantages associated with selfcompatibility may result in pin-monomorphic populations or even give rise to monostylous species in distylous groups. It is important to notice that although the species studied here may be seen as stages in this process, *Manettia cordifolia* has acquired, possibly anew, a self-sterility mechanism. The absence of information on the distyly genetic control in the Rubiaceae family makes difficult to interpret the variations observed on the present study. Information on the geographic distribution and phylogeny of the groups would be helpful to understand the situation of the species and the origin of these characteristics.

Key-words: Rubiaceae, *Psychotria*, *Manettia*, heterostyly, incompatibility system, anisoplethy, monomorphism, pollintion.

INTRODUÇÃO GERAL

Algumas espécies vegetais dispõem de mecanismos para promover a fertilização cruzada, podendo-se destacar os sistemas genéticos de auto-incompatibilidade. Em alguns casos, tais sistemas operam conjuntamente com dispositivos morfológicos que procuram evitar a autopolinização e conseqüente desperdício de pólen (Heslop-Harrison 1983, Lewis 1943). Dentre esses mecanismos que tentam evitar a autogamia, o sistema de incompatibilidade heteromórfico ou heterostilia é o mais conhecido entre as Angiospermas (Ganders 1979, Barrett & Richards 1990, Barrett 1992). Ele foi primeiramente observado por Clusius (1583) no gênero *Prímula* (van Dijk 1943 *apud* Ganders 1979), mas foram Hildebrand e Darwin, na metade do século XIX, que estudaram a heterostilia com mais afinco (Ganders 1979).

A heterostilia é um tipo de polimorfismo floral geneticamente controlado, sendo normalmente identificado por duas características principais: hercogamia recíproca, que é o posicionamento recíproco de estigmas e anteras entre os morfos florais, e um sistema de incompatibilidade intramórfico, no qual somente grãos de pólen em anteras posicionadas no mesmo nível do estigma são compatíveis (Ganders 1979, Kohn & Barrett 1992, Passos & Sazima 1995). Esse polimorfismo floral pode ser encontrado em duas condições diferentes: distília, na qual são encontrados flores com dois morfos distintos, e mais raramente tristília, com três morfos distintos (Ganders 1979).

Em plantas distílicas, como descrito por Darwin (1877 *apud* Barrett 1992), aproximadamente metade dos indivíduos contém flores com estilete maior que os estames (chamados morfológicamente de longistilas ou “pin”) e a outra metade contém flores com estilete menor que os estames (chamados morfológicamente de brevistilas ou “thrum”). Associado a estas diferenças, espécies heterostílicas apresentam características morfológicas secundárias, tais como: diferença nos comprimentos das corolas, dimorfismo no tamanho do pólen, escultura da exina, produção de pólen e estrutura das papilas estigmáticas (Ganders 1979, Barrett & Richards 1990).

Além destes, mais 14 polimorfismos já foram identificados em famílias distílicas (Richards 1986). A razão equilibrada entre os morfos na população, também chamada isopleia, é uma característica típica de espécies heterostílicas (Castro & Oliveira 2001).

A tristilia caracteriza-se pela ocorrência de três morfos florais também associada às alturas do estilete e dos estames (Alves-dos-Santos & Wittmann 2000). As flores longistilas apresentam estigma acima das anteras, sendo estas distribuídas em dois níveis de altura: um equivalente ao estigma das flores brevistilas (estigma localizado abaixo dos estames longos e intermediários) e outro equivalente ao estigma das flores medistilas (estigma localizado no nível intermediário aos dos estames) (Barrett 1992). A ocorrência desta forma heterostílica é rara, sendo registrada apenas nas famílias Lythraceae, Oxalidaceae e Pontederiaceae (Gibbs 1990).

A incompatibilidade heteromórfica, na qual diferenças morfológicas florais caracterizam os tipos intercompatíveis, atua por meio de uma rejeição determinada geneticamente na interação pólen-estigma, de forma que polinização intermorfos produza frutos e sementes viáveis, o mesmo não ocorrendo em polinização intramorfos (Lewis 1979, Hamilton 1990).

O heteromorfismo floral e o sistema de auto-incompatibilidade são fortemente relacionados, atuando de maneira paralela. Esta relação se deve a uma ligação entre os *loci* gênicos que os controlam, formando o que é chamado de supergene (Ganders 1979). Em plantas distílicas, o controle é feito por um *locus* (S, com dois alelos) que na condição heterozigota origina flores brevistilas e na homozigota recessiva flores longistilas (Ganders 1979). Com estas características genotípicas, a descendência em uma população natural onde somente cruzamentos inter-morfos teriam sucesso, seria teoricamente de 50% para cada morfo, mantendo assim o equilíbrio, isopleia, dentro da população (Richards 1986, Endels *et al.* 2002).

Não se sabe ao certo quais são as forças responsáveis pela persistência desse polimorfismo floral. A explicação mais aceita foi formulada por Darwin (1887 *apud* Barret 1992), que sugeriu que a posição recíproca de estames e estiletos entre os diferentes morfos da população é um artifício mecânico para promover polinização cruzada legítima entre estigmas e anteras em níveis

equivalentes. Isto ocorreria através da deposição de pólen em posições específicas no corpo dos polinizadores, que são insetos na maioria dos casos (Charlesworth & Charlesworth 1979, Ganders 1979, Gibbs 1990).

Explicar o surgimento da heterostilia e, conseqüentemente entender seu significado não é tão simples como parece. Charlesworth & Charlesworth (1979) sugerem que a heterostilia desenvolveu-se em populações com alto nível de depressão endogâmica e que a evolução do sistema de incompatibilidade antecedeu o estabelecimento do posicionamento recíproco do estigma e das anteras entre os morfos florais. Já Lloyd & Webb (1992a), apresentam e fundamentam quatro postulados básicos em relação à evolução da distília: 1) os ancestrais imediatos de espécies heterostílicas apresentavam “approach herkogamy”, ou seja, hercogamia semelhante à de flores longistilas; 2) a evolução da hercogamia recíproca antecedeu à do sistema de incompatibilidade e das estruturas secundárias; 3) o passo inicial para a hercogamia recíproca foi a evolução do polimorfismo estigma-antera; 4) auto-incompatibilidade heteromórfica dialélica é qualitativamente distinta da auto-incompatibilidade homomórfica multialélica.

Embora os padrões morfológicos e de incompatibilidade sejam bem estabelecidos para plantas heterostílicas, existe uma variedade de modificações evolutivas nesse grupo. Essas modificações podem ocorrer em diferentes graus, tanto entre populações da mesma espécie, separadas por barreiras geográficas ou ecológicas, quanto entre gêneros e espécies distílicas (Li & Johnston 2001). Espécies pertencentes a esses grupos polimórficos que apresentam desvios em suas características não são consideradas tipicamente distílicas, mas sim espécies onde uma nova estratégia reprodutiva evoluiu a partir da distília (Hamilton 1990, Paillet & Thompson 1997). Essas variações podem dar origem a diversas condições, tais como: homostilia, monomorfia e dioicia (Bawa & Beach 1983, Hamilton 1990).

A condição homostílica apresenta anteras e estigma no mesmo nível dentro da flor, sendo geralmente associada à autocompatibilidade (Hamilton 1990). Esta situação é interpretada como resultante de uma recombinação dentro do supergene que controla a distília, que através de um

“cross-over” originou um novo arranjo dos alelos que formam o supergene (Barrett & Richards 1990). Determinadas condições ecológicas, como a falta de polinizadores eficientes, podem influenciar na seleção de populações homostílicas autocompatíveis (Charlesworth & Charlesworth 1979). Essa mudança no sistema reprodutivo pode ter conseqüências evolutivas, levando inclusive a processos rápidos de especiação (Baker 1958).

O monomorfismo é caracterizado quando apenas um dos morfos é encontrado numa população, podendo o monomorfismo ser longistílico e brevistílico (Ganders 1979). Essa variação na razão entre os morfos pode ser explicada devido à presença de algum grau de autocompatibilidade na população, por uma taxa elevada de crescimento clonal ou simplesmente pela perda eventual de um dos morfos florais (Baker 1966, Nicholls 1985, Sobrevila *et al.* 1983). A ocorrência de anisopleitia pode ser atribuída ainda a efeitos proporcionados por perturbações ambientais. A fragmentação ambiental pode afetar diretamente a transferência dos grãos de pólen entre os morfos, reduzir o tamanho populacional de uma espécie, ou ainda eliminar total ou parcialmente um dos morfos (Hamilton 1990, Endels *et al.* 2002).

A dioicia pode surgir a partir de um fluxo unidirecional de pólen de estames longos para estiletos longos, devido às características morfológicas ou comportamentais do tipo de polinizador. Desta forma, a utilidade e a funcionalidade dos estames e estiletos curtos seria eliminada, originando plantas funcionalmente masculinas a partir de brevistilas e funcionalmente femininas a partir de longistilas (Bawa & Beach 1983).

Essas condições citadas anteriormente foram demonstradas para várias espécies de *Psychotria* (Hamilton 1990, Faivre & McDade 2001) e *Palicourea* (Sobrevila *et al.* 1983, Coelho & Barbosa 2003) e ainda para *Bouvardia ternifolia* (Faivre & McDade 2001) e *Guetarda scabra* (Richards & Koptur 1993).

A família Rubiaceae é um grupo de plantas tipicamente lenhoso (Cronquist 1981) que constitui um dos mais importantes componentes do subosque das florestas neotropicais (Gentry & Emmons 1987, Laska 1997). É a quarta família em riqueza de espécies dentro das Angiospermas,

com cerca de 13.000 espécies distribuídas em aproximadamente 650 gêneros (Robbrecht 1988). Nos trópicos é a maior família representada, com cerca de 216 gêneros e 5000 espécies (Delprete 1996). Mostra-se dividida em mais de quarenta tribos, distribuídas em três subfamílias (Rubioideae, Ixoroideae e Cinchonoideae), nas quais diferem principalmente, devido os caracteres reprodutivos (Castro & Oliveira 2001). É comumente representada por arbustos e árvores, raramente por ervas. Suas folhas dispõem-se de maneira oposta, algumas vezes verticilada, apresentam estípulas interpeciolares, raramente intrapeciolares, corola gamopétala e ovário geralmente ínfero (Delprete 1996).

Nas três subfamílias encontradas em Rubiaceae, são relatadas três estratégias reprodutivas dominantes: heterostilia, mais comum em Rubioideae; deposição secundária de pólen sobre o estigma, comum em Ixoroideae; e ambas as estratégias ocorrendo em Cinchonoideae (Robbrecht 1988). Várias famílias de Angiospermas contêm gêneros heterostílicos (28 famílias), entretanto a grande maioria das espécies distílicas está incluída em Rubiaceae (91 gêneros) (Faivre & McDade 2001).

Diversas estratégias reprodutivas (Bawa & Beach 1983) e síndromes de polinização são encontradas nesta família. Como na maioria das espécies distílicas, as flores tubulares de Rubiaceae favorecem visitantes com aparelho bucal longo, sendo mais comumente polinizada por borboletas e abelhas com probóscide longa (Taylor 1996, Stone 1996, Ortiz *et al.* 2000, Castro & Oliveira 2002), mas também freqüentemente por mariposas (Imbert & Richards 1993, Wolff *et al.* 2003), moscas (Riveros *et al.* 1995, Ortiz *et al.* 2000) e beija-flores (Sobrevila *et al.* 1983, Passos & Sazima 1995, Contreras & Ornelas 1999, Castro & Oliveira 2001, Coelho & Barbosa 2003).

Psychotria L. pertence à subfamília Rubioideae (tribo Psychotrieae), sendo considerado um gênero tipicamente distílico. É o maior gênero dentro de Rubiaceae, possuindo aproximadamente 2000 espécies distribuídas nos trópicos e subtropicais em ambos os hemisférios (Hamilton 1990). Este gênero contém o maior número de espécies distílicas comparando-se com qualquer outro

gênero (Baker 1958). No Brasil, possui ampla distribuição, incluindo as regiões Sul, Sudeste, Nordeste, Centro-Oeste e Norte (Grandisoli 1997, Araújo 2001).

O gênero *Manettia* também é tido como distílico, podendo ser representado por ervas, epífitas e lianas Neotropicais, possuindo ca. de 220 espécies (Ganders 1979, Passos & Sazima 1995, Solomon 2003). Sua classificação é ainda um pouco confusa, sendo enquadrado por alguns autores na subfamília Cinchonoideae (tribo Cinchonoideae) e por outros em Rubioideae (Hedyotideae) (Robbrecht 1988). Esta confusão se deve a Bremekamp (1952: 14 *apud* Robbrecht 1988) ter transferido o gênero da Cinchoneae para Hedyotideae, devido a características em suas sementes terem sido atribuídas à última tribo.

O bioma cerrado abrange 25% do território brasileiro, entretanto ele tem sido rapidamente destruído transformando-se em plantações ou em grandes mosaicos de fragmentos de diversos tamanhos e graus de isolamentos (Ratter *et al.* 1997, Marini 2001). Neste bioma, espécies distílicas de Rubiaceae são ainda pouco estudadas, com trabalhos com espécies isoladas, como *Psychotria barbiflora* (Monteiro *et al.* 1991), *Palicourea rigida* (Silva 1995), *P. macrobotrys* (Coelho & Barbosa 2003) e *Psychotria poeppigiana* (C. P. Coelho, com. pess.).

O objetivo geral do presente estudo é caracterizar a biologia floral, o sistema reprodutivo e a biologia da polinização de duas espécies de Rubiaceae: *Psychotria carthagenensis* Jacq. e *Manettia cordifolia* Mart.. Essas espécies são comuns em matas da região e estudos anteriores indicaram que elas, apesar de incluídas em gêneros tipicamente heterostílicos, apresentavam populações monostílicas na região de Uberlândia. Elas constituem assim espécies interessantes para serem estudadas de modo a melhor compreender e entender as forças que regem tal polimorfismo.

O estudo está composto por dois capítulos e uma conclusão final, sendo cada capítulo relacionado a uma espécie. Eles foram elaborados na forma de artigo e parcialmente estruturados nas normas da Revista Brasileira de Botânica, onde serão submetidos à publicação. As normas da revista para organização de manuscritos não foram totalmente empregadas, de maneira a facilitar a leitura do trabalho. Inicialmente, o estudo das duas espécies foi conduzido por outros pesquisadores

que inclusive farão parte da autoria na publicação final (ver nota em cada capítulo), mas a maioria dos dados foi revisada e complementada com trabalho de campo e laboratório.

Biologia reprodutiva e polinização de *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae), na Estação Ecológica do Panga, Uberlândia, MG.

Biologia reprodutiva e polinização de *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae)¹

¹Um trabalho inicial sobre a biologia reprodutiva da espécie foi realizado por Simone Carolina Sousa e Silva, que participará da publicação em preparação, mas os dados de campo e laboratório foram totalmente revisados e complementados.

Introdução

Várias famílias contêm gêneros heterostílicos, entretanto a grande maioria dos gêneros distílicos está incluída na família Rubiaceae, ca. 91 gêneros (Castro & Oliveira 2001, Hamilton 1990). O gênero *Psychotria* L. é considerado tipicamente distílico, sendo o maior dentro da família e da tribo Psychotrieae, possuindo aproximadamente 2000 espécies distribuídas nos trópicos e subtropicais em ambos os hemisférios (Robbrecht 1988, Hamilton 1990).

A heterostilia é um tipo de polimorfismo floral geneticamente controlado, sendo normalmente identificado por duas características, uma morfológica e outra fisiológica. A morfológica manifesta-se no posicionamento recíproco de estigmas e anteras entre os morfos florais (hercogamia recíproca) e a fisiológica em um sistema de incompatibilidade genético (Ganders 1979). Neste sistema fisiológico, somente grãos de pólen de anteras do mesmo nível que o estigma são compatíveis (Lewis 1979, Passos & Sazima, 1995). Estas duas características básicas da heterostilia aparecem associadas devido à ligação entre os *loci* gênicos que os controlam, constituindo um supergene (Ganders 1979).

Populações de espécies distílicas são compostas de dois tipos de plantas. Uma produz flores com estiletos longos e estames curtos (chamados morfológicamente de longistilas) e a outra produz flores com estiletos curtos e estames longos (chamados morfológicamente de brevistilas) (Ganders 1979). Razão equilibrada entre os morfos florais em uma população, também chamada isopleτία, é uma característica esperada em espécies distílicas (Castro & Oliveira 2001), entretanto alterações neste equilíbrio (anisopleτία) são relatadas para espécies de *Psychotria* e *Palicourea* (Sobrevila *et al.* 1983, Faivre & McDade 2001).

Variações na apresentação das características heterostílicas podem ocorrer por vários motivos, tais como situações desfavoráveis à polinização cruzada por meio de ineficiência ou ausência de polinizadores ou ainda por reprodução clonal, perturbações ambientais e espécies que possuem algum grau de autocompatibilidade provinda do “cross-over” ou mutação do supergene

que controla a distília (Sobrevila *et al.* 1983, Li & Johnston 2001). Modificações nas características distílicas foram demonstradas para várias espécies de *Psychotria* (Hamilton 1990, Faivre & McDade 2001) e *Palicourea* (Sobrevila *et al.* 1983, Coelho & Barbosa 2003) e ainda para *Bouvardia ternifolia* (Faivre & McDade 2001) e *Guetarda scabra* (Richards & Koptur 1993).

No Brasil, o gênero *Psychotria* possui ampla distribuição, incluindo as regiões Sul, Sudeste, Nordeste, Centro-Oeste e Norte, sendo comumente representada por arbustos, pequenas árvores, ervas e raramente por epífitas (Andersson 1992, Araújo 2001). Suas flores são pequenas e geralmente polinizadas por abelhas, moscas, mariposas e aves (Hamilton 1990). A espécie *Psychotria carthagenensis* é comum no Triângulo Mineiro - MG e, apesar de incluída em um gênero tipicamente distílico, estudos preliminares da espécie indicaram populações monostílicas na região. Com isso, este trabalho teve como objetivo estudar o sistema de reprodução e a biologia da polinização da espécie, dando ênfase a relação entre os morfos florais.

Materiais e Métodos

ÁREA DE ESTUDO E ESPÉCIE ESTUDADA - O estudo foi realizado na Estação Ecológica do Panga (EEP), pertencente à Universidade Federal de Uberlândia. O local compreende uma área de 409,5 ha, situada a 30 Km ao sul do município de Uberlândia, MG (19°11'10"S e 48°24'35"W). O clima da região é Aw megatérmico (segundo classificação de Köppen), com duas estações muito bem definidas (Rosa *et al.* 1991). O trabalho de campo foi desenvolvido em dois períodos distintos, sendo um em 1997 e outro entre 2002 e 2003.

FENOLOGIA – O acompanhamento de 101 indivíduos de *Psychotria carthagenensis* foi realizado mensalmente, havendo uma intensificação da periodicidade para semanal no período de floração. Foram observadas cinco fenofases: brotação, botões, floração, frutificação e caducifolia. Para caracterizar tais fenofases foi adotado o critério de presença ou ausência das mesmas, sendo considerado como presença da fenofase no mínimo um sinal do seu início (e. g. um botão floral

para fenofase botões). A presença de caducifolia foi considerada apenas quando da ausência total de folhas.

DISTILIA E SISTEMA REPRODUTIVO - Para a caracterização da heterostilia na população foram realizadas buscas de indivíduos dos dois morfos florais na área de estudo e após, coletadas e analisadas flores de cada morfo. Essas flores foram analisadas a fresco e em laboratório. Para análise em laboratório as flores foram fixadas em álcool 70% para se obter, posteriormente, medidas das estruturas florais com auxílio de paquímetro (precisão de 0,5 mm). Foram analisadas ainda exsicatas da espécie em herbários, com o intuito de verificar a posição das anteras e dos estigmas em flores de outras populações, visando compará-las com a população estudada. Todas os exemplares da espécie presentes nos herbários foram analisadas, sendo 13 no herbário da Universidade Estadual de Campinas – UEC (Campinas, SP), 28 no herbário da Universidade de Brasília - UB (Brasília, DF), 12 no herbário da Universidade Federal de Mato Grosso do Sul – CG/MS UFMS (Campo Grande, MS) e quatro no Herbarium Uberlandensis – HUFU (Uberlândia, MG). Além das buscas em herbários, outras áreas na região de Uberlândia foram examinadas em levantamentos rápidos, com o intuito de encontrar os dois morfos no local (Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia e mata ciliar do Rio Uberabinha). Informações de levantamentos feitos por outros pesquisadores na região de Recife, PE e Campo Grande, MS também foram levados em conta neste estudo.

Foram feitos testes de polinizações controladas durante o período de floração nos anos de 2002 e 2003. Para isso, utilizou-se 17 indivíduos, tomando cuidado para que cada inflorescência tratada contivesse os diferentes tipos de tratamentos em quantidades semelhantes. O número de inflorescência por indivíduo variou de acordo com a disponibilidade de flores a serem tratadas mas foi evitada a concentração de tratamentos em poucos indivíduos. Botões em pré-antese foram isolados e ensacados em sacos de organza e as flores resultantes foram submetidas aos seguintes tratamentos: autopolinizações espontâneas, nas quais as flores foram previamente ensacadas e deixadas intactas para verificação da formação ou não do fruto; autopolinizações manuais, nas quais

as flores foram previamente ensacadas e efetuadas polinizações com pólen da própria flor; polinização cruzada intramorfo, nas quais as flores foram previamente ensacadas e efetuadas polinizações com pólen de flores de outros indivíduos, mas do mesmo morfo floral. Polinizações cruzadas intermorfos foram impossibilitadas pelo pequeno número de indivíduos brevistilos encontrado na área de estudo. Para a avaliação da eficiência de polinização natural, flores foram marcadas e mantidas expostas, sendo verificado o número de frutos formados (controle). O índice de auto-incompatibilidade (ISI) foi calculado segundo Bullock (1985).

Algumas flores submetidas aos testes de autopolinização e polinização cruzada ilegítima foram coletadas 2, 4, 6, 8 e 10 horas após o tratamento, sendo fixadas em FAA 50% e seguidamente armazenadas em álcool 70% para posterior preparação e observação do crescimento de tubos polínicos em microscopia de fluorescência (Martin 1959).

BIOLOGIA FLORAL E VISITANTES – O horário de abertura e longevidade da flor foi determinado a partir de indivíduos marcados ao acaso com botões florais em pré-antese. O início da separação das pétalas foi considerado como horário de abertura e a longevidade floral foi definida pelo período da abertura até a senescência, quando a flor perdeu seu brilho e adquiriu coloração escura.

O início da receptividade estigmática foi considerado como a separação dos lobos estigmáticos. A quantidade de néctar produzida foi verificada após 24h em flores ensacadas em pré-antese utilizando-se micropipetas para extração e medidas do volume. Refratômetro de mão foi utilizado para estimar a concentração em “equivalentes de sacarose” (*sensu* Inouye *et al.* 1980).

O material botânico testemunho encontra-se depositado no Herbarium Uberlandensis – HUFU (Uberlândia, MG) (H. N. Consolaro n° 09, 10; Tombo n° 31149, 31150).

Durante o período de floração, os visitantes foram observados, registrado seu comportamento, sua frequência, o modo de exploração das flores e, posteriormente, coletados. As observações e coletas foram feitas em três dias perfazendo um total de 17 horas. Posteriormente, os insetos visitantes foram montados, etiquetados e identificados.

Resultados

FENOLOGIA – A população estudada apresentou padrão de floração anual, com a emissão dos primeiros botões florais e a antese das primeiras flores iniciando-se simultaneamente. O encerramento dessas fenofases também ocorreu em períodos semelhantes, tendo elas duração total de quatro meses (setembro a dezembro). A fenofase brotamento foi constante, com os indivíduos apresentando aspecto sempre-verde durante todo o ano. A fenofase caducifolia ocorreu no período de julho a setembro (Figura 1).

A frutificação iniciou-se em novembro e permaneceu até julho, com a formação dos primeiros frutos dois meses após o início da floração (Figura 1). Apesar de a metodologia adotada para acompanhar a fenologia de *P. carthagenensis* não ter sido a de notas de intensidade, observações complementares indicaram que a frutificação da espécie no local de estudo durante o ano de 2002 foi muito baixa em relação a outras áreas onde se encontra a mesma espécie (Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia e mata ciliar do Rio Uberabinha). Na EEP, poucos frutos alcançaram a fase de maturação, não tendo havido nenhuma observação de agentes dispersores utilizando-se da espécie como fonte alimentar.

DISTILIA E SISTEMA REPRODUTIVO – Dados de campo, herbários e pesquisas bibliográficas indicam que *P. carthagenensis* é uma espécie distílica, sendo possível dividir as plantas dentro de dois morfos distintos (Figura 2). Suas flores estão reunidas em inflorescências terminais cimosas, apresentando corola tubular (longistilas $0,34 \pm 0,03$ mm, $n=40$; brevistilas $0,34 \pm 0,04$ mm, $n=3$), coloração branca e denso anel de pêlos na parte interna do tubo. O ovário é ínfero, bilocular possuindo na sua parte superior um disco nectarífero em forma de anel. Os morfos apresentam hercogamia recíproca (relação da altura média, estigma longistila X antera brevistila e estigma brev. X antera long., respectivamente: $0,57 \pm 0,04$ mm X $0,56 \pm 0,04$ mm; $0,35 \pm 0,05$ mm X $0,34 \pm 0,03$ mm) com separação estigma-antera claramente definida (Figura 3). No entanto, na área de estudo, de todos os indivíduos encontrados de *P. carthagenensis* ($n=150$) apenas um era brevistilo, sendo que,

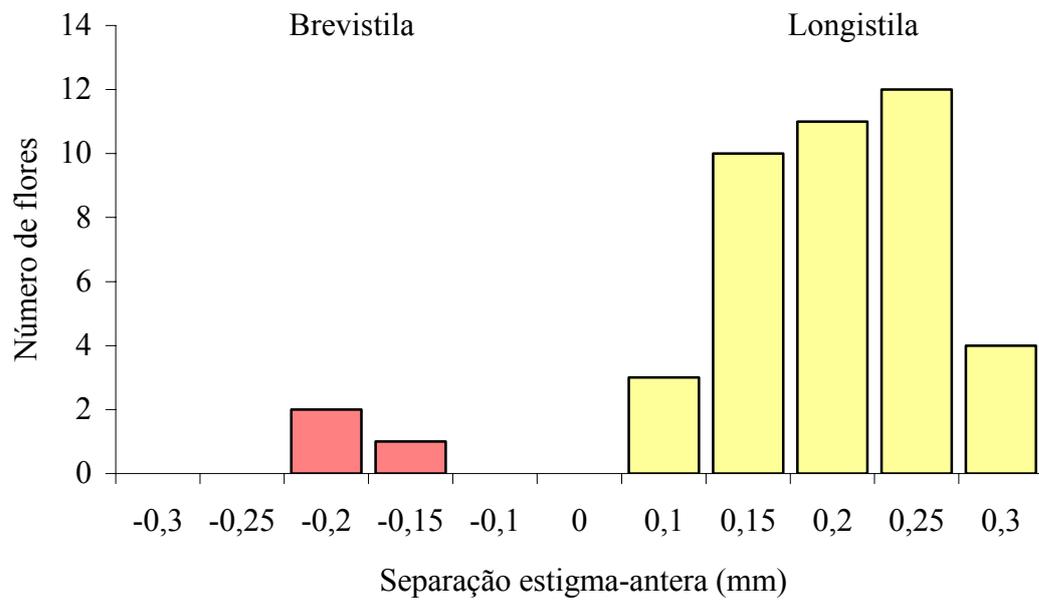


Figura 3. Distribuição bimodal da separação estigma-antera para flores de *Psychotria carthagenensis* indicando a presença de dois morfos na população da Estação Ecológica do Panga, Uberlândia, MG.

além disso, esse indivíduo era de pequeno porte (25cm) e apresentou baixa produção de flores em 2002 e nenhuma flor em 2003.

Dentre as exsicatas avaliadas nos herbários visitados, foram observados exemplares com flores brevistilas e longistilas. Esses exemplares eram provindos de populações dos estados da Bahia com uma exsicata com flores brevistilas (brev.), Mato Grosso com uma longistila (long.), Mato Grosso do Sul seis long. e sete brev., Santa Catarina duas brev., Paraná duas long. e duas brev., Goiás três long. e duas brev., Rio de Janeiro seis long. e quatro brev., Minas Gerais sete long. e três brev. e São Paulo seis long. e seis brev.. Dos exemplares de Minas Gerais, dois brevistilos eram de áreas localizadas no próprio município de Uberlândia, MG (Fazenda Experimental do Glória e Parque Municipal do Sabiá). Entretanto, no presente estudo, os levantamentos realizados nessas e em outras áreas do município, foram encontrados apenas indivíduos longistilos. Também na população estudada por L. A. G. Teixeira (com. pess.) no estado de Pernambuco, apenas o morfo longistilo foi encontrado, no entanto, em levantamentos florísticos realizados na região de Campo Grande, MS os dois morfos foram encontrados (L. C. Rodrigues, com. pess.).

Os testes de polinizações controladas sugerem que a população estudada é autocompatível, formando frutos por autopolinizações e polinizações cruzadas intramorfos (Tabela 1). Obteve-se índice de auto-incompatibilidade (ISI) de 1,00 para 2002 e 0,87 para 2003, indicando ser esta uma população auto-fértil. Contudo, após a constatação da formação dos frutos a partir dos tratamentos realizados no ano de 2002, foi observado que eles não chegaram a alcançar o estágio maduro. Em 2003, não foi possível averiguar esta condição, pois os frutos formados ainda estão em fase de desenvolvimento. As análises dos tubos polínicos confirmaram a condição de compatibilidade auto e intramorfo, pois nos dois tipos de tratamentos (autopolinizações e polinização intramorfo) os tubos cresceram sem qualquer tipo de interrupção. Após 6 horas, já foram observados tubos polínicos crescendo até a base do estilete em todos os tratamentos, entretanto somente a partir de 10 horas os tubos alcançaram o ovário e os óvulos.

Tabela 1. Testes de polinizações controladas referentes a *Psychotria carthagenensis* (Rubiaceae) na Estação Ecológica do Panga, Uberlândia, MG.

Tratamento	Número de flores polinizadas (n)		Número de frutos formados (n)		Sucesso reprodutivo (%)	
	2002	2003	2002	2003	2002	2003
Autopolinização	46	113	11	16	24	14
Autopolinização espontânea	44	x	6	x	14	x
Polinização cruzada intramorfo	42	78	11	14	24	18
Polinização natural	38	x	9	x	24	x
ISI			1	0,87		

BIOLOGIA FLORAL E VISITANTES – As flores têm antese diurna, abrindo nas primeiras horas da manhã, entre 05:00 e 06:00h. O estigma já se encontra receptivo logo após a abertura permanecendo desta forma até o final da tarde. As anteras liberam pólen logo após a abertura. A longevidade funcional das flores foi de apenas 12h, com a corola perdendo seu brilho e o pistilo murchando sobre as pétalas. Muitas vezes a corola de coloração esbranquiçada caía antes mesmo da perda do brilho e da rigidez do pistilo.

O recurso principal oferecido pelas flores de *P. carthagenensis* é o néctar, produzido no disco nectarífero localizado na base da corola. Caso o néctar não seja retirado, ele acumula-se no tubo da corola podendo atingir o anel de pêlos que se encontra na porção mediana da mesma. Sua concentração média de açúcares (equivalentes de sacarose) foi de $18,44 \pm 3,77\%$ (n=9) e volume médio de $3,5 \mu\text{l} \pm 1,00$ (n=9).

As flores de *P. carthagenensis* foram visitadas por vários insetos, entretanto a grande maioria era abelhas (Tabela 2, Figura 4). Baseado no comportamento de visita, tamanho do corpo em relação à flor e número de visitas, abelhas do gênero *Bombus* parecem ser os polinizadores mais efetivos. Elas visitavam várias flores do mesmo indivíduo em uma única sessão de visitas. Para coleta do néctar, elas inseriam a probóscide dentro da corola, ocorrendo o contato da parte frontal da cabeça com o estigma. Abelhas da família Halictidae visitaram freqüentemente flores de *P. carthagenensis*, mas nem sempre contactavam o estigma em suas visitas devido ao seu pequeno tamanho corpóreo. Os outros insetos observados (borboletas, vespas, moscas e algumas abelhas) também visitaram com freqüência as flores da espécie, todavia nem sempre contactavam o estigma, sendo considerados como polinizadores eventuais (Tabela 2). Não foi observado qualquer tipo de pilhador nas flores, mas várias espécies de formigas percorrem toda inflorescência.

Tabela 2. Visitantes florais de *Psychotria carthagenensis* e suas respectivas categorias funcionais na Estação Ecológica do Panga, Uberlândia, MG. PEv.=Polinizador Eventual; Pef.=Polinizador Efetivo.

Família	Gênero/Espécie	Categoria
Acroceridae	2 spp.	PEv.
Família 1	3 spp.	PEv.
Sarcophagidae	1 sp.	PEv.
Syrphidae	6 spp.	PEv.
Tachinidae	1 sp.	PEv.
Apidae	<i>Bombus (Fevidobombus) atratus</i>	Pef
	<i>Bombus (Fevidobombus) morio</i>	Pef
	<i>Ceratina</i> sp. 1	PEv.
	<i>Ceratina</i> sp. 2	PEv.
	<i>Epicharis (Epicharitides) cockerelli</i>	PEv.
	<i>Paratetrapedia</i> sp. 1	PEv.
	<i>Paratetrapedia</i> sp. 2	PEv.
	<i>Paratetrapedia</i> sp. 3	PEv.
	<i>Paratetrapedia</i> sp. 4	PEv.
	<i>Paratetrapedia</i> sp. 5	PEv.
<i>Paratetrapedia</i> sp. 6	PEv.	
<i>Paratetrapedia</i> sp. 7	PEv.	
Halictidae	<i>Augochlora</i> sp.	PEv.
	<i>Augochloropsis</i> sp.	PEv.
	sp. não determinada	PEv.
	<i>Paroxystoglossa</i> sp.	PEv.
	<i>Pseudoaugochlora</i> sp. 2	PEv.
Pompilidae	1 sp.	PEv.
Sphecidae	2 spp.	PEv.
Vespidae	1 sp.	PEv.
Lycaenidae	1 sp.	PEv.
Nymphalidae	<i>Heliconius</i> sp.	PEv.
	<i>Mechanitis</i> sp.	PEv.
	<i>Mechanitis</i> sp.	PEv.
Pequenos lepidópteros	5 spp.	PEv.

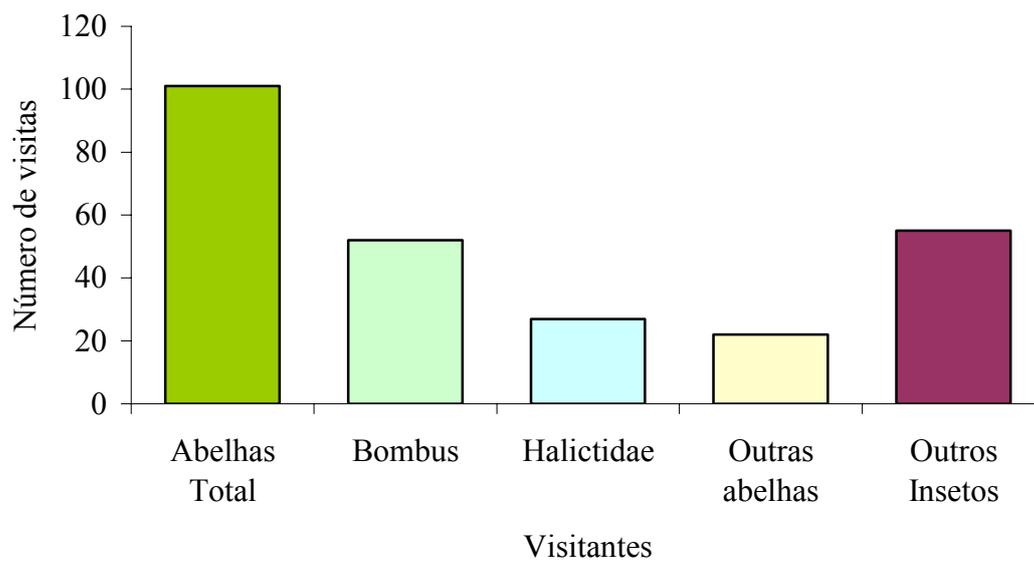


Figura 4. Distribuição dos visitantes florais de *Psychotria carthagenensis* durante as horas de observação na Estação Ecológica do Panga, Uberlândia, MG.

Discussão

FENOLOGIA – A fase de floração durou quatro meses, iniciando-se simultaneamente ao período mais chuvoso e quente da região. A elevação destes parâmetros abióticos influencia positivamente o aumento do número de espécies em floração no bioma Cerrado (Freitas & Oliveira 2002). Na floresta atlântica, *Psychotria birotula*, *P. mapourioides* (Castro & Oliveira 2002), *P. nuda* e *P. brasiliensis* (Almeida & Alves 2000) também apresentaram floração na mesma estação climática que *P. carthagenensis*.

A população estudada apresentou padrão de floração semelhante ao “modified steady state” descrito por Gentry (1974) e ao “extended blooming” descrito por Bawa (1983). Plantas com essa estratégia produzem flores durante várias semanas, podendo oferecer à espécie vantagens semelhantes às oferecidas pela floração “steady state”: 1) otimização na produção de flores e conseqüente formação de frutos; 2) em espécies que necessitam de polinização cruzada (e. g. espécies heterostílicas), aumento nas chances de fertilização, já que aumenta as possibilidades de receber pólen compatível; 3) redução no nível de geitonogamia, forçando os polinizadores a procurar recurso em vários indivíduos; 4) diminuição no risco de fracasso reprodutivo em consequência de fatores climáticos desfavoráveis e falta de polinizadores, situação que uma espécie com padrão “mass blooming” (muitas flores por dia durante um curto período) estaria suscetível (Bawa 1983). A diferença entre os dois padrões é basicamente o número de flores, maior no “modified steady state” e a riqueza da recompensa, maior no padrão “steady state”. Em relação às duas fases de floração que o período de estudo abrangeu, a população pode ser considerada anual (*sensu* Bawa 1983), pois apresentou um único episódio de floração no mesmo período em 2002 e 2003.

Na área estudada, ocorre uma outra espécie de *Psychotria* (*P. deflexa*; H. N. Consolaro, dados não publicados) que apresentou período de floração simultâneo e características morfológicas semelhantes à de *P. carthagenensis*. A sobreposição do período de floração destas espécies poderia

resultar em competição por polinizadores, e atuar como força seletiva, causando segregação temporal no período de floração (Gentry 1974, Araújo *et al.* 1987, Oliveira & Gibbs 2000). Entretanto, as duas espécies parecem apresentar distribuição espacial diferente, sendo *P. carthagenensis* mais comum em ambientes de mata de galeria, enquanto *P. deflexa* é mais abundante nas áreas mais secas de mata mesófila.

A população estudada troca suas folhas gradualmente, não havendo desfolhamento total mantendo, assim folhas ativas durante todo o ano podendo, desta forma ser considerada como perenifolia ou sempre-verde (*sensu* Sarmiento & Monastério 1983). Estas observações coincidem com dados disponíveis para mata de galeria onde predominam espécies com esta característica (Gouveia & Felfili 1998). Apesar da fenofase caducifolia ter sido registrada, apenas quatro indivíduos dentre os 101 observados perderam suas folhas, de maneira que a espécie não pode ser considerada caducifolia.

DISTILIA E SISTEMA REPRODUTIVO – *P. carthagenensis* é uma espécie verdadeiramente distílica, com morfos florais bem diferenciados e com populações dimórficas em outras áreas, como indicado pelos dados de herbários e levantamentos realizados por outros pesquisadores (L. C. Rodrigues, com. pess.). No entanto, a predominância do morfo longistilo foi observada em outras populações além da estudada, sendo esta condição possivelmente comum na espécie. Espécies verdadeiramente distílicas que apresentam variações na isopleia entre populações são relatadas em diversos trabalhos. Sobrevila *et al.* (1983) registrou que três das sete populações estudadas de *Palicourea petiolaris* apresentavam o morfo longistilo altamente predominante (San Luís 100% longistilas, Sertanejas 65% e Ivic 64%). Estes desvios na isopleia são relacionados com espécies que possuem algum grau de autocompatibilidade, reprodução clonal e tamanho populacional reduzido (Ganders 1975, Sobrevila *et al.* 1983, Hamilton 1990, Barrett 1992). Espécies que possuem forte incompatibilidade comumente apresentam equilíbrio na razão dos morfos (Sobrevila *et al.* 1983). Estudo paralelo com *P. carthagenensis* na EEP, enfocando sua estrutura populacional, indicam que a espécie possui um tamanho populacional reduzido e baixa regeneração (A. S. Dias,

dados não publicados). O pequeno tamanho da população e a presença da autocompatibilidade estão possivelmente associados ao desvio na isopleτία que a população apresenta.

Embora o presente trabalho abranja apenas uma população da espécie, suspeita-se que esta condição de monomorfismo longistílico esteja atingindo a espécie de um modo geral, pois outras populações estudadas também apresentam o mesmo desvio (e. g. população estudada na região de Pernambuco por L. A. G. Teixeira, com. pess.). *P. carthagenensis* pode estar passando por um processo de transição, na qual o morfo brevistilo esteja perdendo sua função, já que uma espécie monomórfica autocompatível pode se manter reprodutivamente sem o morfo oposto. Dados de herbários indicam que existe a ocorrência do morfo brevistilo em outras áreas, mas não permitem aferir o grau de isopleτία destas populações. Trabalho de Hamilton (1990) classifica *P. carthagenensis* como tipicamente distílica, todavia sua conclusão também é baseada em levantamentos de herbários.

Populações que apresentam monomorfismo longistílico são mais comumente encontradas, devido a esse morfo possuir, provavelmente, vantagem seletiva sobre o brevistila (Webb & Lloyd 1986). O posicionamento exserto do estigma facilitaria o contato com o grão de pólen presente no polinizador (Nicholls 1985, Dulberger 1992). Um suporte a esta idéia seria a prevalência nas Angiospermas de “approach herkogamy” em relação a hercogamia reversa (Barrett 1992).

A EEP pode ser interpretado como um fragmento de tamanho considerável (409,5 ha), entretanto, mesmo assim, o desvio observado na população pode ser uma consequência dos efeitos do processo de fragmentação na área. A perturbação ambiental pode afetar a isopleτία em decorrência de três fatores principais: 1) desequilíbrio da interação mutualística planta-polinizador e, assim redução na transferência dos grãos de pólen entre os morfos (Endels *et al.* 2002); 2) eliminação total ou parcial de um dos morfos no período de implantação do fragmento e 3) redução do tamanho populacional da espécie, proporcionando um favorecimento para a permanência de um dos morfos (Hamilton 1990).

A ocorrência de auto ou intramorfo compatibilidade é registrada para diversas espécies heterostílicas. No gênero *Psychotria* e *Palicourea* (gêneros evolutivamente próximos) (Sobrevila *et al.* 1983), vários trabalhos demonstram tal situação, tais como: *Psychotria acuminata*, *P. orchidearum* (Bawa & Beach 1983), *P. warneckii* (Baker 1958) e *Palicourea petiolaris* (Sobrevila *et al.* 1983). Entretanto, para *Palicourea petiolaris* a presença de autocompatibilidade variou entre populações, nas que o morfo longistilo predominava o índice de autocompatibilidade se apresentava elevado, o mesmo não ocorrendo nas populações que apresentavam isopletia (forte nível de incompatibilidade resulta numa precisa isopletia) (Sobrevila *et al.* 1983). Alguns autores têm demonstrado diferenças no grau da auto-incompatibilidade entre os dois morfos, sendo o longistilo um pouco mais autocompatível (Baker 1958, Sobrevila *et al.* 1983).

A autocompatibilidade pode manifestar-se isoladamente em algumas populações. Ela seria alcançada por meio do “cross-over” no supergene que controla a distilia, de forma que a recombinação mantenha as características de um morfo específico e adquira as do pólen compatível (Sobrevila *et al.* 1983). A permanência desta condição na população ocorreria por uma substituição gradual do morfo antigo pela nova forma adquirida. O aparecimento desta autocompatibilidade pode ser uma resposta a pressão seletiva que um possível isolamento geográfico esteja proporcionando, não podendo ser dispersada para outras populações justamente por este próprio isolamento (Sobrevila *et al.* 1983).

Como esperado de uma população auto e intramorfo compatível os tubos polínicos não foram interrompidos. Em *Psychotria acuminata* e em *Cryptantha flava* (uma espécie de Boraginaceae distílica), os tubos polínicos tiveram a mesma liberdade em seu crescimento nos diferentes tratamentos (Bawa & Beach 1983, Casper 1985).

BIOLOGIA FLORAL E VISITANTES – As características florais de *P. carthagenensis* são claramente relacionadas aos seus visitantes florais. Antese diurna, coloração branca, longevidade funcional curta, néctar em pouca quantidade e flores pequenas são características conhecidas de espécies visitadas por abelhas e borboletas (Castro & Oliveira 2002). Como a espécie estudada, a

maioria das Rubiaceae são mais comumente polinizadas por abelhas e borboletas com probóscide longa (Taylor 1996, Stone 1996, Ortiz *et al.* 2000, Castro & Oliveira 2002) ou ainda freqüentemente por moscas (Riveros *et al.* 1995, Ortiz *et al.* 2000).

O gênero *Bombus* (*B. morio*) também foi interpretado como polinizador mais efetivo de *Psychotria suterella* (Grandisoli 1997). Entretanto, para *P. suterella*, uma espécie auto-incompatível, ele foi considerado um importante mediador do sucesso reprodutivo da espécie, transferindo efetivamente grãos de pólen entre os morfos. Na população de *P. carthagenensis* a abelha também desempenhou importante função por visitar várias flores do mesmo indivíduo, maximizando, assim a autopolinização (espécie autocompatível). Outras espécies de *Psychotria* (*P. acuminata*, *P. chiapensis*, *P. officinalis*, *P. suarrensensis*, *P. jaminoides*, *P. mapourioides*, *P. birotula* e *P. pubigera*), as quais possuem as mesmas características morfológicas que *P. carthagenensis* também foram visitadas por abelhas e borboletas (Bawa & Beach 1983, Castro & Oliveira 2002). A freqüente ausência de contato com as partes reprodutivas da flor ocorre em espécies tipicamente melitófilas quando são visitadas por borboletas (Faegri, K. & Pijl, L. Van der. 1979), indicando que as abelhas devem ser mais eficientes na polinização de *P. carthagenensis*.

Flores altamente especializadas são raras em Rubiaceae, sendo as abelhas os visitantes florais mais comuns juntamente com outros polinizadores. A relação planta-polinizador observada neste estudo segue o padrão da família, ou seja, mais de uma espécie de visitante pode polinizar as flores de *P. carthagenensis*. A autocompatibilidade e uma relação mais generalista com os visitantes florais deveriam ser vantajosas para o seu sucesso reprodutivo, mas tal flexibilidade não está refletida na taxa de frutificação da população estudada.

Varição floral e biologia reprodutiva de *Manettia cordifolia* Mart. (Rubiaceae)

Varição floral de *Manettia cordifolia* Mart. (Rubiaceae)¹

¹ Um trabalho inicial sobre a biologia reprodutiva da espécie foi realizado por Elaine Bento, que participará da publicação em preparação, mas os dados de campo e laboratório foram totalmente revisados e complementados.

Introdução

Heterostilia é um tipo de polimorfismo floral geneticamente controlado e encontrado em aproximadamente 28 famílias de Angiospermas, sendo visto como um mecanismo que promove polinização cruzada (Ganders 1979, Passos & Sazima 1995, Barrett *et al.* 2000, Li & Johnston 2001). Espécies heterostílicas apresentam flores com hercogamia recíproca e geralmente possuem um sistema de incompatibilidade auto e intramorfo (Ganders 1979, Kohn & Barrett 1992, Thompson & Dommée 2000). A apresentação dos morfos florais ocorre em indivíduos separados, sendo diferenciados pela altura do estigma e posicionamento recíproco das anteras, podendo ocorrer em condições distílicas e tristílicas (Ganders 1979). Plantas distílicas são distinguidas por apresentarem indivíduos que possuem flores com estiletos longos e estames curtos (flores longistilas) e indivíduos com flores com estiletos curtos e estames longos (flores brevistilas) (Ganders 1979). O sistema de incompatibilidade genético atua de modo que apenas cruzamentos intermorfos tenham sucesso reprodutivo (Bawa & Beach 1983). Os mecanismos que regem o heteromorfismo floral e o sistema de incompatibilidade são fortemente relacionados, devido à existência da ligação entre os *loci* gênicos que os controlam, formando o que é chamado de supergene (Ganders 1979).

Variações na apresentação da heterostilia podem ocorrer tanto entre gêneros quanto em espécies tipicamente distílicas, além de poder estar presente entre populações distílicas separadas por barreiras geográficas (Li & Johnston 2001). Estas variações podem ocorrer por vários motivos, tais como situações desfavoráveis à polinização cruzada por meio de ineficiência ou ausência de polinizadores, ou ainda por reprodução clonal, perturbações ambientais e espécies com algum grau de autocompatibilidade (Sobrevila *et al.* 1983) provinda do “cross-over” ou mutação do supergene que controla a distília (Li & Johnston 2001).

A família Rubiaceae contém o maior número de espécies distílicas entre todas as famílias onde este dimorfismo é conhecido, e talvez mais espécies distílicas do que todas as outras famílias

reunidas (Ganders 1979). Nesta família, a presença de distília é citada em vários trabalhos (Ganders 1975, Bawa & Beach 1983, Sobrevila *et al.* 1983, Richards & Koptur 1993, Passo & Sazima 1995, Castro & Oliveira 2002, Naiki & Nagamasu 2003), sendo encontrada em 416 espécies distribuídas em 91 gêneros (Ganders 1979, Barrett & Richards 1990, Passos & Sazima 1995). A ocorrência de variações na apresentação da distília é comum na família, sendo demonstrada para várias espécies de *Psychotria* (Hamilton 1990, Faivre & McDade 2001) e *Palicourea* (Sobrevila *et al.* 1983, Coelho & Barbosa 2003) e ainda para *Bouvardia ternifolia* (Faivre & McDade 2001) e *Guertarda scabra* (Richards & Koptur 1993).

Características florais que permitem ampla visitação de polinizadores são encontradas em Rubiaceae (Barrett & Richards 1990, Passos & Sazima 1995). Suas flores tubulares, como na maioria das espécies distílicas, favorecem visitantes com aparelho bucal longo, sendo mais comumente polinizada por borboletas e abelhas com probóscide longa (Taylor 1996, Stone 1996, Ortiz *et al.* 2000, Castro & Oliveira 2002) ou freqüentemente por mariposas (Imbert & Richards 1993, Wolff *et al.* 2003), moscas (Riveros *et al.* 1995, Ortiz *et al.* 2000) e beija-flores (Sobrevila *et al.* 1983, Passos & Sazima 1995, Contreras & Ornelas 1999, Castro & Oliveira 2001, Coelho & Barbosa 2003). Trabalhos mostrando visitas de beija-flores em espécies de Rubiaceae são comuns, como registrado para *Psychotria*, *Manettia*, *Palicourea*, *Cephaelis*, *Hamelia* e *Ferdinandusa* (Bawa & Beach 1983, Snow & Snow 1986, Feinsinger & Busby 1987, Passos & Sazima 1995, Castro & Oliveira 2001).

Manettia é um gênero de ervas, epífitas e lianas, possuindo ca. de 220 espécies com distribuição por toda América tropical, sendo amplamente encontrado no Brasil (Robbrecht 1988, Solomon 2003). É tido como um gênero tipicamente heterostílico (Ganders 1979, Passos & Sazima 1995) possuindo flores geralmente vistosas e polinizadas por beija-flores (Robbrecht 1988).

Manettia cordifolia é comum nas matas da região de Uberlândia – MG, e estudos preliminares indicaram que a espécie apresentava variação em suas características heterostílicas.

Baseado nessa condição, este trabalho teve como objetivo estudar aspectos da biologia floral, avaliando seu sistema de reprodução e comportamento de seus polinizadores.

Materiais e métodos

ÁREA DE ESTUDO E ESPÉCIE ESTUDADA - O trabalho de campo foi realizado de março a agosto de 2000, 2001 e 2003, em duas áreas localizadas no município de Uberlândia, MG: mata de galeria da Estação Ecológica do Panga (EEP) e mata ciliar do Rio Uberabinha (dois pontos: Clube de Caça e Pesca Itororó de Uberlândia (CP) e margem do rio localizado no perímetro urbano - MR). A EEP pertence a Universidade Federal de Uberlândia e encontra-se situada a 30 Km do centro de Uberlândia nas coordenadas 19°09'20", 19°11'10"S e 48°23'20", 48°24'35"W, numa altitude média de 800m (Schiavini & Araújo 1989). O Rio Uberabinha é parte integrante da bacia do rio Paraná e atravessa todo o município de Uberlândia, no sentido sudeste-noroeste, passando pela área urbana. O CP situa-se a 8Km oeste do perímetro urbano (18° 57'S e 48° 12W), enquanto o MR localiza-se ao lado do Clube de recreação "Praia Clube de Uberlândia" (18°55'10"S e 48°18'09"W). O clima da região é Aw megatérmico (segundo classificação de Köppen), com duas estações muito bem definidas (Rosa *et al.* 1991).

Manettia cordifolia possui ampla distribuição na América do Sul, sendo encontrada desde a Argentina (Jujuy), Bolívia, Brasil (estado do Paraná ao Ceará), Paraguai e Peru (Solomon 2003 e Material do herbário da Universidade de Brasília). É uma planta trepadeira, que na Estação Ecológica do Panga ocorre ao longo da borda da mata de galeria e em algumas clareiras na margem do Ribeirão Panga (Oliveira 1998) e no Rio Uberabinha ao longo dos remanescentes de mata ciliar. Os indivíduos encontram-se agrupados, formando manchas de recursos, sendo considerada uma espécie com floração do tipo cornucópia (*sensu* Gentry 1974), pois alguns indivíduos podem produzir grandes quantidades de flores durante um período muito prolongado (C. E. Tomé, dados não publicados).

BIOLOGIA FLORAL E VISITANTES – Botões foram marcados antes da abertura e observados periodicamente para determinar o horário de antese (início da separação das pétalas), liberação de pólen e a receptividade estigmática (separação dos lobos estigmáticos). Foi utilizada a técnica de coloração com carmim acético para verificar a viabilidade dos grãos de pólen (Radford *et al.* 1974).

Em flores previamente ensacadas, a produção de néctar foi quantificada usando capilares para medida de volume e refratômetro de mão para concentração de açúcares (*sensu* Inouye *et al.* 1980). Por problemas logísticos, as medidas foram realizadas apenas no período da manhã entre 06:00 e 11:00h.

Os visitantes e seu comportamento nas flores foram observados durante o período das 06:00 às 17:00h, perfazendo um total de 45h no campo no decorrer de seis dias não contínuos. Polinizadores foram determinados baseado na relação morfologia do visitante x morfologia floral, frequência de visitas e comportamento dos visitantes (observações de visitas legítimas e contato com estruturas reprodutivas da flor). Documentação fotográfica das visitas foi obtida para alguns dos principais polinizadores. Para análise da formação de frutos após polinização natural em flores intactas e flores predadas foi utilizada o teste de Qui-quadrado (SYSTAT).

MORFOMETRIA FLORAL E SISTEMA REPRODUTIVO - Observações sobre a morfologia floral de *Manettia cordifolia* foram realizadas em flores no campo (n=35) e em material fixado em álcool 70% (110 flores, sendo cinco flores por indivíduo distribuídas em 22 plantas). Foram obtidas as seguintes medidas florais: comprimento do tubo, abertura, largura mínima e máxima da corola, comprimento da antera e altura do estigma e da antera. Estes parâmetros foram medidos com auxílio de paquímetro com precisão de 0,5mm.

Todas as análises estatísticas foram conduzidas usando programa SYSTAT. Para cada população foram feitas, separadamente, comparações entre os indivíduos utilizando ANOVA, sendo o mesmo procedimento utilizado para comparações entre as populações.

Foram analisadas exsiccatas da espécie em herbários, com o intuito de verificar a posição das anteras e dos estigmas em flores de outras populações, visando compará-las com as populações

estudadas. Todas os exemplares da espécie presentes nos herbários foram analisadas, sendo 15 no herbário da Universidade Estadual de Campinas – UEC (Campinas, SP), 53 no herbário da Universidade de Brasília - UB (Brasília, DF) e dois no Herbarium Uberlandensis – HUFU (Uberlândia, MG).

Testes para definição do sistema de reprodução foram feitos utilizando dez indivíduos, sendo seis na EEP e quatro na MR. Os botões foram ensacados com sacos de organza fina de nylon antes de sua abertura. No dia da antese foram realizados testes de autopolinizações e polinizações cruzadas manuais e preparadas flores para autopolinizações espontâneas, apomixia (botões emasculados) e polinizações controles (flores expostas). As polinizações cruzadas manuais foram feitas utilizando indivíduos doadores de pólen da mesma área e doadores de pólen de outras áreas.

Algumas flores submetidas aos testes de autopolinização e polinização cruzada foram coletadas 12, 24, 48 e 60 horas após o tratamento, sendo fixadas em FAA 50% e seguidamente armazenadas em álcool 70% para posterior preparação e observação do crescimento de tubos polínicos em microscopia de fluorescência (Martin 1959).

Resultados

BIOLOGIA FLORAL E VISITANTES - As flores de *Manettia cordifolia* são solitárias, pendentes, tetrâmeras, gamossépalas e gamopétalas, com um disco nectarífero na base do tubo da corola. São hermafroditas, com quatro estames epipétalos e as anteras posicionadas na entrada da corola. O conjunto estilete/estigma projeta-se além da entrada da corola (Figura 1). Apresenta ovário ínfero, bicarpelar com média de $70 \pm 13,83$ óvulos ($n=27$). A antese é diurna, ocorrendo à abertura das flores entre 05:30 e 06:30h. As flores têm longevidade funcional de até três dias, podendo a corola permanecer seca até a formação do fruto maduro. No pico de floração, apresentam em média $4,81 \pm 0,89$ flores abertas por indivíduo ($n=28$).

O pólen começa a ser liberado antes da abertura da flor, permanecendo exposto na superfície da antera. A viabilidade polínica estimada foi de 99% para as flores examinadas (n=4, com 100 grãos de pólen por flor). A receptividade estigmática foi verificada pela morfologia característica do estigma: a partir do botão em pré-antese, o estigma bífido já se apresentava aberto indicando receptividade.

A recompensa disponível para os visitantes foi o néctar, produzido no disco nectarífero em todos os dias de duração da flor acumulando-se na base do tubo da corola. Flores ensacadas produziram $9,1 \pm 1,3 \mu\text{l}$ de néctar, com concentração de açúcares de $23,2 \pm 0,97\%$ (n= 20) e recompensa calórica de ca. 9,2 calorias por flor (estimada a partir de métodos descritos em Kearns & Inouye 1993).

Manettia cordifolia foi regularmente visitada e polinizada pelo beija-flor *Phaethornis pretrei* Lesson & DeLattre 1839, que durante visita às flores contactava as partes reprodutivas com a porção frontal da cabeça e com a base da mandíbula - visita legítima (Figura 2). *Phaethornis pretrei* visitou as flores, provavelmente usando estratégia de forrageamento do tipo “trap-line”, pois ao aproximar-se da mancha de recursos emitia vocalizações e seguia a mesma rota dentro da própria mancha. O tempo médio de permanência na mancha foi de $9,96 \pm 10,83$ segundos (n=50) variando de 3 a 60 segundos, visitando em média $4,6 \pm 6,52$ flores (n=50) por indivíduo. Em alguns casos isolados, ele alterou a rota de visita dentro da mancha visitando muitas flores na mesma sessão (e. g. 29 flores visitadas), retornando a visitar o mesmo grupo de flores após a estas alterações.



Figura 1. Visão lateral da flor de *Manettia cordifolia* com o complexo estilete/estigma projetando-se além da corola, contendo a marcante separação estigma-antera (“approach herkogamy”). Seta indicando o complexo estilete/estigma com “approach herkogamy”.



Figura 2. *Phaetornis pretrei* durante visita à flor de *Manettia cordifolia*, Estação Ecológica do Panga, Uberlândia, MG.

Phaetornis pretrei visitou uma mesma mancha cerca de quatro vezes por hora, do amanhecer até o final da tarde. Duas outras espécies de beija-flores, *Amazilia* sp. e *Eupetomena macroura*, foram registradas visitando flores de *M. cordifolia*, com apenas uma visita para cada espécie.

Três espécies de borboletas (Lepidópteros), sendo uma *Heliconius* sp., também foram registradas visitando flores de *M. cordifolia*. Elas pousavam de frente a corola e inseriam suas probóscides até o local máximo onde elas alcançavam o néctar, ocasionalmente contactando o estigma.

As abelhas *Trigona spinipes* Fabr. 1875 e *Xylocopa* sp. foram observadas perfurando a base da corola onde o néctar fica acumulado (pilhando néctar). Além do néctar, *T. spinipes* foi registrada predando as anteras (pilhando pólen) sem contactar o estigma.

Outra espécie pilhadora foi a ave passeriforme *Coereba flaveola* Linnaeus 1758, que se alimenta principalmente de néctar. Como não têm a língua e o bico tão longos quanto os beija-flores e não tem a capacidade de adejar, apoiava-se nas flores e perfuravam a corola ou utilizavam as perfurações feitas por *T. spinipes* para se alimentar do néctar. A pilhagem não impediu, posteriormente, visitas legítimas do polinizador *P. pretrei*, e mesmo após predação por ladrões de néctar, houve formação de frutos após polinização natural, não havendo diferença significativa entre flores intactas e flores predadas ($\chi^2=0,64$; gl=1; p=0,05).

MONOMORFISMO E SISTEMA REPRODUTIVO - *Manettia cordifolia* apresentou flores com estigma localizando-se sempre acima das anteras, havendo separação espacial entre os órgãos - condição secundária de “approach herkogamy” (Figura 1). A espécie apresentou ainda separação estigma-antera com distribuição unimodal (Figura 3) e altura do estigma e das anteras com distribuição contínua entre as plantas. Entretanto, a separação estigma-antera variou tanto entre flores do mesmo indivíduo quanto entre indivíduos. Em duas flores, sendo cada uma de indivíduos diferentes, o estigma localizou-se abaixo das anteras (-0,305 e - 0,0525mm), sendo, entretanto, uma situação rara, visto que as outras flores dos mesmos indivíduos e de outros indivíduos apresentaram o estigma sempre acima das anteras.

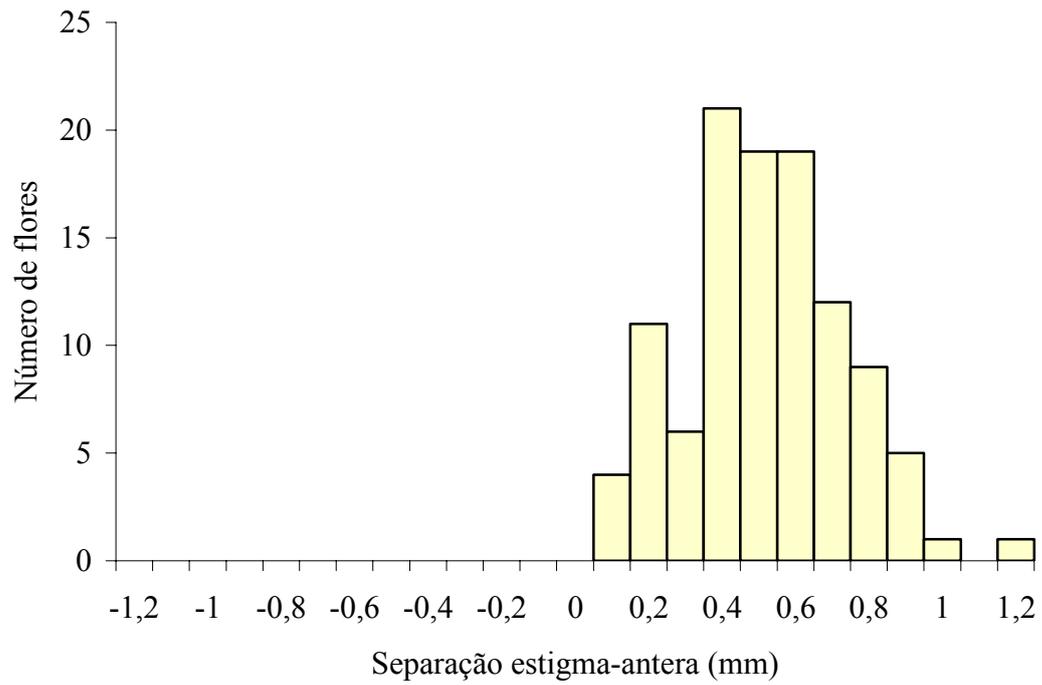


Figura 3. Distribuição unimodal da separação estigma-antera em flores de *Manettia cordifolia* indicando monomorfismo longistílico na espécie.

Em todas as exsicatas avaliadas nos herbários visitados, foi observada a mesma característica morfológica descrita neste trabalho, ou seja, o estigma localizando-se sempre acima das anteras. Estes exemplares eram provenientes de populações dos estados do Ceará e Mato Grosso do Sul com uma exsicata cada, Mato Grosso duas, Paraná quatro, Goiás 11, Bahia 13, São Paulo 18 e Minas Gerais 20. Além das exsicatas, uma população estudada por A. V. Lopes (com. pess.) no estado de Pernambuco também apresentou tal característica.

Tanto entre os indivíduos de cada área, como entre as populações estudadas (EEP, CP e MR), as alturas do estigma e da antera apresentaram diferenças significativas (Tabela 1). Os dados morfométricos variaram entre as populações, sendo que não houve diferença significativa apenas na largura mínima da corola. Na análise dos indivíduos separadamente para cada população, diferenças significativas ocorreram entre as plantas da mesma localidade, entretanto as diferenças não foram às mesmas para cada população (Tabela 1). Na EEP, não ocorreu diferença significativa apenas na abertura da corola, enquanto no CP não houve diferença somente na largura máxima e na abertura da corola, e por fim na MR as diferenças não aconteceram na abertura e no comprimento do tubo da corola (Tabela 1).

Os testes de polinizações controladas indicam que a espécie é auto-incompatível e não agamospérmica (Tabela 2). No crescimento dos tubos polínicos após 12 horas, foram observados grãos de pólen germinando no estigma, tanto para polinizações cruzadas como autopolinizações, entretanto em polinizações cruzadas o número de tubos polínicos alcançando o primeiro quarto do estilete (sete pistilos em dez observados) foi maior que nas autopolinizações (dois pistilos em dez). Após 24 horas, nas polinizações cruzadas foram constatados feixes de tubos polínicos crescendo em grande quantidade até aproximadamente a metade do estilete (12 pistilos em 14), enquanto nas autopolinizações esses feixes foram em menor quantidade e aparentemente fracos, ou seja, menor diâmetro e menos fluorescentes que os de polinização cruzada (12 em 17). Em 48 horas, os tubos polínicos foram observados no final do estilete e no ovário nos dois tratamentos, entretanto em

Tabela 1. Características florais mensuradas (cm) e suas respectivas médias e desvios padrão (SD) para todas as flores (110) e separadamente para cada população (EEP= Estação Ecológica do Panga, CP= Reserva Legal do Clube de Caça e Pesca Itororó, MR= Margem do Rio Uberabinha). Resultados das análises estatísticas (F=ANOVA) feitas para comparação entre populações e entre indivíduos de cada população.

Medidas florais	Medidas florais				Análise estatística			
	Flores	População (N° de flores)			Populações		Indivíduos	
		Média ± SD / população			F		F	
	Média Total ± SD	EEP (55)	CP (30)	MR (25)	EEP/CP/MR	EEP	CP	MR
Altura do estigma	5,24 ± 0,52	5,42 ± 0,6	5,14 ± 0,41	4,97±0,23	8,02*	8,19*	7,91*	4,81*
Altura da antera	4,79 ± 0,5	4,99 ± 0,55	4,67 ± 0,43	4,49±0,22	11,17*	7,93*	12,06*	5,47*
Comprimento da corola	4,31 ± 0,45	4,46 ± 0,48	4,27 ± 0,43	4,04±0,24	8,4*	10,51*	15,73*	2,22
Abertura da corola	0,58 ± 0,08	0,6 ± 0,08	0,5 ± 0,09	0,59±0,06	5,26*	1,65	2,47	1,64
Largura mínima da corola	0,2 ± 0,02	0,21 ± 0,02	0,2 ± 0,02	0,2±0,02	1,94	3,05*	5,7*	3,11*
Largura máxima da corola	0,63 ± 0,08	0,65 ± 0,09	0,6 ± 0,08	0,59±0,06	4,5*	5,42*	2,36	3,69*
Comprimento da antera	0,5 ± 0,05	0,53 ± 0,04	0,49 ± 0,05	0,45±0,04	20,5*	10,07*	5,88*	5,84*

* Significativamente diferente p<0,05

Tabela 2 – Sucesso na taxa de frutificação resultantes dos tratamentos de polinização em *Manettia cordifolia* (Rubiaceae) no município de Uberlândia - MG.

Tratamento	Número de Flores Polinizadas (n)	Número de Frutos Formados (n)	Sucesso Reprodutivo (%)
Autopolinização manual	102	4	4
Autopolinização Espontânea	50	2	4
Agamospermia	50	0	0
Polinização Cruzada	108	25	23
Polinização Natural	50	9	18
Polinização Natural após Predação ⁽¹⁾	50	7	14

⁽¹⁾ Predação: perfuração da corola e pilhagem de néctar causadas por *Trigona spinipes* e *Coereba flaveola*.

polinizações cruzadas o número de tubos na base do estilete e no ovário foi maior (10 em 12/polinização cruzada e três em 15/autopolinização). Por fim, após 60h, em polinizações cruzadas todos os pistilos observados tiveram grande quantidade de tubos polínicos penetrando nos óvulos (n=12), enquanto que em autopolinizações a ausência de tubos polínicos nos óvulos foi grande (10 em 11). Em autopolinização, o número de tubos polínicos crescendo no início do estilete foi maior em relação a sua porção final (oito em 11), havendo uma diminuição substancial no número de tubos alcançando a base do estilete.

Discussão

BIOLOGIA FLORAL E VISITANTES – *Manettia cordifolia* é ornitófila e apresenta características típicas da síndrome ornitofilia, tais como antese diurna, corola tubular relativamente rígida, coloração vermelha, néctar abundante localizando-se distante dos órgãos sexuais e ausência de odor (Faegri, K. & Pijl, L. Van der. 1979). A longevidade das flores de *M. cordifolia* (três dias) é maior que a longevidade média (1,37 dias) registrada para espécies de Rubiaceae (Stratton 1989), todavia se assemelha a de *M. luteo-rubra* (quatro dias) (Passos & Sazima 1995). Esta grande longevidade pode aumentar as chances de polinização cruzada (Feinsinger & Busby 1987, Stratton 1989, Passos & Sazima 1995). Flores de espécies que necessitam de polinização cruzada obrigatória podem ter sido selecionadas a permanecer mais tempo abertas para aumentarem as chances de serem visitadas e polinizadas (Primack 1985, Passos & Sazima 1995). Esta característica pode estar associada também a espécies ornitófilas (Passos & Sazima 1995, Castro & Oliveira 2001), pois a frequência de seus visitantes é menor em relação a espécies polinizadas por insetos (Stone 1996).

Os valores de volume de néctar, concentração de açúcares e recompensa energética são até certo ponto semelhantes a outras espécies polinizadas por beija-flores estudadas por outros autores (Baker 1975, Passos & Sazima 1995). *Manettia cordifolia* apresentou valores aproximados a *M. luteo-rubra*, que produz $8,46\mu\text{l}\pm 3,68$ de néctar, com concentração de $24\%\pm 2,11$ (Passos & Sazima

1995), e ca. de 8,9 calorias por flor. Estes valores permitiriam enquadrar ambas as espécies como flores agrupadas com moderada recompensa energética (“clumped moderate flowers”), de acordo com a categorização de flores visitadas por beija-flores feita por Feinsinger & Colwell (1978). Entretanto, Passos & Sazima (1995) classificaram *M. luteo-rubra* como flores agrupadas com rica recompensa energética (“clumped rich flowers”). Tal categorização parece equivocada, pois a recompensa energética oferecida por flores desta categoria, no trabalho de Feinsinger & Colwell (1978), é algo da ordem de dez vezes maior que o oferecido pelas flores de ambas as espécies de *Manettia*. É possível que o número de flores oferecido por planta tenha sido muito maior em *M. luteo-rubra*, criando agrupamentos particularmente ricos e atrativos, mas a recompensa energética por flor oferecida por ambas espécies parece ser apenas moderada.

Embora a maioria das espécies de Rubiaceae sejam polinizadas por borboletas, moscas e abelhas com probóscide grande (Taylor 1996, Stone 1996, Ortiz *et al.* 2000, Castro & Oliveira 2002), alguns trabalhos mostram que polinização por beija-flores é freqüente nas Rubiaceae (Bawa 1990), com registros para espécies de *Psychotria*, *Manettia*, *Palicourea*, *Cephaelis*, *Hamelia* e *Ferdinandusa* (Bawa & Beach 1983, Snow & Snow 1986, Feinsinger & Busby 1987, Passos & Sazima 1995, Castro & Oliveira 2001).

Manettia cordifolia teve como principal polinizador *Phaetornis pretrei*. Este beija-flor possui o bico longo e levemente curvado, com ca. 33mm (Piratelli 1997, Castro & Oliveira 2001), encaixando-se perfeitamente na flor de *M. cordifolia* (comprimento do tubo da corola com ca. $43 \pm 0,456$ mm), aumentando, possivelmente a eficiência na transferência dos grãos de pólen. Espécies de *Phaetornis*, parecem forragear em linhas de captura com alta recompensa energética – “high-reward trapliners”, visitando flores espalhadas com grande quantidade de néctar, de 69 a 120µl com 98-169 cal (Feinsinger & Colwell 1978). Entretanto, *M. cordifolia* oferece flores agrupadas com moderada quantidade de néctar – “clumped moderate flowers”, fazendo com que *P. pretrei* forrageie em linhas de captura de baixa recompensa energética – “low-reward trapliners”. Por *P. pretrei* estar dentro de um gênero que busca flores com grande recompensa energética

(Feinsinger & Colwell 1978) e *M. cordifolia* oferecer uma moderada energia ao visitante (9,2 cal.), o beija-flor é, provavelmente, forçado a visitar um número bem maior de flores para suprir sua necessidade energética, conseqüentemente aumentando seu deslocamento entre as plantas e proporcionando maiores taxas de polinização cruzada. Em *M. luteo-rubra*, talvez pela concentração de recursos em manchas mais ricas, *Phaetornis eurynome* e *P. squalidus* comportaram-se como territorialistas (Passos & Sazima 1995). Naquela espécie, o comprimento menor do tubo da corola (16,19±1,68mm para flores brevistilas e 14,75±1,73mm para longistilas) possibilitava a exploração de néctar por beija-flores com diversos tamanhos de bicos, inclusive *Thalurania glaucopis*, um Trochilinae de bico bem mais curto. A corola mais longa em *M. cordifolia* restringe as visitas a beija-flores com bico mais longo e as visitas esporádicas das duas outras espécies de beija-flores ocorreram, possivelmente, sem a exploração do recurso néctar, já que *Amazilia* sp. e *Eupetomena macroura* possuem bico curto.

As síndromes ornitofilia e psicofilia são muito próximas, havendo várias espécies polinizadas por beija-flores e borboletas (Piratelli 1997). Entretanto, lepidópteros podem também competir indiretamente com beija-flores pelo recurso oferecido, fazendo com que os beija-flores os expulsem da área de forrageamento ou ainda, abandonem a área durante a época em que esses insetos se encontram mais ativos (Primack & Howe 1975, Thomas *et al.* 1986). Os lepidópteros que visitaram *M. cordifolia*, aparentemente, não competiram com *P. pretrei* podendo, assim desempenhar importante papel como polinizadores secundários, já que espécies de *Heliconius* podem utilizar, inclusive, estratégia de forrageamento “trapline” (Ehrlich & Gilbert 1973).

A presença de pilhadores em espécies ornitófilas pode alterar a frequência de visitas dos beija-flores e interferir no sucesso reprodutivo da planta, pois os pilhadores restringem a disponibilidade do recurso (Piratelli 1997). Esse fato pode proporcionar um efeito negativo para planta em decorrência da queda do número de visitas e conseqüente baixa na taxa de polinização. Entretanto, Maloof & Inouye (2000) mostraram que os efeitos desses pilhadores na formação de frutos podem também ser positivos ou neutros. A pilhagem de néctar por *T. spinipes*, geralmente

está associada a efeitos negativos, já que essa abelha é naturalmente agressiva e territorialista (Maloof & Inouye 2000). Em *M. cordifolia*, os pilhadores *T. spinipes*, *Xylocopa* sp. e *Coereba flaveola* tiveram efeito neutro no sucesso reprodutivo da espécie, já que não influenciaram no comportamento do polinizador principal. *Phaetornis pretrei* continuou visitando flores pilhadas, talvez por não perceber a base do tubo da corola danificado e/ou pelo néctar continuar a ser produzido mesmo após a perfuração. Flores predadas também produziram frutos em taxas similares após polinização natural.

MONOMORFISMO E SISTEMA REPRODUTIVO - O gênero *Manettia* é tido como tipicamente heterostílico (Ganders 1979), sendo tal situação encontrada em *M. luteo-rubra* (Passos & Sazima 1995). Entretanto, é possível existir espécies dentro de gêneros ditos distílicos que apresentam variações nas características florais, como é o caso de *M. cordifolia*. Isto pode ocorrer em consequência de alterações no sistema de reprodução, podendo ser variável dependendo das características florais da população, demografia local, situações ecológicas, condições ambientais e recombinação gênica (Sobrevila *et al.* 1983, Barrett & Shore 1987, Thompson 2001, Endels *et al.* 2002).

Barrett & Shore (1987), argumentam que o monomorfismo é derivado do fenotipo homostílico autocompatível (originado do “cross-over” do supergene distílico), no qual o ancestral da condição homostílica se caracterizava pela distília. Porém, outros autores possuem visões diferentes, eles defendem que o monomorfismo é derivado diretamente da condição distílica, sem a passagem pela condição homostílica, originada pela seleção direcionada de um morfotipo (e. g. o longistílico) ou pelo “cross-over” no supergene distílico (Baker 1966, Nicholls 1985, Hamilton 1990). Em ambos os processos, a mudança no sistema reprodutivo pode ter consequências evolutivas, podendo inclusive ocorrer processos de especiação, o que explicaria espécies monomórficas em grupos tidos como distílicos.

Em *M. cordifolia*, a distribuição unimodal na separação estigma-antera (Figura 3) e a distribuição contínua na altura do estigma e da antera entre os indivíduos amostrados indicam que a

espécie não é distílica, não sendo possível dividir as plantas dentro de dois morfos distintos (Faivre & McDade 2001). A espécie não apresentou características morfológicas que a enquadraria como tipicamente distílica, como outras espécies de Rubiaceae (Ganders 1979), mas sim como uma espécie na condição de monomorfismo longistílico (Barrett 1992, Hamilton 1990). Em termos morfológicos, uma espécie é considerada heterostílica típica quando ela pode ser dividida em duas classes distintas (longistilas e brevistilas) com uma pequena variação entre as flores do mesmo morfo e hercogamia recíproca severa entre os morfos (Faivre & McDade 2001).

A condição de *M. cordifolia* ser monomórfica auto-incompatível, pode ter ocorrido de diversas formas. Dadas às características relativamente especializadas da flor, a hipótese da espécie constituir uma condição primitiva de “approach hercogamy” dentro do gênero pode ser tratada com reservas, mas estudos filogenéticos mais específicos seriam necessários antes de se afastar em definitivo tal alternativa. Considerando que esta é uma condição secundária de monomorfismo num grupo essencialmente distílico, é possível que, com o desaparecimento do morfo brevistilo, o surgimento da compatibilidade intramorfo atual tenha sido necessária para manter o sucesso reprodutivo da espécie (Hamilton 1990). A permanência da auto-incompatibilidade e a obtenção desta compatibilidade intramorfo pode ter surgido pela perda ou relaxamento da capacidade de inibição do crescimento do tubo polínico dado um cross-over ou uma quebra de ligação no supergene, onde as características morfológicas longistílicas foram mantidas, mas a regulação do sistema de incompatibilidade se tornou independente (Baker 1966, Nicholls 1985). Espécies como *Linum tenuifolium* (Nicholls 1985), *Palicourea petiolaris* (Sobrevila *et al.* 1983), *Hamelia patens*, *H. xerocarpa*, *Posoqueria grandiflora* e *Warszewiczia coccinea* (Bawa & Beach 1983) possuem as mesmas características morfológicas, as mesmas condições de incompatibilidade e as mesmas explicações documentadas aqui para *M. cordifolia*. Outra possibilidade seria a de que, pelo morfo longistilo apresentar usualmente menor resistência às polinizações intramorfo (Hamilton 1990), frutos e sementes formados de tais polinizações tenham sido suficientes para manter o sucesso reprodutivo e a manutenção da espécie, sem a necessidade do morfo oposto.

Variações nas características florais podem ocorrer em vários níveis numa espécie, tais como entre flores do mesmo indivíduo, entre indivíduos da mesma população ou entre populações (Faivre & McDade 2001). Estas variações podem ter diferentes explicações (e. g. plasticidade vs. controle genético), além de causas ecológicas e evolucionárias (Faivre & McDade 2001). Estas situações ocorrem em diversas espécies: *Eichhornia paniculata* (Pontederiaceae) apresentou diferença significativa para todas as características mensuradas entre as populações estudadas (Barrett 1985), diferentes populações de *Palicourea petiolaris* e *Gaertnera vaginata* (Rubiaceae) mostraram diferenciação em várias características morfológicas (Sobrevila *et al.* 1983), enquanto *Bouvardia ternifolia* e *Psychotria chiapensis* apresentaram variações entre plantas da mesma população (Faivre & McDade 2001).

A prevalência morfológica do monomorfismo longistílico em espécies derivadas de ancestrais distílicos pode ocorrer pelo fato do morfo ter vantagens seletivas sobre o brevistilo (Philipp & Schou 1981). Um suporte a esta idéia seria a prevalência nas Angiospermas de “approach herkogamy” em relação a hercogamia reversa (Barrett 1992). O posicionamento exserto do estigma facilitaria o contato com o grão de pólen presente no polinizador (Nicholls 1985, Dulberger 1992). Em *Hedyotis caerulea*, houve alto nível de fluxo de pólen intramorfo, principalmente entre flores longistilas (Ornduff 1980). Flores longistilas de *Psychotria birotula* e *P. pubigera* foram mais frequentes do que flores brevistilas, indicando uma assimetria no fluxo do pólen em direção ao morfo longistílico (Castro & Oliveira 2002). Mais que isso, apesar de Darwin (1877 *apud* Barrett 1992) sugerir que características morfológicas das flores distílicas promovem fluxo de pólen intermorfo, outros estudos indicam que níveis de fluxo de pólen intermorfo são mais baixos do que se poderia esperar em relação ao posicionamento recíproco do estigma e das anteras (Ornduff 1979). Alterações na proporção de transferência de grãos de pólen e prevalência no estabelecimento de um morfo podem estar associados também a distúrbios ecológicos na área em que se encontra a espécie, tais como perturbação ambiental, isolamento geográfico, interação com polinizadores e variações nas características florais (Sobrevila *et al.* 1983, Endels *et al.* 2002).

Todas estas condições podem favorecer o estabelecimento e a permanência de apenas um morfo na espécie e, assim, ocorrer a perda do morfo oposto sem prejudicar o sucesso reprodutivo da espécie (Martin 1967, Nicholls 1985).

Manettia cordifolia é auto-incompatível, mas não foram evidenciadas barreiras de incompatibilidade bem definidas. Monomorfismo floral com auto-incompatibilidade também foram registradas em *Hamelia patters*, *H. xerocarpa*, *Posoqueria grandiflora* e *Warszewiczia coccinea* (Bawa & Beach 1983). A inibição total dos tubos polínicos de autopolinização não aconteceu em uma região exata do estilete, sendo que os que passaram no estigma eram interrompidos ao longo do percurso, com poucos alcançando o ovário e apenas um penetrando nos óvulos. Situação similar foi encontrada em polinizações entre os morfos longistilos de *M. luteo-rubra* (Passos & Sazima 1995) e *Psychotria chiapensis* (Bawa & Beach 1983). Estas características são similares ao sistema de incompatibilidade gametofítico, entretanto nas Rubiaceae e nas plantas distílicas de uma maneira mais geral parecem ser comuns os sistemas esporofíticos (Bawa & Beach 1983). Sistemas de reprodução heteromórficos incluem uma diversidade de mecanismos de reconhecimento e rejeição de tubos polínicos, sendo ainda pouco conhecidos nas Rubiaceae, possivelmente existindo dois ou mais mecanismos de incompatibilidade na família (Bawa & Beach 1983).

Apesar de incluída num gênero tipicamente distílico, *Manettia cordifolia* pode ser considerada como uma espécie monostílica, já que os dados obtidos das populações estudadas e das várias exsicatas de outras áreas avaliadas mostraram tal situação. Entretanto, dizer precisamente qual (s) força (s) seletiva (s) direcionou tal condição ainda não é possível, pois alterações nas características heterostílicas podem ter diversas explicações e causas. Informações sobre a distribuição geográfica e sobre a filogenia do grupo poderão ajudar a entender melhor a situação da espécie e o surgimento destas características monostílicas.

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Há mais de um século Charles Darwin (1877) publicou o livro “*The Different Forms of Flowers on Plants of the Same Species*”, no qual relata a ocorrência da heterostilia, apesar dela ter sido primeiramente observada por Clusius (1583) em *Primula* (van Dijk 1943 *apud* Ganders 1979). A partir desta publicação, um grande número de trabalhos se iniciou, todos com o intuito de investigar e entender cada vez mais os mecanismos que influenciaram o aparecimento deste polimorfismo floral.

À medida que o número de trabalhos sobre heterostilia foi aumentando, descobriu-se que existe uma variedade de modificações evolutivas que atuam neste polimorfismo. Variação na apresentação das características heterostílicas pode ocorrer em diferentes graus, tanto entre populações distílicas da mesma espécie, as quais são separadas por barreiras geográficas, quanto entre gêneros e espécies tipicamente distílicos.

Na população estudada de *P. carthagenensis* as variações ocorreram no sistema de incompatibilidade genético e na razão dos morfos florais (isopletia). É esperado que uma população distílica possua uma razão de 1:1 entre os morfos, entretanto a população da Estação Ecológica do Panga apresentou um grande desequilíbrio nesta razão (149 indivíduos longistilas e apenas um brevistila). Juntamente com este desequilíbrio, a população apresentou a condição de autocompatibilidade. Desvios na isopletia têm sido registrados para espécies que possuem algum grau de autocompatibilidade, reprodução clonal e tamanho populacional reduzido (Ganders 1975, Hamilton 1990, Sobrevila *et al.* 1983). Além disso, é relatado também que pode existir assimetria no fluxo de pólen em direção ao morfo longistílico devido ao posicionamento exserto do estigma. Este posicionamento facilitaria o contato com o grão de pólen presente no polinizador (Castro & Oliveira 2002).

O gênero *Manettia* é tido como tipicamente distílico, entretanto *M. cordifolia* não possui características morfológicas que a enquadre como uma espécie distílica como outras do gênero e da

família Rubiaceae de modo geral. Suas características florais relativamente especializadas sugerem uma espécie com monomorfismo longistílico, provavelmente derivado de um ancestral distílico. Situação semelhante é registrada para outras espécies, como *Hamelia patens*, *H. xerocarpa*, *Posoqueria grandiflora* e *Warszewiczia coccinea* (Bawa & Beach 1983). Todavia, não se pode descartar a hipótese de que esta disposição morfológica da flor seja uma condição primitiva da espécie dentro do gênero.

Os vários estudos na família Rubiaceae sugerem que as variações nas características heterostílicas (populações isoladas ou na espécie toda) podem representar diferentes estágios de processos com causas últimas até certo ponto semelhantes. É possível separar os estudos sobre a família Rubiaceae, inclusive o presente estudo, em 4 diferentes grupos ou condições:

1) Indivíduos (ou populações) homostílicos em espécies distílicas: indivíduos homostílicos são freqüentemente observados dentro de populações distílicas. Crosby (1949) relata o aumento de indivíduos homostílicos em *Primula vulgaris* (Primulaceae), Paillet *et al.* (1998) evidenciaram a presença de indivíduos homostílicos em algumas espécies do gênero *Chassalia* (Rubiaceae). Nestes casos, provavelmente os indivíduos são resultantes de eventos de “cross-over” dentro do supergene regulando o dimorfismo e na maioria dos casos a homostilia está associada à autocompatibilidade (Lewis & Jones 1992). Mas, provavelmente, não existem condições ecológicas selecionando a fixação de tal homostilia e a ocorrência de tais indivíduos depende da freqüência dos eventos de “cross-over” e conseqüentemente da própria estrutura genética da espécie (e.g. distância entre os loci no supergene, distância dos centrômeros, número de quiasmas, etc.).

2) Espécies homostílicas em gêneros distílicos: a homostilia é obtida a partir do “cross-over” do supergene da distilia (Barrett & Richards 1990). Plantas homostílicas são geralmente autocompatíveis, o que lhes permite ampla distribuição geográfica e ocupação de habitats onde os polinizadores são escassos ou onde o estabelecimento é por algum motivo comprometido (Ganders 1979). Apesar de ser uma condição difícil de ser encontrada, Coelho & Barbosa (2003) demonstraram tal situação para *Palicourea macrobotrys* (Rubiaceae), espécie homostílica em um

gênero tipicamente distílico (Sobrevila *et al.* 1983). As características ecológicas citadas acima ou ainda reprodução clonal (via multiplicação vegetativa ou apomixia) podem selecionar ativamente a condição homostílica e abrir caminho para a especiação (Lloyd e Webb 1992).

3) Populações monomórficas longistilas em espécies distílicas: esta situação pode ser alcançada em populações com algum grau de autocompatibilidade, elevado crescimento vegetativo, tamanho populacional reduzido ou perda eventual do morfo brevistilo. Populações com este monomorfismo são mais comumente encontrados, devido o morfo possuir, vantagens seletivas sobre o brevistilo em relação ao contato com os grãos de pólen presentes no corpo de polinizador (Nicholls 1985, Webb & Lloyd 1986, Dulberger 1992). Em *Palicourea petiolaris*, uma das quatro populações estudadas apresentaram monomorfismo longistílico (Sobrevila *et al.* 1983); em *Hedyotis salzmannii* (Rubiaceae), das sete populações estudadas, em quatro o morfo longistilo prevaleceu (Riveros *et al.* 1995), em *Linum tenmifolium* o monomorfismo foi também relatado (Nicholls 1985). É claramente a situação de *Psychotria carthagenensis*.

4) Espécies com “approach herkogamy”, provavelmente originadas de monomorfismo longistilo: independente de sua origem, esta estrutura dos órgãos reprodutivos é a mais encontrada entre as Angiospermas. O posicionamento do estigma facilitaria o contato do grão de pólen com o corpo do polinizador aumentando, assim as chances de polinização (Barrett 1992). Esta condição poderia ser originada de espécies distílicas por meio cross-over do supergene que controla a distilia e obtenção do alelo para compatibilidade intramorfo, mas com a permanência das características morfológicas longistílicas. Essas alterações no genótipo podem ter conseqüências evolutivas, podendo proporcionar processos rápidos de especiação (Baker 1958), na medida que mantêm o potencial de variabilidade gênica. Tal situação deve estar ocorrendo com *Manettia cordifolia*, já que o morfo brevistilo não foi encontrado.

Os grupos 1 e 2 são obviamente relacionados e parecem ser graus diferentes de um mesmo processo, talvez associados com as condições ambientais e as características biológicas das espécies. As relações entre os grupos 3 e 4 são menos claras. Embora seja possível pensar que a

monostilia longistila em populações de espécies distílicas explica e confirma a possibilidade do surgimento de espécies verdadeiramente monostílicas em grupos distílicos, existem alguns pontos que precisam ser clarificados. As populações longistilas comumente têm algum grau de auto-compatibilidade ou multiplicação clonal que assegura a sobrevivência, mas reduz a variabilidade. Por outro lado, muitas das espécies monostílicas estudadas apresentam auto-incompatibilidade, o que sugere que esta característica também foi adquirida secundariamente e é fundamentalmente diferente do sistema esporofítico associado à auto-incompatibilidade em espécies distílicas (Barrett 1992). Os dados de crescimento de tubos polínicos obtidos com *Manettia* indicam que o processo de auto-esterilidade é, até certo ponto, semelhante aos sistemas de incompatibilidade tardios (Gibbs & Bianchi 1999) que parecem ser de natureza gametofítica (Lipow & Wyatt 2000).

CONCLUSÕES

No presente estudo, as duas espécies investigadas apresentaram variação em suas características heterostílicas. Entretanto, em *Psychotria carthagenensis* as variações parecem ser características isoladas da população (ou de algumas populações) em decorrência de, provavelmente dois fatores principais: 1) presença de autocompatibilidade e 2) tamanho populacional reduzido. Já em *Manettia cordifolia*, a monostilia parece ser uma característica da espécie, num gênero tipicamente distílico. As origens dessa variação podem estar associadas a condições genéticas (“cross-over” do supergene) ou ecológicas (vantagens do morfo longistilo), mas que levaram a um processo de especiação e recuperação de um mecanismo de auto-incompatibilidade.

Na verdade, estudos sobre o controle genético da heterostilia e sobre os sistemas de incompatibilidade na família Rubiaceae são ainda escassos, sendo a maioria realizados para Primulaceae e Boraginaceae (Lewis & Jones 1992). A ausência de informações mais claras sobre o controle genético na família dificulta a interpretação das variações sobre o tema da heterostilia observadas no presente estudo e em outros estudos sobre a família.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida, E. M. & Alves, M. A. S. 2000. Fenologia de *Psychotria nuda* e *P. brasiliensis* (Rubiaceae) em uma área de Floresta Atlântica no sudeste do Brasil. *Acta Botânica Brasilica* 14 (3): 335-346.
- Alves-dos-Santos, I. & Wittmann, D. 2000. Legitimate pollination of the tristylous flowers of *Eichhornia azurea* (Pontederiaceae) by *Ancyloscelis gigas* bees (Anthophoridae, Apoidea). *Plant Systematics and Evolution* 223: 127-137.
- Andersson, L. 1992. A provisional checklist of Neotropical Rubiaceae. *Scripta Botanica Belgica* 1: 1-199.
- Araújo, A. C. 2001. Flora, fenologia de floração e polinização em capões do Pantanal Sul Mato Grossense. Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.
- Araújo, G. M., Franciscon, C. H. & Nunes, J. G. 1987. Fenologia de nove espécies arbóreas de um cerrado no município de Uberlândia – MG. *Revista do Centro de Ciências Biomédicas da Universidade Federal de Uberlândia* 3: 3-17.
- Baker, H. G. 1958. Studies in the reproductive biology of West African Rubiaceae. *Journal West African Science Association* 4: 9-24.
- Baker, H. G. 1966. The evolution, functioning and breakdown of heteromorphic incompatibility systems I. The Plumbaginaceae. *Evolution* 18: 507-512.
- Baker, H. G. 1975. Sugar concentrations in nectars from hummingbirds flowers. *Biotropica* 7: 37-41.
- Barrett, S. C. H. 1992. Heterostylous genetic polymorphisms: model systems for evolutionary analysis. *In*: Barrett, S. C. H. (ed.). *Evolution and function of heterostyly*. Monographs on theoretical and applied genetics. Springer-Verlag. Berlin. p. 1-24.

- Barrett, S. C. H. 1985. Floral trimorphism and monomorphism in continental and island populations of *Eicchornia paniculata* (Spreng.) Solms. (Pontederiaceae). *Biological Journal of Linnean Society* 25: 41-60.
- Barrett, S. C. H. & Shore, J. S. 1987. Variation and evolution of breeding systems in *Turnera ulmifolia* L. complex (Turneraceae). *Evolution* 41: 340-354.
- Barrett, S. C. H. & Richards, J. H. 1990. Heterostyly in tropical plants. *Memoirs of the New York Botanical Garden* 55: 35-61.
- Barrett, S. C. H., Wilken, D. H. & Cole, W. W. 2000. Heterostyly in the Lamiaceae: The case of *Salvia brandegeei*. *Plant Systematics and Evolution* 223: 211-219.
- Bawa, K. S. 1983. Patterns of flowering in tropical plants. *In*: Jones, C. E. & Little, R. J. (ed). *Handbook of experimental pollination biology*. Scientific and Academic Editions. p. 395-408.
- Bawa, K. S. 1990. Plant-pollinator interactions in tropical rainforest. *Annual Reviews Ecological Systematics* 21: 399-422.
- Bawa, K. S. & Beach, J. H. 1983. Self-incompatibility systems in the Rubiaceae of a tropical lowland wet forest. *American Journal of Botany* 70: 1281-1288.
- Bullock, S. H. 1985. Breeding systems in the flora of a tropical deciduous forest. *Biotropica* 17: 287-301.
- Casper, B. B. 1985. Self-incompatibility in distylous *Cryptantha flava* (Boraginaceae). *New Phytol.* 99: 149-154.
- Castro, C. C. & Oliveira, P. E. 2001. Reproductive biology of the protandrous *Ferdinandusa speciosa* Pohl. (Rubiaceae) in southeastern SE Brazil. *Revista Brasileira de Botânica* 24: 167-172.
- Castro, C. C. & Oliveira, P. E. 2002. Pollination biology of distylous Rubiaceae in the Atlantic Rain Forest, SE Brazil. *Plant Biology* 4: 640-646.
- Charlesworth, D. & Charlesworth, B. 1979. A model for evolution of heterostyly. *American Naturalist* 114: 467-498.

- Coelho, C. P. & Barbosa, A. A. 2003. Biologia reprodutiva de *Palicourea macrobotrys* Ruiz & Pavon (Rubiaceae): um possível caso de homostilia no gênero *Palicourea* Aubl. Revista Brasileira de Botânica 26 (3): 403-413.
- Contreras, P. S. & Ornelas, J. F. 1999. Reproductive conflicts of *Palicourea padifolia* (Rubiaceae) a distylous shrub of a tropical cloud forest in Mexico. Plant Systematics and Evolution 219: 225-241.
- Cronquist, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, New York.
- Crosby, J. L. 1949. Selection of an unfavourable gene complex. Evolution 3: 212-230.
- Dearborn, D. C. 1998. Interspecific territoriality by a Rufous-Tailed hummingbird (*Amazilia tzacatl*): Effects of intruder size and resource value. Biotropica 30 (2): 306-313.
- Delprete, P. G. 1996. Systematics, typification, and reproductive biology of *Pinckneya bracteata* (W. Bartram) Raf. (Rubiaceae). Plant Systematic and Evolution 201: 243-261.
- Dulberger, R. 1992. Floral polymorphisms and their functional significance in the heterostylous syndrome. In: Barret, S. C. H. (ed.). Evolution and function of heterostyly. Monographs on theoretical and applied genetics. Springer-Verlag. 279 p.
- Ehrlich, P. R. & Gilbert, L. E. 1973. Population structure and dynamics of the tropical butterfly *Heliconius ethilla*. Biotropica. 5 (2): 69-82.
- Endels, P., Jacquemyn, H., Brys, R. & Hermy, M. 2002. Changes in pin-thrum ratios in populations of the heterostyle *Primula vulgaris* Huds: Does imbalance affect populations persistence? Flora 197: 326-331.
- Faegri, K. & Pijl, L. Van der. 1979. The principles of pollination ecology. Pergamon Press. Oxford.
- Faivre, A. M. & McDade, L. A. 2001. Population-level variation in the expression of heterostyly in three species of Rubiaceae: does reciprocal placement of anthers and stigmas characterize heterostyly? American Journal of Botany 88: 841-853.

- Feinsinger, P. & Colwell, R. K. 1978. Community organization among Neotropical nectar-feeding birds. *American Zoology* 18: 779-795.
- Feinsinger, P. & Bubsy, W. H. 1987. Pollen carryover: experimental comparisons between morphs of *Palicourea lasiorrachis* (Rubiaceae) a distylous, bird-pollinated, tropical treelet. *Oecologia* 73: 231-235.
- Freitas, C. V. & Oliveira, P. E. 2002. Biologia reprodutiva de *Copaifera langsdorffii* Desf. (Leguminosae, Caesalpinioideae). *Revista Brasileira de Botânica* 25 (3): 311-321.
- Ganders, F. R. 1975. Fecundity in distylous and self-incompatible homostylous plants of *Mitchella repens* (Rubiaceae). *Evolution* 29: 186-188.
- Ganders, F. R. 1979. The biology of heterostyly. *New Zealand Journal of Botany* 17: 607-635.
- Gentry, A. H. & Emmons, L. H. 1987. Geographical variation in fertility, phenology and composition of the understory of neotropical forest. *Biotropica* 19: 216-227.
- Gentry, A. H. 1974. Flowering phenology and diversity in tropical Bignoniaceae. *Biotropica* 6: 64-69.
- Gibbs, P. 1990. Self-incompatibility in flowering plants: a neotropical perspective. *Revista Brasileira de Botânica* 13: 125-136.
- Gibbs, P. & Bianchi, M. B. 1999. Does late-acting self-incompatibility (LSI) show family clustering? Two more species of Bignoniaceae with LSI: *Dolichandra cynanchoides* and *Tabebuia nodosa*. *Annals of Botany* 84: 449-457.
- Gouveia, G. P. & Felfili, J. M. 1998. Fenologia de comunidades de cerrado e de mata de galeria no Brasil Central. *Revista Árvore* 22: 443-450.
- Grandisoli, E. A. C. 1997. Biologia reprodutiva e estrutura da população de *Psychotria suterella* Muell. Arg. (Rubiaceae) em um fragmento de mata secundária em São Paulo (SP). Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo, São Paulo.
- Hamilton, C. W. 1990. Variations on a distylous theme in Mesoamerican *Psychotria* subgenus *Psychotria* (Rubiaceae). *Memoirs of the New York Botanical Garden* 55: 65-75.

- Heslop-Harrison, J. 1983. Self-incompatibility: Phenomenology and physiology. Proceedings Royal Society London, B 218: 371-395.
- Imbert, F. M. & Richards, J. H. 1993. Protandry, incompatibility, and secondary pollen presentation in *Cephalanthus occidentalis* (Rubiaceae). American Journal of Botany 80: 395-404.
- Inouye, D. W., Favre, N. D., Lanun, J. A., Levine, D. M., Meyers, J. B., Roberts, M. S., Tsao, F. C. & Wang, Y. Y. 1980. The effect of non-sugar nectar constituents on estimates of nectar energy content. Ecology 61: 992-995.
- Kearns, C. A. & Inouye, D. W. 1993. Techniques for pollination biologists. University Press of Colorado. Niwot. 583 p.
- Kohn, J. R. & Barrett, S. C. H. 1992. Experimental studies on the functional significance of heterostyly. Evolution 46: 43-55.
- Laska, M. S. 1997. Structure of understory shrub assemblages in adjacent secondary and old growth tropical wet forest, Costa Rica. Biotropica 29: 29-37.
- Lewis, D. 1979. Sexual incompatibility in plants. Edward Arnold London.
- Lewis, D. 1943. The physiology of incompatibility in plants. II. *Linum grandiflorum* Annals of Botany 7: 115-122.
- Lewis, D. & Jones, D. A. 1992. The genetics of heterostyly. In: Barrett, S. C. H. (ed.). Evolution and function of heterostyly. Monographs on theoretical and applied genetics. Springer-Verlag. Berlin. p. 1-24.
- 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.
- Lipow, S. R. & Wyatt, R. 2000. Single gene control of postzygotic self-incompatibility in Poke Milkweed, *Asclepias exaltata* L.. Genetics 154: 893-907.
- Lloyd, D. G. & Webb, C. J. 1992 a. The evolution of heterostyly. In: Barrett, S. C. H. (ed.). Evolution and function of heterostyly. Monographs on theoretical and applied genetics. Springer-Verlag. 279 p.

- Lloyd, D. G. & Webb, C. J. 1992 b. The selection of heterostyly. *In*: Barret, S. C. H. (ed.). Evolution and function of heterostyly. Monographs on theoretical and applied genetics. Springer-Verlag. 279 p.
- Maloof, J. E. & Inouye, D.W. 2000. Are nectar robbers cheaters or mutualists?. *Ecology* 81(10): 2651-2661.
- Marini, M. A. 2001. Effects of forest fragmentation on birds of the cerrado region, Brazil. *Bird Conservation International* 11: 11-23.
- Martin, F. N. 1959. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Technology* 34: 125-128.
- Martin, F. W. 1967. Distyly, self-incompatibility and evolution in *Melochia*. *Evolution* 21: 493-499.
- Monteiro, R., Nakajima, J. N., Ribeiro, J. E. L. S. & Toledo, J. C. 1991. Morfologia e distribuição espacial das formas heterostílicas de *Psychotria barbiflora* dc. (Rubiaceae). *Naturalia* 16: 137-146.
- Naiki, A. & Nagamasu, H. 2003. Distyly and pollen dimorphism in *Damnacanthus* (Rubiaceae). *Journal of Plant Research* 116: 105-113.
- Newstrom, L. E., Frankie, G. W. & Baker, H. G. 1994. A new classification for plant phenology based on flowering patterns in lowland tropical rain forest trees at La Selva, Costa Rica. *Biotropica* 26: 141-159.
- Nicholls, M. S. 1985. The evolutionary breakdown of distyly in *Linum tenuifolium* (Linaceae). *Plant Systematics and Evolution* 150: 291-301.
- Oliveira, G. M. 1998. Disponibilidade de recursos florais para beija-flores num cerrado de Uberlândia, MG. Dissertação de Mestrado. Universidade de Brasília, Distrito Federal.
- Oliveira, P. E. & Gibbs, P. E. 2000. Reproductive biology of woody plants in a cerrado community of Central Brazil. *Flora* 195: 311-329.
- Ornduff, R. 1979. Heterostyly in *Oplania* (Acanthaceae). *Journal Arnold Arboretum* 60: 382-385.

- Ornduff, R. 1980. Heterostyly, population composition and pollen flow in *Hedyotis caerulea*. American Journal of Botany 67: 95-103.
- Ortiz, P. L. Arista, M. & Tavalera S. 2000. Pollination and breeding systems of *Putoria calabrica* (Rubiaceae), a Mediterranean Dwarf Shrub. Plant Biology 2: 325-330.
- Pailler, T. & Thompson, J. D. 1997. Distyly and variation in heteromorphic incompatibility in *Gaertnera vaginata* (Rubiaceae) endemic to La Reunion Island. American Journal of Botany 84: 315-317.
- Pailler, T., Humeau, L. & Figier, J. 1998. Reproductive trait variation in the functionally dioecious and morphologically heterostylous island endemic *Chassalia corallioides* (Rubiaceae). Biological Journal of the Linnean Society 64: 297-313.
- Passos, L. & Sazima, M. 1995. Reproductive biology of the distylous *Mannetia luteo-rubra* (Rubiaceae). Botanica Acta 108: 309-313.
- Philipp, M. & Schou, O. 1981. An unusual heteromorphic incompatibility system – distyly, self-incompatibility, pollen load and fecundity in *Anchusa officinalis* (Boraginaceae). New Phytologist 89: 693-703.
- Piratelli, A. J. 1997. Comportamento alimentar de beija-flores em duas espécies de *Hippeastrum* Herb. (Amaryllidaceae). Revista Brasileira de Biologia 57 (2): 261-273.
- Primack, R. B. & Howe, H. F. 1975. Interference competition between a hummingbird (*Amazilia tzacatl*) and skipper butterflies (Hesperiidae). Biotropica 7: 55-58.
- Primack, R. B. 1985. Longevity of individual flowers. Annual Reviews Ecological Systematics 16: 15-37.
- Radford, A. E., Dicikson, W. C. Massey, J. R. & Bell, C. R. 1974. Vascular plants systematics. Harper & Row Publishers Inc., New York.
- Ratter, J. A., Ribeiro, J. F. & Bridgewater, S. 1997. The brasilian cerrado vegetation and threats to its biodiversity. Annals of Botany 80: 223-230.
- Richards, A. J. 1986. Plant breeding systems. Allen & Unwin, London.

- Richards, J. H. & Koptur, S. 1993. Floral variation and distyly in *Guettarda scabra* (Rubiaceae). *American Journal of Botany* 80 (1): 31-40.
- Riveros, G. M., Barria, O. R. & Humanã, A. M. 1995. Self-compatibility in distylous *Hedyotis salzmännii* (Rubiaceae). *Plant Systematics and Evolution* 194: 1-8.
- Robbrecht, E. 1988. Tropical woody Rubiaceae. *Opera Botanica Belgica* 1: 1-271.
- Rosa, R., Lima, S. C. & Assunção, W. L. 1991. Abordagem preliminar das condições climáticas de Uberlândia (MG). *Sociedade e Natureza* 3: 91-108.
- Sarmiento, G. & Monasterio, M. 1983. Life forms and phenology. In *Ecosystems of the world: tropical savannas* (F. Bouliere, ed.) Elsevier Science, Amsterdam, p.79-108.
- Schiavini, I. & Araújo, G. M. 1989. Considerações sobre a vegetação da Reserva Ecológica do Panga, Uberlândia, MG. *Sociedade e Natureza* 1:61-66.
- Silva, A. P. 1995. Biologia reprodutiva e polinização de *Palicourea rigida* H. B. K. (Rubiaceae). Tese de Mestrado. Universidade de Brasília (UnB), Depto. de Botânica. 106 p.
- Snow, D. W. & Snow, B. K. 1986. Feeding ecology of hummingbirds in the Serra do Mar, Southeastern Brazil. *El Hornero* 12: 286-296.
- Sobrevila, C., Ramirez, N. & Enrech, N. X. 1983. Reproductive biology of *Palicourea fendleri* and *P. petiolares* (Rubiaceae), heterostylous shrubs of a tropical cloud forest in Venezuela. *Biotropica* 15 (3): 161-169.
- Solomon, J. 2003. Missouri Botanical Garden. <http://www.mobot.org> (acesso em 10/11/2003).
- Stone, J. L. 1996. Components of pollination effectiveness in *Psychotria suerrensis*, a tropical distylous shrub. *Oecologia* 107: 504-512.
- Stratton, D. A. 1989. Longevity of individual flowers in a Costa Rican cloud forest: ecological correlates and phylogenetic constraints. *Biotropica* 21: 308-318.
- Taylor, C. M. 1996. Overview of the Psychotrieae (Rubiaceae) in the Neotropics. *Opera Botanica Belgica* 7: 261-270.

- Thomas, C. D., Lackie, P. M., Brisco, M. J. & Hepper, D. N. 1986. Interactions between hummingbirds and butterflies at a *Hamelia patens* Bush. *Biotropica* 18 (2): 161-165.
- Thompson, J. D. & Dommée, B. 2000. Morph-specific patterns of variation in stigma height in natural populations of distylous *Fasminum fruticans*. *New Phytologist* 148: 303-314.
- Thompson, J. D. 2001. How do visitation patterns vary among pollinators in relation to floral display and floral design in generalist pollination system? *Oecologia* 126: 386-394.
- Webb, C. J. & Bawa, K. S. 1983. Pollen dispersal by hummingbirds and butterflies: a comparative study of two lowland tropical plants. *Evolution* 37: 1258-1270.
- Weeb, C. J. & Lloyd, D. G. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in Angiosperms II. Hecogamy. *New Zealand Journal of Botany* 24: 163-178.
- Wolff, D., Braun, M. & Liede, S. 2003. Nocturnal versus diurnal pollination success in *Isertia laevis* (Rubiaceae): A sphingophilous plant visited by hummingbirds. *Plant Biology* 5: 71-78.