

Natan Messias de Almeida

**Biologia reprodutiva de espécies de
Chamaecrista Moench. (Fabaceae-
Caesalpinioideae) em uma área de
restinga de Pernambuco.**

Recife, 2011

Natan Messias de Almeida

**Biologia reprodutiva de espécies de
Chamaecrista Moench. (Fabaceae-
Caesalpinioideae) em uma área de
restinga de Pernambuco.**

Orientadora: Dra. Cibele Cardoso de Castro

Co orientadora: Dra. Ana Virgínia Leite

Co orientadora: Dra. Isabel Cristina Machado

Recife, 2011

Ficha catalográfica

A447b Almeida, Natan Messias de
Biologia reprodutiva de espécies de *Chamaecrista*
Moench. (Fabaceae – Caesalpinioideae) em uma área de
restinga de Pernambuco / Natan Messias de Almeida. – 2011.
67 f.: il.

Orientadora: Cibele Cardoso de Castro.
Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade
Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Biologia,
Recife, 2011.

Inclui referências e anexo.

1. Enantiostilia 2. *Chamaecrista* 3. Biologia reprodutiva
I. Castro, Cibele Cardoso de, orientadora II. Título

CDD 581

NATAN MESSIAS DE ALMEIDA
BIOLOGIA REPRODUTIVA DE ESPÉCIES DE *Chamaecrista* Moench.
(FABACEAE-CAESALPINIOIDEAE) EM UMA ÁREA DE RESTINGA DE
PERNAMBUCO

Dissertação apresentada e _____ em ____/____/____

Orientadora:

Profa. Dra. Cibele Cardoso de Castro - UFRPE

Co orientadoras:

Profª. Drª. Ana Virgínia de Lima Leite – UFRPE

Profa. Drª. Isabel Cristina S. Machado – UFPE

Examinadores:

Profª Elcida de Lima Araújo - UFRPE (Titular)

Profª. Drª. Tarcila Correia de Lima Nadia - UFPE (Titular)

Profª. Drª. Elisângela Lúcia de Santana Bezerra - UFPE (Titular)

Profº Dr. André Maurício Santos – UFPE (Suplente)

Recife, 2011

As minhas mães.

Agradecimentos

A minha mãe (Vera) por tudo, mas principalmente por fazer dos meus problemas, dificuldades e derrotas as menores coisas e das minhas vitórias e conquistas as maiores.

Ao meu irmão (Jesse) pelo apoio direto e indireto em todos os momentos.

A minha orientadora Cibele, por todo apoio, compreensão e humanidade peculiar.

As minhas co orientadoras Virgínia e Isabel, pela colaboração e não menor compreensão.

A minha Magrela (Andrezza) pelo companheirismo e lealdade.

Aos colegas de laboratório, pelo auxílio na realização dos trabalhos.

Ao amigo e companheiro de campo Rodrigo, sem o qual a realização e resultado do trabalho seriam diferentes (melhor ou pior).

Aos amigos Eduardo, Rafael, Paulo, Saulo, Leonardo, Leninha pela contribuição direta e indireta para a realização deste trabalho.

Aos colegas e amigos do programa, em especial aos integrantes do LEVEN, Josi, Dani e Thiago pela convivência e apoio (socorro) prestado em todas as horas.

A administração da RPPN Nossa Senhora do Oiteiro e especial ao seu Zé e família pela permissão da realização da pesquisa na área e apoio no campo.

A todos integrantes do programa, professores e funcionários pelo apoio em diversos momentos.

Ao CNPq pela bolsa concedida.

Obrigado.

“É interessante contemplar uma ribeira luxuriante, atapetada com numerosas plantas pertencentes a numerosas espécies, abrigando aves que cantam nos ramos, insetos variados que volitam aqui e ali, vermes que rastejam na terra úmida, se pensarmos que estas formas tão admiravelmente construídas, tão diferentemente conformadas, e dependentes umas das outras de uma maneira tão complexa, têm sido todas produzidas por leis que atuam em volta de nós”.

Charles Darwin

Sumário

Resumo Geral	viii
General Abstract	ix
1. Introdução	10
2. Revisão bibliográfica	12
3. Referências bibliográficas	16
4. Capítulo 1. Enantiofilia em <i>Chamaecrista ramosa</i> (Fabaceae-Caesalpinioideae): padrões de captação e deposição pólen	20
Resumo	21
Introdução	22
Material e métodos	23
Resultados	26
Discussão	29
Referências	32
5. Capítulo 2. Polimorfismo em flores de <i>Chamaecrista flexuosa</i> : um exemplo de enantiofilia atípica?	44
Resumo	45
Introdução	46
Material e métodos	47
Resultados	50
Discussão	52
Referências	55
6. Anexos	68

Lista de tabelas

Capítulo 1

- Tabela 1.** Resultados dos testes do sistema reprodutivo de *Chamaecrista ramosa* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil. CO=controle; AE=autopolinização espontânea; AM=autopolinização manual; PC=polinização cruzada (Receptor x doador). **35**
- Tabela 2.** Ocorrência dos morfos E e D em diferentes agrupamentos em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil. **36**
- Tabela 3.** Comportamento dos visitantes florais das flores de *Chamaecrista ramosa* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil. **37**
- Tabela 4.** Locais de deposição (D) e captação (c) de pólen em diferentes partes do corpo de diferentes indivíduos visitantes das flores de *Chamaecrista ramosa* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil. **38**
- Tabela 5.** Número médio de grãos de pólen retirados das pétalas “a”, “b” e “c”, nos diferentes morfos florais, após a ocorrência de visitas em flores de *Chamaecrista ramosa* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil. **39**

Capítulo 2

- Tabela 1.** Resultados do sistema reprodutivo de *Chamaecrista flexuosa* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil. D= flores direitas; E= flores esquerdas; C= flores centrais. N° de flores/frutos formados. **59**
- Tabela 2.** Comportamento dos visitantes florais das flores de *Chamaecrista flexuosa* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil. **60**
- Tabela 3.** Ocorrência de diferentes morfos das flores de *Chamaecrista flexuosa*, pela análise da pétala falcada (morfologia) em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil. ME= flor morfológicamente esquerda; MD= flor morfológicamente direita. **61**
- Tabela 4.** Ocorrência de diferentes morfos das flores de *Chamaecrista flexuosa*, pela análise do deslocamento do estigma (funcionalidade) em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil. FE= flor funcionalmente esquerda; FD= flor funcionalmente direita; FC= flor funcionalmente central. **62**

Lista de figuras

Capítulo 1

- Figura 1.** Flores direita (A) e esquerda (B) da espécie enantiostílica *Chamaecrista ramosa* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil. **40**
- Figura 2.** Principais locais de deposição e captação de pólen nas abelhas visitantes de *Chamaecrista ramosa* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil. A) locais de deposição de pólen no dorso dos visitantes; B) locais de deposição de pólen no ventre dos visitantes; C) locais de captação de pólen pelos estigmas das flores de *Chamaecrista ramosa*. **41**
- Figura 3.** Frequência de visitas dos principais visitantes das flores de *Chamaecrista ramosa* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil. **42**
- Figura 4.** Acomodação das pétalas durante as visitas dos polinizadores às flores de *Chamaecrista ramosa* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil. A) Flor na ausência do visitante (vista frontal); B) Flor na presença do visitante (vista frontal); C) Flor na ausência do visitante (vista lateral); D) Flor na presença do visitante (vista lateral). **43**

Capítulo 2

- Figura 1.** Flores direita (A) e esquerda (B) mostrando a pétala diferenciada (falcada) (C) da espécie enantiostílica *Chamaecrista flexuosa* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil. **63**
- Figura 2.** Frequência de visitas às flores de *Chamaecrista flexuosa* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil. **64**
- Figura 3.** Locais de deposição de pólen nas abelhas visitantes de *Chamaecrista flexuosa* **65**
- Figura 4.** Frequência dos morfos florais em relação a morfologia da pétala falcada em flores de *Chamaecrista flexuosa* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil **66**
- Figura 5.** Ocorrência dos morfos florais em relação a funcionalidade em flores de *Chamaecrista flexuosa* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil. **67**

Resumo Geral

A enantiostilia é um polimorfismo que representa um exemplo de hercogamia recíproca, caracterizando-se por apresentar morfos florais que diferem reciprocamente em relação ao posicionamento dos elementos sexuais, resultando em flores que formam imagens especulares. Um morfo floral apresenta esses elementos voltados para o lado direito e no outro morfo esses elementos estão no lado esquerdo. Este mecanismo é interpretado como uma estratégia que maximiza a polinização cruzada. Muitas espécies do gênero *Chamaecrista* vêm sendo relatadas como enantiostílicas monomórficas, ou seja, apresentam os dois morfos florais em um mesmo indivíduo. Tendo em vista a alta representatividade do gênero em restingas, que são ambientes extremamente ameaçados, e a inexistência de estudos que investiguem mais profundamente a enantiostilia, este trabalho teve como objetivo investigar a biologia reprodutiva de duas espécies do gênero *Chamaecrista* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil enfocando os aspectos da enantiostilia. No primeiro capítulo a funcionalidade da enantiostilia em *C. ramosa*, foi verificada por meio de dados referentes à biologia floral, comportamento dos visitantes, sistema reprodutivo e aspectos da biologia reprodutiva. Esta espécie apresentou padrões de deposição e captação de pólen, típicos de espécies enantiostílicas descritas por outros estudos. Mostrou-se autocompatível, sendo visitada exclusivamente por abelhas. No segundo capítulo foi investigada a enantiostilia na espécie *C. flexuosa*, através de aspectos morfológicos, morfométricos e reprodutivos. A espécie apresentou morfologicamente, dois morfos florais (direito e esquerdo), quando se avaliou apenas a morfologia, e funcionalmente, três morfos (direito, esquerdo e central), através da análise morfométrica, o que pareceu favorecer a sua aptidão reprodutiva. Levando em consideração os resultados aqui encontrados é possível dizer que a enantiostilia nas espécies estudadas apresenta diferentes funcionalidades, o que mostra uma tendência de desvios nesse mecanismo, no entanto se desconhece para a enantiostilia quais as forças evolutivas que determinam tais variações.

Palavras chave: Cassiinae, *Chamaecrista*, Biologia reprodutiva, Hercogamia recíproca, Enantiostilia.

General Abstract

Enantiostyly is a floral polymorphism that includes reciprocal herkogamy, resulting in flowers that form mirror images. One floral morph present sexual elements positioned at the right side of the flower and the other morph present these elements turned to the left. This mechanism is interpreted as a strategy that maximizes cross pollination. Many species of the genus *Chamaecrista* have been recorded as monomorphic enantiostylous, then, present two floral morphs in the same individual. Considering that the genus is very common in restinga vegetation, that is an extremely altered ecosystem, and the lack of knowledge in relation to several aspects of enantiostyly, the aim of this study is to investigate the reproductive biology of two *Chamaecrista* species in an area of restinga vegetation of Pernambuco state, Brazil, focusing aspects of enantiostyly. The first chapter includes the investigation of the functioning of enantiostyly in *C. ramosa* through data on floral biology, floral visitors' behavior, breeding system and other aspects related to the reproductive biology. This species presented patterns of pollen deposition and capture that are typical of enantiostylous species described by other studies. It is self-compatible, being visited exclusively by bees. The second chapter reports the enantiostyly in *C. flexuosa*, including morphological, morphometric and reproductive aspects. Taking into account only the floral morphology, the species presents two floral morphs (left and right), but when the functioning of the enantiostyly was checked, a third floral morph was recognized (central). Considering the results obtained here, it is possible to conclude that the enantiostyly presents different functions in the two species, suggesting the possibility of deviations of the classical pattern of enantiostyly.

Key words: Cassiinae, *Chamaecrista*, reproductive biology, reciprocal herkogamy, enantiostyly.

1. Introdução

A família Fabaceae (Leguminosae) constitui um dos grupos vegetais que apresentam maior distribuição geográfica no mundo (BORTOLUZZI et al. 2007), sendo a terceira maior família das Angiospermas depois de Asteraceae e Orchidaceae, com importância econômica equiparada apenas a Poaceae (GUNN 1984). A família consiste no elemento principal de muitos tipos vegetacionais (LEWIS 1987), inclusive no Brasil, onde são encontrados cerca de 200 gêneros e 1500 espécies distribuídas em vários ecossistemas, como cerrado, caatinga, mata atlântica, restinga e floresta amazônica (SOUZA & LORENZI 2005).

Devido à ampla distribuição e diversidade de espécies, a família Fabaceae apresenta grande espectro nos seus sistemas de polinização (ARROYO 1981; ENDRESS 1994; PÉREZ-BAÑÓN et al. 2003). Em estudos desenvolvidos com as espécies *Chamaecrista debilis*, *Senna sylvestris*, *S. corymbosa*, *S. macranthera* var. *pubibunda*, *S. gardneri* e *Dioclea lasiocarpa* foi verificado que as flores enquadravam-se na síndrome da melitofilia descrita por Faegri e Pijl (1979), o que pode ser comprovado com a observação de abelhas visitantes dessas espécies (BORGES et al. 2002; AGUIAR et al. 2003; CARVALHO & OLIVEIRA 2003; LAPORTA 2005; NASCIMENTO & DEL-CLARO 2007). Embora a família Fabaceae seja predominantemente polinizada por abelhas, podemos encontrar algumas leguminosas adaptadas à polinização por lepidópteros, morcegos e algumas espécies das tribos Sophoreae e Phaseoleae polinizadas por aves (ARROYO 1981). Outras espécies são generalistas, como por exemplo *Inga striata*, que é visitada por abelhas, beija-flores e esfingídeos, apesar de apresentar atributos de flores esfingófilas (NETO et al. 2007).

Dentro da família Fabaceae, a subtribo Cassiinae (*Chamaecrista*, *Senna* e *Cassia*) apresenta representantes com morfologia floral bastante peculiar. Suas espécies apresentam flores comumente chamadas de flores de pólen (VOGEL 1978), com anteras poricidas alongadas, tendo apenas pólen como recurso e número elevado de grãos (FAEGRI & PIJL 1979). Estas espécies geralmente são polinizadas por abelhas grandes em um processo denominado polinização por vibração ou “buzz pollination” (BUCHMAN 1983). Segundo Vogel (1978), as flores que oferecem apenas pólen devem ter sofrido uma pressão para limitar o acesso dos visitantes ao seu recurso,

limitando também o espectro de visitantes florais, já que apenas um pequeno grupo de abelhas é capaz de vibrar as anteras (ENDRESS 1994).

Em flores de *Senna* Mill. e *Chamaecrista* Moench, nas quais ocorrem diferentes tipos de estames (estames heteromorfos) com anteras poricidas, existe uma separação do pólen utilizado para polinização daquele coletado pelas fêmeas de abelhas para alimentação das larvas (WESTERKAMP 2004). Este processo pode ser verificado em várias espécies de Cassiinae, tais como *Senna corymbosa* e *S. sylvestris*, que apresentam estames com grãos de pólen férteis, mas parte dos grãos é destinada à alimentação dos visitantes (CARVALHO & OLIVEIRA 2003; LAPORTA 2005).

Algumas espécies da subtribo Cassiinae apresentam um tipo de hercogamia recíproca denominada enantiostilia (IRWIN & BARNEBY 1982). A enantiostilia consiste na presença de flores que formam imagens especulares umas das outras, em relação ao posicionamento dos elementos sexuais (JESSON & BARRET 2002), podendo ocorrer diferentes morfos num mesmo indivíduo ou indivíduos com um único morfo floral (BARRET 2002). Embora este mecanismo reprodutivo esteja geralmente associado a pressões seletivas que favorecem a polinização cruzada (TOOD 1822; KNUTH 1906; IRWIN & BARNEBY 1976; DULBERGER 1981; GOTTSBERGER & SILBERBAUER-GOTTSBERGER 1988; BAHADUR et al 1990; FENSTER 1995; LAPORTA 2005), são necessários mais estudos para a definição da sua verdadeira função (THORP & ESTES 1975; JESSON & BARRET 2002).

Tendo em vista a grande representatividade das espécies da subtribo Cassiinae em vários ecossistemas, o conhecimento das suas estratégias reprodutivas é imprescindível para elaboração de projetos que visem à manutenção dessas espécies em seus ambientes naturais, pois, apesar do número de estudos existentes, ainda são poucos os trabalhos realizados acerca da biologia reprodutiva dessas espécies (CARVALHO & OLIVEIRA 2003). Com isso, são necessários estudos envolvendo aspectos da reprodução destas espécies, para um maior conhecimento dos mecanismos desenvolvidos pelas mesmas, em ambientes com certo grau de perturbação (VIANA & PINHEIRO 1998). Sendo assim, este estudo tem como objetivo compreender as estratégias reprodutivas desenvolvidas por espécies do gênero *Chamaecrista* em uma área de restinga em Pernambuco.

2. Revisão bibliográfica

2.1 Representação e distribuição da família Fabaceae (Leguminosae), da subfamília Caesalpinioideae e do gênero *Chamaecrista*

A família Fabaceae possui cerca de 727 gêneros e 19.325 espécies (LEWIS et al. 2005), dos quais para o Brasil, foram identificados cerca de 200 gêneros e 1500 espécies em vários tipos de formações vegetais (LIMA 2000; SOUZA & LORENZI 2005). Tradicionalmente a família é dividida em três subfamílias (Caesalpinioideae, Mimosoideae e Papilionoideae) e 36 tribos, dentro da ordem Fabales. Contudo, Cronquist (1988) e outros autores preferiram reconhecer a família Leguminosae em três famílias distintas: Fabaceae, Caesalpinaceae e Mimosaceae (SOUZA & LORENZI 2005). Os especialistas da família não aceitaram o posicionamento dos autores, com o argumento de que estas três famílias não constituem grupos monofiléticos, o que é confirmado em cada novo trabalho (SOUZA & LORENZI 2005). Recentes estudos filogenéticos vêm apontando para o reconhecimento de três subfamílias monofiléticas em Fabaceae (Cercideae, Mimosoideae e Faboideae), além de Caesalpinioideae, que é parafilética (SOUZA & LORENZI 2005).

A subfamília Caesalpinioideae compreende 171 gêneros e 2.250 espécies (LEWIS et al. 2005), abundantes na América do Sul, África tropical e sudeste da Ásia (COWAN 1981). Estes gêneros estão subordinados a cinco tribos: Caesalpinieae, Cassieae, Cercideae, Detarieae e Macrolobieae (LEWIS e POLHILL, 1998). No Brasil ocorrem 64 gêneros e 790 espécies dessa subfamília (BARROSO et al. 1991). Dentro de Fabaceae a subfamília Caesalpinioideae tem sido tratada como a mais primitiva e a menos entendida até o momento (CONCEIÇÃO et al. 2001).

Chamaecrista Moench é o maior gênero da subfamília Caesalpinioideae, com 330 espécies distribuídas nas áreas tropicais da América, África e Ásia (LEWIS et al. 2005). No Brasil este gênero é representado por 232 espécies distribuídas em vários ambientes (IRWIN & BARNEBY 1982), algumas das quais apresentam centros de diversidade e radiação na região Nordeste (HERENDEEN 2001). O gênero *Chamaecrista* Moench está subordinado à subtribo Cassinae IRWIN & BARNEBY incluída na tribo Cassieae Bronn juntamente com os gêneros *Cassia* L. e *Senna* Mill. (IRWIN & BARNEBY 1982). As espécies de *Chamaecrista* e *Senna* eram incluídas em

Cassia até o tratamento taxonômico de Irwin & Barneby (1982), quando estes gêneros foram separados.

2.2 *Enantiostilia*

Junto com a heterostilia, a enantiostilia representa um exemplo de hercogamia recíproca, caracterizando-se por apresentar morfos florais que diferem reciprocamente (BARRET 2002). No caso da enantiostilia essa reciprocidade refere-se à posição das estruturas femininas, onde indivíduos enantiostílicos apresentam flores com o gineceu voltado para a direita ou esquerda em relação ao centro floral, resultando em flores que formam imagens espaciais (JESSON & BARRET 2002).

A enantiostilia pode ocorrer nas formas monomórfica e dimórfica. No primeiro caso os indivíduos apresentam flores de diferentes morfos de forma aleatória (randômica), de forma alternada (não randômica) ou até mesmo um único morfo por inflorescência. Na enantiostilia dimórfica os indivíduos apresentam apenas um morfo floral, o que gera indivíduos com gineceu voltado para a esquerda e indivíduos com gineceu voltado para a direita (BARRET 2002).

Cerca de 13 famílias de Angiospermas possuem espécies enantiostílicas, sendo 10 famílias de Monocotiledôneas e Eudicotiledôneas do tipo monomórfica e três famílias de Monocotiledôneas do tipo dimórfica (BARRET 2002). Evidências mostram que espécies enantiostílicas possuem como ancestrais representantes com estilete em uma única posição, passando ao tipo monomórfico e posteriormente à forma dimórfica (JESSON & BARRET 2003).

Apesar do conhecimento da enantiostilia não ser recente, pouco se sabe sobre a sua real funcionalidade. Estudos recentes têm tentado mostrar o porquê da existência de flores enantiostílicas (BARRET, JESSON & BAKER 2000), a maior parte dos quais aponta para uma tendência comum das flores enantiostílicas em favorecer a transferência de pólen entre flores de morfos diferentes, por polinização cruzada (TOOD 1822; KNUTH 1906; IRWIN & BARNEBY 1976) ou por geitonogamia (DULBERGER 1981; GOTTSBERGER & SILBERBAUER-GOTTSBERGER 1988; BAHADUR et al. 1990; FENSTER 1995; LAPORTA 2005). Flores com o gineceu voltado para a direita captam pólen do lado direito e depositam pólen no lado esquerdo dos polinizadores, e flores com o gineceu voltado para a esquerda captam pólen do lado

esquerdo e depositam pólen no lado direito do polinizador (BAHADUR et al. 1990). Por outro lado, Dulberger (1981) afirma que a enantiostilia surgiu com a finalidade de proteger o gineceu do processo de polinização por vibração exercido pelas abelhas visitantes, que poderia danificá-lo devido à fragilidade dessa estrutura. Contudo, outros autores acreditam que são necessários mais estudos para definição da verdadeira funcionalidade da enantiostilia (THORP & ESTES 1975; JESSON & BARRET 2002).

2.3 Polinização por vibração X *Cassiinae*

Cerca de 15.000 a 20.000 espécies de Angiospermas apresentam flores com anteras poricidas (BUCHMANN 1983). As famílias Fabaceae (*Cassiinae*), Solanaceae, Melastomataceae e Ochnaceae abrigam espécies com este tipo de deiscência e geralmente não possuem nectários (BUCHMANN 1983; NADIA & MACHADO 2005). Estas espécies, denominadas flores de pólen (VOGEL 1978), são polinizadas exclusivamente por abelhas fêmeas (uma vez que os machos não utilizam este recurso) que vibram suas anteras através de um comportamento chamado de polinização por vibração ou “buzz-pollination”. Estes movimentos de vibração são provocadas por contrações da musculatura alar das abelhas, promovendo a adesão do pólen à região ventral do mesossoma dos visitantes, sendo posteriormente transferido para a escopa (BUCHMANN 1983). Estudos mostram que a ocorrência de forças eletrostáticas no momento da vibração favorecem esta adesão dos grãos ao corpo dos visitantes (ERICKSON 1975; THORP 1979; CORBERT et al. 1982; ERICKSON & BUCHMAN 1983).

De acordo com o comportamento da visita, as abelhas que visitam flores de pólen são classificadas em três categorias: vibradoras, representadas pelas abelhas que realmente transmitem vibrações para as anteras, promovendo a liberação do pólen para poder coletar pólen; mordedoras, representadas por abelhas que danificam as anteras, mastigando-as, para coletar o pólen; coletoras, representadas por aquelas abelhas que recolhem o pólen que se encontra na superfície da flor após esta ter sido vibrada, e com a subcategoria espremedoras (“milking”) (WILLE 1963; BUCHMANN et al. 1977; MICHENER 1962; BEZERRA & MACHADO 2003; NADIA & MACHADO 2005).

Nas espécies da subtribo *Cassiinae*, de maneira geral, e nos gêneros *Chamaecrista* Moench e *Senna* Mill., em especial, as flores apresentam anteras de

deiscência poricida, dependendo exclusivamente de abelhas capazes de vibrar os estames para a liberação do pólen (BUCHMANN 1983; GOTTSBERGER & SILBERBAUER - GOTTSBERGER 1988). De acordo com Westerkamp (2004), nestes gêneros existe uma separação do pólen utilizado para polinização daquele coletado pelas fêmeas para provisão larval, devido à presença de anteras morfológicamente distintas. Estes polinizadores são geralmente abelhas grandes, com alto grau de especialização (FORNI-MARTINS et al. 1998; FRANKIE et al. 1983) que conseguem “abraçar” as peças florais e realizar vibrações (GOTTSBERGER & SILBERBAUER-GOTTSBERGER 1988). Desta maneira, estas abelhas especializadas, geralmente solitárias, possuem papel importante na manutenção das espécies vegetais (SCHLINDWEIN 2000).

2.4 Sistemas reprodutivos na subtribo Cassiinae

São poucos os trabalhos relacionados ao sistema reprodutivo das espécies da subtribo Cassiinae. Segundo ARROYO (1981), mecanismos de autoincompatibilidade gametofítica são comuns na subfamília Caesalpinioideae. Devido ao tipo de estigma úmido, esse mecanismo foi inferido para espécies de Cassiinae (OWENS & LEWIS 1989).

Em estudos desenvolvidos com espécies do gênero *Senna* Mill. foi detectada autocompatibilidade (RIBEIRO & LOVATO 2004; LAPORTA 2005; LEITE & MACHADO 2010), com exceção das espécies *Senna sylvestris* e *S. multijugata*, que são autoincompatíveis, não agamospérmicas e não formaram frutos por autopolinização espontânea (CARVALHO & OLIVEIRA 2003). A espécie *Senna corymbosa* similarmente a *Senna sylvestris* também não formou frutos por autopolinização espontânea (LAPORTA 2005).

Espécies do gênero *Chamaecrista* também se mostraram dependentes dos polinizadores para a formação de frutos. Em pesquisas realizadas com as espécies *C. devauxii* var. *latisipula*, *C. devauxii* var. *graminea* e *C. keyensis* todas se mostraram autocompatíveis, com as duas primeiras não formando frutos por autopolinização espontânea (LIU & KOPTUR 2003; COSTA et al. 2007).

Dulberger (1981) descreveu autocompatibilidade para as espécies *Cassia didymotrya* e *Cassia auriculata*, demonstrando uma tendência para as espécies da subtribo Cassinae.

3. Referências bibliográficas

- AGUIAR, C.M.L.; ZANELLA F.C.V.; MARTINS, C.F. & DE CARVALHO, C.A.L. 2003. Plantas Visitadas por *Centris* spp. (Hymenoptera: Apidae) na Caatinga para obtenção de recursos florais. *Neotropical Entomology* 32 (2):247-259.
- ARROYO, M.T.K. 1981. Breeding systems and pollination biology in Leguminosae. In *Advances in Legume Systematics* (R.M. Polhill & P.H. Raven, eds.) (Part 2). Royal Botanic Gardens, Kew, p.723-769.
- BAHADUR, B.; A. CHATUVERDI & N. RAMA SWARY. 1990. S.E.M. studies of pollen in relation to enantiostyly.
- BARRETT, S. C. H., JESSON, L. K. & BAKER, A. M. 2000. The evolution and function of stylar polymorphisms in flowering plants. *Ann. Bot.* 85, 253–265.
- BARRETT, S.C.H. 2002. The evolution of plant sexual diversity. *Nature Reviews Genetics* 3: 274–284.
- BEZERRA, E.L.S. & MACHADO, I.C. 2003. Biologia floral e sistema de polinização de *Solanum stramonifolium* Jacq. (Solanaceae) em remanescente de Mata Atlântica – Pernambuco. *Acta Botanica Brasilica* 17:247-257.
- BORGES, M.S.; VIANA, B.F. & NEVES, E.L. 2002. Aspectos da estratégia reprodutiva de duas espécies co-ocorrentes de *Senna* (K.Bauhin) P.Miller (Caesalpinaceae) nas dunas do médio rio São Francisco, Bahia. *Sitientibus Série Ciências Biológicas* 2(1/2): 49-54.
- BORTOLUZZI, R.L.C.; MIOTTO, S.T.S. & REIS, A. 2007. Novos registros de *Chamaecrista* Moench e *Senna* Mill. (Leguminosae-Caesalpinioideae-Cassieae) na flora sul-brasileira. *Iheringia, Série Botânica*, Porto Alegre, v. 62, n. 1-2, p. 121-130.
- BUCHMAN, S.L. 1983. Buzz pollination in angiosperms. In *Handbook of Experimental Pollination* (C.E. Jones & R.J. Little, eds.). Van Nostrand Reinhold, New York, p.73-113.

- CARVALHO, D.A., OLIVEIRA, P.E. 2003. Biologia reprodutiva e polinização de *Senna sylvestris* (Vell.) H. S. Irwin and Barneby (Leguminosae, Caesalpinioideae). *Revista Brasileira de Botânica* 26: 319–328.
- COSTA, C.B.N.; LAMBERT, S.M.; BORBA, E.L. & DE QUEIROZ, L.P. 2007. Postzygotic reproductive isolation between sympatric taxa in the *Chamaecrista desvauxii* complex (Leguminosae-Caesalpinioideae). *Ann Bot* 99: 625–635.
- CRESPO, M.B. 2003. The reproductive ecology of *Medicago citrina* (Font Quer) Greuter (Leguminosae): a bee-pollinated plant in mediterranean islands where bees are absent. *Plant Systematics and Evolution* 241:29-46.
- CRONQUIST, A. 1988. The evolution and classification of flowering plants. 2nd. ed. The New York Botanical Garden, Bronx, New York.
- DULBERGER, R. 1981. The floral biology of *Cassia didymobotrya* and *C. auriculata* (Caesalpinaceae). *American Journal of Botany* 68: 1350–1360.
- ENDRESS, P.K. 1994. Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge University Press, Cambridge.
- ERICKSON, E.H. & BUCHMANN, S.L. 1983. Electrostatics and pollination. Pp. 173-184. In: C.E. Jones & R.J. Little (eds.). *Handbook of experimental pollination biology*. Scientific and Academic Editions, New York.
- FAEGRI, K. & VAN DER PIJL, L. 1979. The principles of pollination ecology. 3ed. Pergamon Press, London.
- FENSTER, CB. 1995. Mirror image and their effect on outcrossing rate in *Chamaecrista fasciculata* (Leguminosae). *American Journal of Botany* 82: 46–50.
- FORNI-MARTINS, E.R.; MARQUES, M.C.M. & LEMES, M.R. 1998. Biologia Floral e Reprodução de *Solanum paniculatum* L. (Solanaceae) no Estado de São Paulo, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 21(2): 117-124.
- FRANKIE, G. W., HABER, W. A., OPLER, P. A. & BAWA, K. S. 1983. Characteristics and organization of the large bee pollination system in the Costa Rica dry forest. In: Jones, C. E. & Little, R. J. (eds.) *Handbook of experimental pollination biology*. p. 411-447.
- GOTTSBERGER, G. & SILBERBAUER-GOTTSBERGER, I. 1988. Evolution of flower structures and pollination in Neotropical Cassiinae (Caesalpinaceae) species. *Phyton* 28:293-320.

- GUNN, C.R.. 1984. Fruits and seeds of genera in the subfamily Mimosoideae (Fabaceae). United States Department of Agriculture Technical Bulletin Number 1681.
- HERENDEEN, P.S. 2001. Structural evolution in the Caesalpinioideae (Leguminosae). In: Herendeen PS, Bruneau A ed(s). Advances in legume systematics: part 9. Kew: Royal Botanic Gardens, Kew, 2000 publ. 2001 pp.45-64.
- IRWIN, H.S. & BARNEBY, R.C. 1976. Notes on the generic of *Chamaecrista* Moench (Leguminosae: Caesalpinioideae). Brittonia, 28: 28 – 36.
- IRWIN, H.S. & BARNEBY, R.C. 1982. The American Cassiinae. Memoirs of the New York Botanical Garden 35:1-918.
- JESSON , L.K. & BARRETT, S.C.H. 2002. Solving the puzzle of mirror-image flowers. Nature 417:707.
- JESSON , L.K., & BARRETT, S.C.H. 2003. The comparative biology of mirror-image flowers. Int. J. Sci., 164 (5 Suppl.): 237-249.
- KNUTH P. 1906. Handbook of flower pollination. Oxford: Clarendon Press.
- LAPORTA, C. 2005. Floral biology and reproductive system of enantiostylous *Senna corymbosa* (Caesalpinaceae). Revista de Biologia Tropical Vol. 53 (1-2): 49-61.
- LEITE, A.V. & MACHADO, I.C. 2010. Reproductive biology of woody species in caatinga, a dry forest of northeastern Brazil. Journal of arid environments. 74, 1374-1380.
- LEWIS, G.P. 1987. Legumes of Bahia. Royal Botanic Gardens, Kew.
- LEWIS, G.P.; SCHRIRE, B; MSCKINDER, B. & LOCK, M. (Ed.). 2005. Legumes of the world. Kew: Royal Botanic Gardens. 577 p.
- LEWIS, G. P.; POLHILL, R. M. 1998. A situação atual da sistemática de Leguminosae neotropicais. In: Congresso Latinoamericano de Botânica, 6., 1994. Mar del Plata. Proceedings... St. Louis: Missouri Botanical Garden Press. p.113-145.
- LIMA, H.C. 2000. Leguminosas arbóreas da Mata Atlântica.141 f. Tese (Doutorado em Ecologia) – Programa de Pós-Graduação em Ciências Biológicas: Botânica. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- LIU, H & KOPTUR, S. 2003. Breeding system and pollination of a narrowly endemic herb of the Lower Florida Keys: impacts of the urban–wildland interface. American Journal of Botany 90: 1180–1187.

- NASCIMENTO, E. DEL-CLARO, K. 2007. Floral visitors of *Chamaecrista debilis* (Vogel) IRWIN & BARNEBY (Fabaceae – Caesalpinoida) at cerrada of estação ecológica de Jataí, São Paulo. State, Brasil. Neotropical Entomology, 36(4): 619- 624.
- NETO, O.C; LOPES, A.C. & MACHADO, I.C. 2007. Ecologia da Polinização de *Inga striata* Benth. (Leguminosae-Mimosoideae) em um remanescente de Mata Atlântica no Nordeste do Brasil. Revista Brasileira de Biociências, Porto Alegre, v. 5, supl. 1, p. 570-572.
- OWENS, S.J. & LEWIS, G.P. 1989. Taxonomic and functional implications of stigma morphology in species of *Cassia*, *Chamaecrista*, and *Senna* (Leguminosae: Caesalpinioideae). Plant Systematics and Evolution, 163: 93-105.
- PÉREZ-BAÑÓN, C., JUAN, A., PETANIDOU, T., MARCOS-GARCIA, M.A. & RIBEIRO, R.A. AND LOVATO, M.B. 2004. Mating system in a neotropical tree species, *Senna multijuga* (Fabaceae). Genet. Mol. Biol. vol.27, n.3, pp. 418-424.
- SCHLINDWEIN, C. 2000. A importância de abelhas especializadas na polinização de plantas nativas e conservação do meio ambiente. Anais do Encontro sobre Abelhas 4: 131-141.
- SOUZA, V.C. & LORENZI, H. 2005. Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum.
- THORP, R.W. & ESTES, J.R. 1975. Intrafloral behavior of bees on flowers of *Cassia fasciculata*. Journal of the Kansas Entomological Society 48:175-184.
- TODD, J.E. 1882. On the flowers of *Solanum rostratum* and *Cassia chamaecrista*. American Naturalist 16: 281– 287.
- VIANA, V. M. & PINHEIRO, L. A. F. V. 1998. Conservação da biodiversidade em fragmentos florestais. Série Técnica IPEFv. 12, n. 32, p. 25-42.
- WESTERKAMP, C. 2004. Ricochet pollination in Cassias – and how bees explain enantiostyly. In: Magalhães FB, Pereira JO, eds. Solitary bees: conservation, rearing and management for pollination. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 225–230.
- VOGEL S. 1978. Evolutionary shifts from reward to deception in pollen flowers. In The pollination of flowers by insects (A.J. Richards, ed.). Academic Press, London, p.89-96.

Capítulo 1

Funcionalidade da enantiofilia em *Chamaecrista ramosa* (Fabaceae- Caesalpinioideae): padrões de captação e deposição pólen

Funcionalidade da enantioestilia em *Chamaecrista ramosa* (Fabaceae-Caesalpinioideae): padrões de captação e deposição pólen

Natan Messias de Almeida¹; Cibele Cardoso de Castro²; Ana Virgínia de Lima Leite² e Isabel Cristina Machado³

¹Programa de Pós-Graduação em Botânica, Universidade Federal Rural de Pernambuco

²Departamento de Biologia, Rua Dom Manoel de Medeiros, S/N - Dois Irmãos, CEP: 51280-400, Recife-PE, Brasil

³Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco

Autor para correspondência: C.C. Castro (cibelecastro@hotmail.com)

Resumo

A enantioestilia é uma hercogamia recíproca, caracterizando-se por apresentar morfos florais que diferem reciprocamente na posição de elementos sexuais, ocorrendo nas formas monomórfica e dimórfica. Esse polimorfismo eleva a polinização cruzada, reduzindo a autopolinização e geitonogamia. Esse mecanismo tem grande representação na subtribo Cassiinae, entretanto são escassos os trabalhos a cerca da investigação da funcionalidade da enantioestilia, sobretudo nesta subtribo. O presente estudo objetivou esclarecer o tipo e a funcionalidade da enantioestilia na espécie *Chamaecrista ramosa*, enfocando processos de captação e deposição de pólen no corpo dos visitantes, relacionado a biologia floral e sistema reprodutivo. O estudo foi conduzido em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, nordeste do Brasil. Foram investigados três aspectos da biologia reprodutiva (o sistema reprodutivo, a deposição e a captação do pólen), a biologia floral, o comportamento dos visitantes e a ocorrência dos distintos morfos florais. A arquitetura das flores, associada ao comportamento das abelhas, proporcionou uma deposição indireta de pólen nos visitantes. A deposição e captação do pólen ocorreram em locais específicos do corpo dos polinizadores, demonstrando a funcionalidade da enantioestilia. A espécie é autocompatível, porém não forma frutos espontaneamente. A proporção de flores dos morfos foi semelhante nos agrupamentos. A deposição indireta de pólen observada em *C. ramosa* difere das Cassiinae, devido à trajetória dos grãos que realizam um giro através do grupo de pétalas. A enantioestilia parece beneficiar a espécie, diminuindo a autogamia e elevando a xenogamia.

Palavras chave: *Chamaecrista ramosa*, enantioestilia, deposição indireta.

Introdução

A enantiostilia representa um exemplo de hercogamia recíproca, caracterizando-se por apresentar morfos florais que diferem reciprocamente (BARRET 2002). Essa reciprocidade refere-se à posição das estruturas femininas, onde indivíduos enantiostílicos apresentam flores com o gineceu voltado para a direita ou esquerda em relação ao centro floral, resultando em flores que formam imagens especulares (JESSON & BARRET 2002). Esse polimorfismo pode ocorrer na forma monomórfica (flores recíprocas em um mesmo indivíduo), e dimórfica (indivíduos apresentam apenas um morfo floral) (BARRET 2002).

Estudos apontam que a enantiostilia surgiu como resultado de pressões seletivas com a finalidade de aumentar a ocorrência da polinização cruzada, reduzindo as taxas de autopolinização e geitonogamia (FENSTER 1995; CARVALHO & OLIVEIRA 2003; WESTERKAMP 2004; LAPORTA 2005;), já que flores enantiostílicas doam e recebem pólen apenas de morfos recíprocos. Por outro lado, DULBERGER (1981) propôs que a enantiostilia surgiu com a finalidade de proteger o gineceu do processo de polinização por vibração, exercido pelas abelhas visitantes, que poderiam danificá-lo devido à fragilidade dessa estrutura.

Esse mecanismo ocorre em cerca de treze famílias de angiospermas (BARRET 2002), tendo grande representação em espécies da subtribo Cassiinae. Flores enantiostílicas têm sido relatadas para espécies do gênero *Senna*, (CARVALHO & OLIVEIRA 2003; RIBEIRO & LOVATO 2004; LAPORTA 2005), *Cassia* (DULBERGER 1981; WESTERKAMP 2004) e *Chamaecrista* (LIU & KOPTUR 2003; COSTA et al. 2007; GÓMEZ 2008; DUTRA 2009).

Devido à disposição das estruturas reprodutivas, alguns autores descrevem mecanismos de deposição direta e indireta dos grãos de pólen em espécies de Cassiinae (WESTERKAMP 2004; LAPORTA 2005; COSTA et al. 2007; GÓMEZ 2008; DUTRA 2009). Contudo esses estudos são relacionados à observação da morfologia das flores ou ao comportamento dos visitantes, sem a utilização de testes que comprovem a ocorrência destes processos.

O presente estudo objetivou esclarecer a funcionalidade da enantiostilia monomórfica em *Chamaecrista ramosa*, testando processos de captação e deposição de pólen no corpo dos visitantes pelas flores da espécie estudada, associados à sua biologia

floral e sistema reprodutivo, respondendo às seguintes perguntas com as respectivas hipóteses: 1) Ocorrem locais específicos de deposição e captação de pólen no corpo das abelhas visitantes dessas flores? 2) Existe uma transferência efetiva de pólen entre flores recíprocas? 3) A deposição do pólen dessas flores é garantida por mecanismos de deposição indireta? 4) A enantioestilia exerce alguma influência sobre o sucesso reprodutivo dessas espécies? 1) As flores da espécie estudada depositam e captam pólen em locais específicos do corpo dos polinizadores. 2) A ocorrência da enantioestilia garante a transferência de pólen em flores recíprocas na espécie. 3) *Chamaecrista ramosa* apresenta mecanismos de deposição de pólen indireto. 4) A enantioestilia garante a diminuição nas taxas de autogamia e eleva as taxas de xenogamia, interferindo no sucesso reprodutivo dessa espécie.

Material e métodos

Local do estudo

O estudo foi conduzido na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Nossa Senhora do Oiteiro de Maracaípe, localizada no Distrito de Nossa Senhora do Ó, Município de Ipojuca, no Litoral Sul de Pernambuco (08^o31'48'' S e 35^o01'05'' W). A RPPN ocupa uma área de 76,2 ha, sendo que 60,96 ha correspondem a vegetação de Restinga e 15,24 ha correspondem a vegetação de manguezal (ALMEIDA JR. et al. 2009). No município de Ipojuca predomina o clima As', quente e úmido, de acordo com o sistema de classificação proposto por Köppen (1948). A precipitação pluviométrica média anual atinge cerca de 2000 mm, com maior concentração no período chuvoso (maio a julho) e os meses outubro, novembro e dezembro como os mais secos (SUDENE 1990; INMET 2005).

Espécie estudada

Chamaecrista ramosa é subarbustiva, formando seis agrupamentos (aproximadamente 380 indivíduos) densos em áreas de campos abertos e em clareiras no interior da mata da RPPN Nossa Senhora do Oiteiro de Maracaípe, com distância mínima próxima a 30 m e máxima próxima a 200 m. É uma espécie enantioestílica monomórfica, que apresenta dois morfos florais distintos, flores direitas (D) e esquerdas (E). Sua floração se estende por todo o ano, com maior número de flores e indivíduos floridos no período de novembro a março.

Biologia floral e Funcionalidade da enantiostilia

Foram analisadas a morfologia floral, a receptividade estigmática (através da técnica de atividade peroxidásica) (KEARNS & INOUE 1993) e a possível presença e localização de osmóforos, através de coloração pela solução aquosa de vermelho neutro (VOGEL 1990). Também foram observados o horário, a sequência e a duração da antese. Para a realização de cada teste foram utilizadas dez flores de cada morfo floral, coletadas de diferentes indivíduos, distribuídos em seis agrupamentos.

Para a verificação da proporção no número de flores dos morfos distintos, dentro e entre os agrupamentos, foram coletadas 562 flores de diferentes indivíduos em seis agrupamentos. Essas flores foram fixadas em álcool 70%, e posteriormente analisadas sob estereomicroscópio, quanto ao morfo floral no Laboratório de Ecologia Reprodutiva de Angiospermas da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE).

Para analisar a funcionalidade da enantiostilia, foram observados e testados três aspectos da biologia reprodutiva de *C. ramosa*: o sistema reprodutivo, a deposição do pólen e a captação desses grãos.

Sistema reprodutivo

Os tratamentos para o teste do sistema reprodutivo foram realizados para a avaliação de possíveis diferenças do sucesso na formação de frutos e sementes entre os dois morfos.

Para a autopolinização manual, flores dos dois morfos (D e E) receberam pólen das suas próprias anteras. Na verificação da autopolinização espontânea foram ensacados botões em pré antese dos morfos D e E, além disso foi criado um terceiro tipo floral, o morfo não enantiostílico (NE), com a finalidade de se observar a interferência da ocorrência da enantiostilia na autopolinização dessa espécie. No tipo NE, o estilete foi amarrado no momento da abertura das flores ao grupo de estames posicionado no centro da pétala curvada, ocasionando a centralização do estigma (JESSON & BARRET 2005), sendo as flores posteriormente ensacadas.

Na polinização cruzada foram realizados cruzamentos intramorfos (DxD e ExE) e intermorfos (DxE e ExD) para verificação de possíveis mecanismos de auto-incompatibilidade existentes entre os distintos morfos. As flores doadoras eram coletadas de agrupamentos distintos das flores receptoras, com distância mínima de 30

m. Após a realização dos cruzamentos, as flores foram ensacadas por todo o período funcional.

No grupo controle, flores dos morfos D, E e NE foram deixadas expostas à ação dos visitantes florais (polinização natural), sendo posteriormente verificado o sucesso na formação de frutos. A criação do morfo NE na polinização natural teve como intuito mostrar uma possível alteração na relação dessas flores com seus visitantes.

Após os tratamentos da autopolinização manual e polinização cruzada, as flores foram ensacadas por todo período de antese.

Para as polinizações realizadas nos tratamentos de autopolinização manual e polinização cruzada foram utilizados grãos de pólen provenientes dos dois grupos de anteras.

O número de flores utilizadas nos diferentes tratamentos do sistema reprodutivo encontra-se descrito na tabela 1.

Deposição e captação do pólen

Para a análise da existência de deposição de pólen em locais específicos nas abelhas, os visitantes (n=22) foram coletados logo após a realização das visitas às flores de diferentes morfos. Posteriormente esses indivíduos foram observados ao estereomicroscópio.

Após a visita das abelhas, foram montadas lâminas com pólen, utilizando gelatina glicerinada, contido nas três pétalas opostas ao gineceu (pétalas a, b, c), (Figura 1), mostrando assim um provável “caminho do pólen” após a ação dos visitantes. Foram montadas 60 lâminas de pétalas (20a; 20b; 20c) de diferentes indivíduos, sendo utilizadas para isto um total de 20 flores (11 direitas e 9 esquerdas).

Para avaliar o local de contato do estigma com o corpo do polinizador, foi colocada cola amarela atóxica no estigma, e posteriormente as abelhas visitantes dessas flores foram coletadas imediatamente após a realização das visitas, sendo observados/monitorados os locais do corpo onde havia vestígios de cola.

Comportamento dos visitantes

O comportamento dos visitantes florais foi determinado através de observações da frequência de visitas, do resultado da visita (se polinizador ou pilhador) e da forma de coleta do recurso (vibradoras, mordedoras ou coletoras) (WILLE 1969). A

freqüência de visitas foi obtida através de 28h de observações a plantas focais, em um período de quatro dias não consecutivos entre os meses de janeiro e março de 2009. Outros aspectos dos comportamentos dos visitantes foram observados durante o período de janeiro de 2009 a agosto de 2010. Alguns visitantes foram capturados, para posterior identificação, com a utilização de redes entomológicas e posteriormente depositados em câmara mortífera.

Análise dos dados

Para avaliar possíveis diferenças no número de frutos formados e proporção dos morfos florais, foram utilizados os testes qui-quadrado e G, e ANOVA para verificar diferença no número de sementes entre os tratamentos. Os testes foram realizados com o auxílio do software BioEstat 5.0.

Resultados

Biologia floral

As flores de *Chamaecrista ramosa* apresentam cinco sépalas livres esverdeadas, cinco pétalas livres amarelas, sendo uma delas diferenciada, do tipo falcada (pétala a, Figura 1). O androceu é formado por dois grupos de estames com três anteras maiores e sete menores, todas com deiscência poricida. Alguns desses estames apresentam os poros voltados para o lado oposto ao gineceu, sendo considerados estames de polinização por direcionarem os grãos ao local de deposição no corpo do polinizador, já os estames de alimentação são voltados para o centro da pétala falcada, direcionando os grãos de pólen para o ventre dos visitantes. O gineceu possui ovário súpero, estilete curvado e estigma apresentando câmara e tricomas (GÓMEZ et al. 2010). A antese é iniciada por volta das 4h30min, horário em que o estigma e as anteras se apresentam funcionais, e termina por volta das 11h30min, quando as pétalas mudam para uma coloração alaranjada. As flores não apresentam odor perceptível, não sendo detectadas áreas de concentração de osmóforos.

Em todos os agrupamentos analisados, quando se considera o total de flores, a ocorrência e proporção dos dois tipos de morfos florais quanto ao posicionamento do estilete (D e E) é equilibrada (Tabela 2).

Funcionalidade da enantiofilia

Sistema reprodutivo

Chamaecrista ramosa formou frutos e sementes em todos os tratamentos realizados, com exceção da autopolinização espontânea, na qual não ocorreu formação de frutos em nenhum dos morfos (Tabela 1). No controle houve grande número de frutos formados, sendo o maior percentual (75%) para flores NE.

A espécie foi considerada autocompatível, pois obteve grande percentual de frutos formados após a autopolinização manual em ambos os morfos.

Na polinização cruzada intramorfo (DxD e ExE) ($P=0,210$) e intermorfo (DxE e ExD) ($P=0,345$)

, os resultados foram semelhantes, tanto na formação de frutos como no número de sementes por fruto.

Deposição e captação de pólen

Chamaecrista ramosa recebeu visitas de nove espécies de abelhas na área de estudo (Tabela 3). No maior número de espécies de abelhas, os principais locais onde o pólen foi encontrado de forma agrupada foram as junções das asas com o tórax. (Figura 2A, Tabela 4). Apenas um indivíduo de *Florilegus (Euflorilegus)* sp (indivíduo 12), abelha de pequeno porte, não apresentou pólen nessa região do corpo. Grãos de pólen também foram encontrados dispersos no ventre, dorso e cabeça dos visitantes, mas de forma desorganizada, não agrupada, além de pólen nas escopas (Figura 2A/B).

Foram encontrados grãos de pólen em todas as pétalas analisadas após a visita das abelhas. A pétala “a” apresentou maior número médio de grãos, seguida das pétalas “b” e “c”, em todas as flores (Tabela 5). Não ocorreu diferença no número médio de grãos entre pétalas de flores dos morfos D e E.

Nove entre os dez visitantes coletados apresentavam vestígios de cola amarela nas junções das asas com o tórax (Tabela 4), mostrando o contato direto do estigma com essas regiões dos corpos dos polinizadores (Figura 2C). O contato entre o estigma de flores cujo estilete estava direcionado para o lado direito sempre foi a junção da asa direita do polinizador, e em flores esquerdas ocorreu o inverso, ou seja, o contato foi com a asa esquerda das abelhas.

Comportamento dos visitantes

Das nove espécies de abelhas registradas como visitantes de *C. ramosa*, *Xylocopa* (*Neoxylocopa*) *carbonaria* foi a mais freqüente (Figura 3), iniciando suas visitas nos primeiros momentos da antese, chegando a uma média de 123 visitas diárias, o que corresponde a aproximadamente 33% do total de visitas.

A maior parte das espécies visitantes (seis), abelhas com maior porte, apresentou comportamento de visitas bastante semelhante. Essas abelhas aproximavam-se das flores pela pétala “e” (Figura 1) e a percorriam até alcançar o grupo de estames (momento em que ocorria o contato com o estigma). Nessa ocasião efetuavam um giro de 90° posicionando a porção ventral do tórax e abdômen na direção dos poros dos estames, utilizando as pernas anteriores para se prender à base das anteras, tendo a pétala “a” como plataforma. Dependendo do morfo floral (D ou E) o giro praticado pelos visitantes variava de sentido. Em flores E esse movimento era feito para o lado direito, em flores D era realizado para o esquerdo.

Durante a visita, o polinizador prendia-se ao grupo de estames e, com seu peso, a flor era forçada para baixo. Esse movimento fazia com que ocorresse uma acomodação da pétala “b” sobre a pétala “a”, e da pétala “c” sobre a pétala “b” (Figura 4), formando uma estrutura semelhante a um arco de 180°, oposto a posição do estilete. Com os movimentos vibratórios exercidos pelos visitantes, as anteras com poros posicionados para o lado oposto ao morfo floral, ou seja, direcionados ao grupo de pétalas, lançavam um jato de pólen que percorria esse arco chegando à região dorsal do polinizador, na junção da asa oposta ao morfo floral.

Todos os visitantes exerceram movimentos vibratórios para a retirada dos grãos de pólen das anteras. Apenas *Augochlora* sp., foi observada em poucas ocasiões raspando a superfície das anteras, sendo também classificada como coletora.

Xylocopa (*Neoxylocopa*) sp. apresentou comportamento singular dentre os visitantes. Pousava diretamente nos estames utilizando a pétala “a” como plataforma, contatando o estigma de forma diferenciada dos demais visitantes, sendo possível o contato ocasional como mesmo na chegada e/ou na saída da flor.

As espécies *Augochlora* sp. e *Florilegus* (*Eufleurilegus*) sp. foram classificadas como pilhadoras por possuírem pequeno porte e não contactarem a superfície estigmática durante as visitas.

Todas as espécies visitavam várias flores por indivíduo e várias flores no agrupamento, não demonstrando aparente preferência por nenhum dos morfos.

Discussão

As características morfológicas das flores de *C. ramosa* tais como a ausência de nectários, anteras com deiscência poricida e estilete com curvatura às enquadram na categoria das flores de pólen (VOGEL 1978; BUCHMAN 1983), dependendo exclusivamente de abelhas capazes de vibrar os estames para a liberação do pólen, processo bastante comum para espécies da subtribo Cassiinae (BUCHMAN 1983; GOTTSBERGER & SILBERBAUER - GOTTSBERGER 1988).

O posicionamento diferencial de estames nas flores de *C. ramosa* indica funções diferentes. Estames cujos poros são voltados para o lado oposto do morfo floral (D ou E) favorecem a deposição de pólen em locais específicos da região dorsal dos visitantes, sendo considerados estames de polinização. Os estames cujos poros são voltados para o ventre dos visitantes podem ter o pólen destinado à alimentação das larvas das abelhas visitantes. Esta estratégia tem sido relatada por diferentes autores para espécies de Cassiinae (VOGEL 1978; WESTERKAMP 2004; LAPORTA 2005; DUTRA 2009).

A autocompatibilidade encontrada em *C. ramosa* obedece a uma tendência das espécies da subtribo Cassiinae, apesar de autores sugerirem mecanismos de auto-incompatibilidade para a subfamília Caesalpinioideae (ARROYO 1981; OWENS 1989; LEITE & MACHADO 2010). Em estudos realizados com espécies dos gêneros *Senna* (RIBEIRO & LOVATO 2004; LAPORTA 2005; LEITE & MACHADO 2010), *Cassia* (DULBERGER 1981) e *Chamaecrista* (LIU & KOPTUR 2003; COSTA et al. 2007; GÓMEZ 2008), todas as espécies são consideradas autocompatíveis com a exceção das espécies *Senna sylvestris* e *S. multijugata*, que são auto-incompatíveis (CARVALHO & OLIVEIRA 2003).

A não formação de frutos por autopolinização espontânea no morfo NE sugere que a enantiostilia em *C. ramosa* não interfere nesse processo, pois esse fato explica-se pela dependência dessas flores por abelhas capazes de vibrar os estames para a liberação do pólen (BUCHMAN 1983).

Essa ausência da interferência da enantiostilia no sistema reprodutivo parece também ter ocorrido para a polinização cruzada. A semelhança entre os percentuais de

formação de frutos após a polinização cruzada mostraram-se semelhantes, afastando possibilidades de um possível mecanismo de incompatibilidade intramorfo ou intermorfo exercido pela enantioestilia.

Já para o controle o maior percentual na formação de frutos no grupo NE quando comparado aos grupos de flores D e E, deve-se possivelmente a autopolinização, já que nesse grupo o estigma era posicionado próximo ao grupo de estames possibilitando a polinização ocorrente do pólen da própria flor. Esse resultado mostra a possível interferência da enantioestilia no impedimento da ocorrência da autopolinização, sendo reforçada pela necessidade da vibração das anteras.

Flores enantioestílicas comumente depositam pólen em locais específicos do corpo do polinizador, seja pelo posicionamento diferenciado das anteras, ou por mecanismos de deposição indireta (JESSON & BARRETT 2002; WESTERKAMP 2004; LAPORTA 2005). Essas estratégias de polinização vêm sendo bastante relatadas em estudos envolvendo espécies de *Cassiinae* (WESTERKAMP 2004; LAPORTA 2005; COSTA et al. 2007; GÓMEZ 2008; DUTRA 2009), o que vem sendo relatado como o fator que favorece a polinização cruzada.

O padrão de deposição de pólen no corpo dos visitantes observado em *C. ramosa* faz com que o pólen encontrado nas junções das asas da maioria dos visitantes seja depositado de forma indireta. Esse depósito é o resultado da disposição das pétalas em forma de arco durante a visita dos polinizadores, posicionamento das anteras em relação ao morfo floral (oposto ao arco) e movimentos vibratórios realizados pelos visitantes. Outros autores descrevem mecanismos de deposição de pólen em espécies de *Cassiinae* com mecanismos semelhantes aos observados em *C. ramosa* (DELGADO & SOUZA 1997; GOTTSBERGER & SILBERBAUER-GOTTSBERGER 1988; WESTERKAMP 2004; LAPORTA 2005; COSTA et al. 2007; DUTRA 2009).

Westerkamp (2004) observou mecanismos de polinização indireta em *Cassia*. Segundo o autor, o pólen era depositado no corpo do polinizador através do processo de ricochete. Essa deposição se dava pelas leis de incidência da luz, onde o ângulo de incidência é igual ao ângulo de reflexão. A energia inicial não seria suficiente para a ocorrência do ricochete, sendo preciso a continuidade da energia cedida para o término do processo, que inicia pela passagem dos grãos pela superfície inferior do polinizador e termina com a deposição do pólen em locais específicos do dorso do visitante. Devido a presença de pólen no grupo de pétalas formadoras do arco, é possível inferir que o pólen

no caso de *C. ramosa* percorre esse grupo de pétalas através de um giro (“looping”) rente à superfície interna do arco, alcançando a superfície dorsal do polinizador.

Além da deposição através do giro realizado pelos grãos em *C. ramosa*, é possível que ocorra outro tipo de deposição. No momento da visita, com a acomodação das unidades da corola, a pétala “c” entra em contato direto com o dorso do polinizador. Devido à ação adesiva dos pêlos desta região do corpo do visitante, esse contato pode ocasionar a deposição do pólen contido nessa pétala. Esse processo pode explicar o fato da pétala “c” ter o menor valor médio de grãos comparado aos valores das pétalas “a” e “b”. Portanto, é possível admitir a ocorrência da apresentação secundária de pólen nas flores de *C. ramosa*. O pólen contido nas pétalas, além de ser depositado diretamente no corpo do polinizador pela ação adesiva, possivelmente pode ser carregado em uma próxima visita por um posterior jato de pólen. Westerkamp (2004) refere-se a esse tipo de apresentação secundária como um tipo especial, podendo ser chamada de apresentação secundária virtual. A captação de pólen também ocorre de modo bastante pontual. Estudos mostram a ocorrência desse padrão de captura em outras espécies de Cassiinae (LAPORTA 2005; COSTA et al. 2007; DUTRA 2009).

O comportamento de visita observado para a maior parte das espécies foi considerado como “padrão”, já que apenas com esses movimentos a polinização parece ser efetiva devido ao contato dos visitantes com o estigma no momento em que percorrem a pétala “e”. A chegada às flores por essa pétala obriga o visitante a contatar o estigma na “entrada” da flor, garantindo a captura de pólen no momento anterior a vibração das anteras, tornando menos possível a autopolinização.

A proporção semelhante dos morfos D e E encontrados para *C. ramosa* já havia sido relatado para outras espécies enantiostílicas monomórficas (JESSON et al. 2003; LAPORTA 2005) e dimórficas (JESSON & BARRET 2002; JESSON & BARRET 2005; JESSON et al. 2003). No caso da espécie estudada essa proporção é esperada já que o sucesso reprodutivo depende da presença dos morfos recíprocos.

Os três aspectos da biologia reprodutiva estudados, unidos à biologia floral e comportamento dos visitantes das flores de *Chamaecrista ramosa*, indicam que a enantiostilia esteja promovendo aumento nas taxas de xenogamia, além da diminuição considerável das taxas de geitonogamia e autogamia, sendo necessária a ocorrência de um morfo floral recíproco para que haja sucesso reprodutivo. Esses resultados vêm sendo encontrados em estudos envolvendo espécies enantiostílicas (JESSON &

BARRET 2002; CARVALHO & OLIVEIRA 2003; WESTEKAMP 2004; JESSON & BARRET 2005; LAPORTA 2005; COSTA et al. 2007 et al.; GÓMEZ 2008), e este estudo vem se somar à discussão da explicação da existência e real funcionalidade da enantioestilia monomórfica.

Agradecimentos

Ao CNPq pela auxílio financeiro e a administração da RPPN Nossa senhora do Oiteiro de Maracaípe pela autorização para a realização do estudo na área e por ter disponibilizado infra estrutura para realização do estudo.

Referências

- ALMEIDA JR, E. B.; OLIVO, M.A; ARAÚJO, E.L. & ZICKEL, C.S. 2009. Caracterização da vegetação de restinga da RPPN de Maracaípe, PE, Brasil, com base na fisionomia, flora, nutrientes do solo e lençol freático. *Acta Botânica Brasílica* 23(1): 36-48.
- ARROYO, M.T.K. 1981. Breeding systems and pollination biology in Leguminosae. In *Advances in Legume Systematics* (R.M. Polhill & P.H. Raven, eds.) (Part 2). Royal Botanic Gardens, Kew, p.723-769.
- BARRETT, S.C.H. 2002. The evolution of plant sexual diversity. *Nature Reviews Genetics* 3: 274–284.
- BUCHMAN, S.L. 1983. Buzz pollination in Angiosperms. In *Handbook of Experimental Pollination* (C.E. Jones & R.J. Little, eds.). Van Nostrand Reinhold, New York, p.73-113.
- CARVALHO, D.A., OLIVEIRA, P.E. 2003. Biologia reprodutiva e polinização de *Senna sylvestris* (Vell.) H. S. Irwin & Barneby (Leguminosae, Caesalpinioideae). *Revista Brasileira de Botânica* 26: 319–328.
- COSTA, C.B.N.; LAMBERT, S.M.; BORBA, E.L. & DE QUEIROZ, L.P. 2007. Postzygotic reproductive isolation between sympatric taxa in the *Chamaecrista desvauxii* complex (Leguminosae-Caesalpinioideae). *Annals of Botany* 99: 625–635.
- DELGADO, S. A. & SOUZA, S. M. 1997. Biologia floral do gênero *Cassia* en La region de Los Tuxtlas, Vera Cruz. *Boletín Sociedad. Botánica. M.*, 37: 5-45.
- DUTRA, V.F.; VIEIRA M.F., GARCIA F.C.P. & LIMA, H.C. 2009. Fenologia reprodutiva, síndromes de polinização e dispersão em espécies de Leguminosae dos

- campos rupestres do Parque Estadual do Itacolomi, Minas Gerais, Brasil. *Rodriguésia* 60: 371-387.
- DULBERGER, R. 1981. The floral biology of *Cassia didymobotrya* and *C. auriculata* (Caesalpinaceae). *American Journal of Botany* 68: 1350–1360.
- FENSTER, CB. 1995. Mirror image and their effect on outcrossing rate in *Chamaecrista fasciculata* (Leguminosae). *American Journal of Botany* 82: 46–50.
- GOTTSBERGER, G. & SILBERBAUER-GOTTSBERGER, I. 1988. Evolution of flower structures and pollination in Neotropical Cassiinae (Caesalpinaceae) species. *Phyton* 28: 293-320
- INMET (Instituto Nacional de Meteorologia). 2005. Disponível em www.inmet.gov.br. (Acessado em: 20/11/2009).
- JESSON , L.K. & BARRETT, S.C.H. 2002. Solving the puzzle of mirror-image flowers. *Nature* 417:707.
- JESSON , L.K., & BARRETT, S.C.H. 2003. The comparative biology of mirror-image flowers. *Int. J. Sci.*, 164 (5 Suppl.): 237-249.
- JESSON , L. K. & BARRETT S H. 2005 experimental tests of the function of mirror-image flowers. *Biological Journal of the Linnean Society* 85: 167–179.
- KEARNS, C.A. & INOUE, D.W. 1993. Techniques for pollination biologists. University of Colorado Press, Niwot.
- KÖPPEN, W. 1948. *Climatologia: com un estudio de los climas de la tierra*. Mexico.
- LAPORTA, C. 2005. Floral biology and reproductive system of enantiostylous *Senna corymbosa* (Caesalpinaceae). *Revista de Biología Tropical* 53 (1-2): 49-61.
- LEITE, A.V. & MACHADO, I.C. 2010. Reproductive biology of woody species in caatinga, a dry forest of northeastern Brazil. *Journal of Arid Environments* 74, 1374-1380.
- LIU, H & KOPTUR, S. 2003. Breeding system and pollination of a narrowly endemic herb of the Lower Florida Keys: impacts of the urban–wildland interface. *American Journal of Botany* 90: 1180–1187.
- OWENS, S.J. & LEWIS, G.P. 1989. Taxonomic and functional implications of stigma morphology in species of *Cassia*, *Chamaecrista*, and *Senna* (Leguminosae: Caesalpinioideae). *Plant Systematics and Evolution*, 163: 93-105.
- RIBEIRO, R.A. and LOVATO, M.B. 2004. Mating system in a neotropical tree species, *Senna multijuga* (Fabaceae). *Genetic Molecular Biology* 27 (3): 418-424.

SUDENE. 1990. Dados pluviométricos do Nordeste – Pernambuco. Série pluviométrica. Superintendência para o Desenvolvimento do Nordeste, Recife.

WESTERKAMP, C. 2004. Ricochet pollination in *Cassias* – and how bees explain enantiostyly. In: Magalhães FB, Pereira JO, eds. Solitary bees: conservation, rearing and management for pollination. Fortaleza: Universidade Federal do Ceará, 225–230.

VOGEL S. 1978. Evolutionary shifts from reward to deception in pollen flowers. In *The pollination of flowers by insects* (A.J. Richards, ed.). Academic Press, London, p.89-96.

VOGEL S. 1990. The role of scent glands in pollination. A.A. Balkema, Rotterdam.

Tabela 1. Resultados dos testes do sistema reprodutivo de *Chamaecrista ramosa* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil. CO=controle; AE=autopolinização espontânea; AM=autopolinização manual; PC=polinização cruzada (Receptor x doador).

	CO			AE			AM		PC			
	D	E	NE	D	E	NE	D	E	Dxd	Dxe	Exd	Exe
Morfos florais												
Número de flores (n)	41	38	28	43	47	32	31	32	25	23	27	22
Frutos formados (%)	63 ^a	58 ^a	75 ^a	0	0	0	68 ^b	60 ^b	40 ^c	43 ^c	55 ^c	50 ^c
Nº médio de sementes	8,6±1,98 ^a	7,7±1,76 ^a	8,6±1,71 ^a	0	0	0	8,4±2,18 ^b	8,7±1,91 ^b	8,7±1,92 ^c	8,8±1,69 ^c	8,5±2,37 ^c	8,8±2,31 ^c

*Médias seguidas pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelos testes de qui- quadrado (para n° de flores formados) e ANOVA (para n° de sementes) (P>0,05).

Tabela 2. Ocorrência dos morfos esquerdos e direitos em diferentes agrupamentos de *Chamaecrista ramosa* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil.

Agrupamentos	1		2		3		4		5		6		Total	
Morfos florais	E	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E	D	E	D
Nº de flores	68	71	57	53	39	38	37	35	22	23	58	61	281	281

Tabela 3. Comportamento dos visitantes florais das flores de *Chamaecrista ramosa* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil.

Espécie	Forma de coleta do recurso	Resultado da visita
<i>Xylocopa</i> (Neoxylocopa) <i>carbonaria</i>	Vibradora	Polinizador
<i>Xylocopa</i> (Neoxylocopa) <i>cearensis</i>	Vibradora	Polinizador
<i>Xylocopa</i> (Neoxylocopa) sp.	Vibradora	Polinizador
<i>Augochlora</i> sp.	Vibradora/Coletora	Pilhador
<i>Florilegus</i> (Euflorilegus) sp.	Vibradora	Pilhador
<i>Triepeolus</i> sp.	Vibradora	Polinizador
<i>Eufriesea</i> sp.	Vibradora	Polinizador
<i>Centris</i> sp. 1	Vibradora	Polinizador
<i>Centris</i> sp. 2	Vibradora	Polinizador

Tabela 4. Locais de deposição (D) e captação (c) de pólen em diferentes partes do corpo de diferentes indivíduos visitantes das flores de *Chamaecrista ramosa* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil.

Indivíduos	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22
Locais do Corpo																						
Cabeça (esq.)	D	D	D	D	-	-	-	D	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cabeça (dir.)	D	D	D	-	-	-	-	D	-	-	-	-	c	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Junção asa (esq.)	D	D	D	-	Dc	Dc	Dc	D	D	D	D	-	D	D	Dc	D	D	Dc	Dc	Dc	Dc	Dc
Junção asa (dir.)	D	D	D	D	D	D	Dc	D	D	D	D	-	D	D	Dc	D	D	D	Dc	Dc	Dc	Dc
Disperso (Dorso)	D	D	D	D	c	Dc	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	Dc	D	Dc	Dc	D
Disperso (ventre)	D	D	D	-	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	D	Dc	D	Dc
Escopas	-	D	D	D	D	-	D	D	D	D	D	D	-	-	-	D	-	-	-	-	-	-

Tabela 5. Número médio de grãos de pólen retirados das pétalas “a”, “b” e “c”, nos diferentes morfos florais, após a ocorrência de visitas em flores de *Chamaecrista ramosa* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil.

Morfo floral	Flores esquerdas (E)			Flores direitas (D)		
	Pétalas a	b	c	a	b	c
Número médio de grãos de pólen	92±20,8	24±9,72	14±8,03	88±25,5	31±6,32	16±8,24

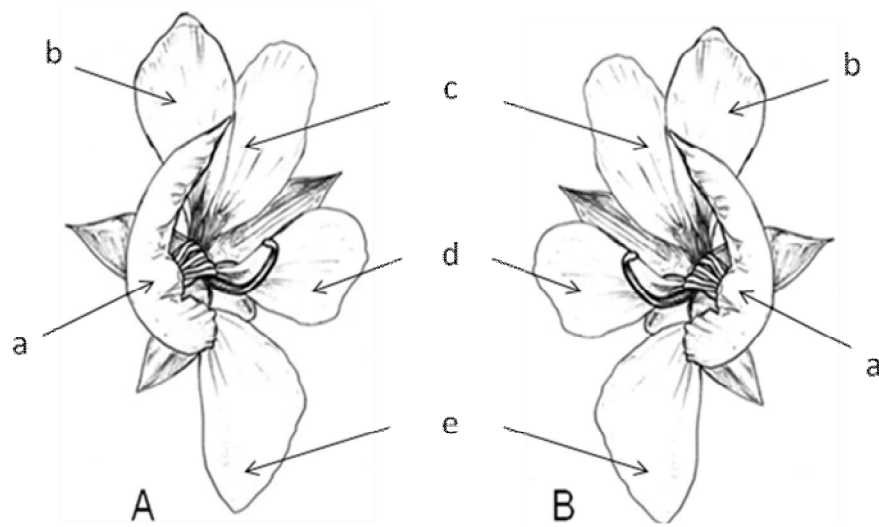


Figura 1. Flores direita (A) e esquerda (B), indicando posição das pétalas. da espécie enantiostílica *Chamaecrista ramosa* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil. a) pétala falcada.

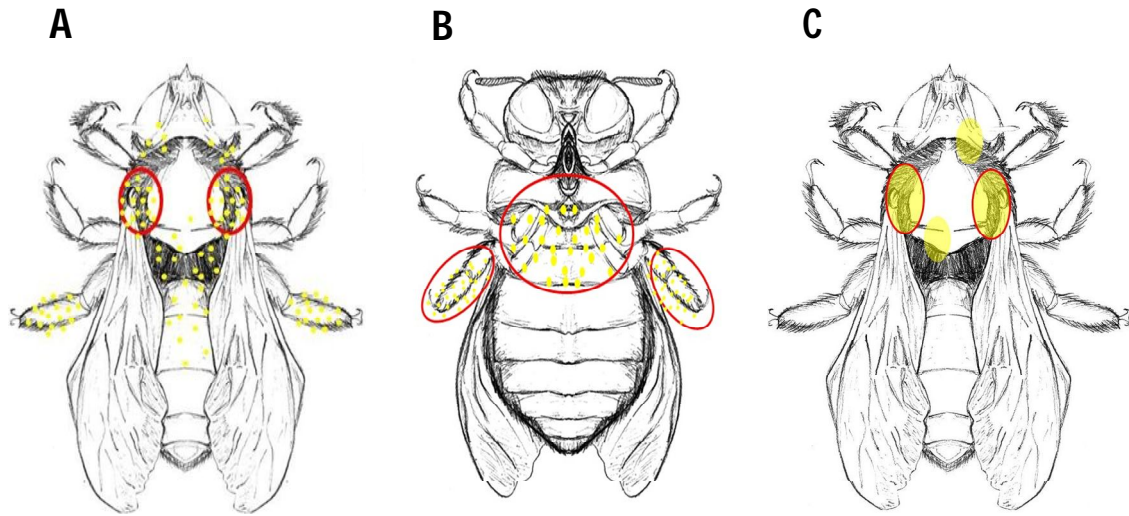


Figura 2. Principais locais de deposição e captação de pólen (circulado de vermelho) nas abelhas visitantes de *Chamaecrista ramosa* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil. A) locais de deposição de pólen no dorso dos visitantes; B) locais de deposição de pólen no ventre dos visitantes; C) locais de captação de pólen pelos estigmas das

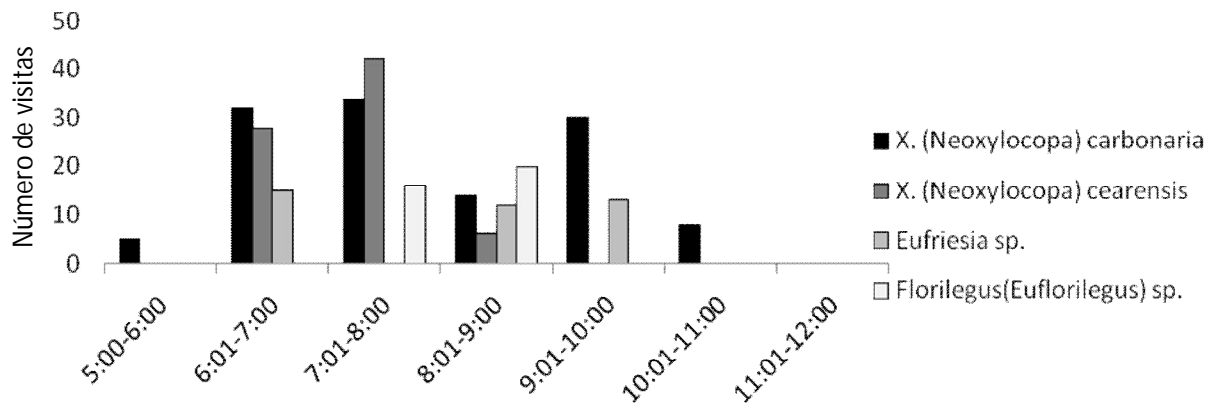


Figura 3. Frequência de visitas dos principais visitantes florais de *Chamaecrista ramosa* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil.



Figura 4. Acomodação das pétalas durante as visitas dos polinizadores às flores de *Chamaecrista ramosa* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil. A) Flor na ausência do visitante (vista frontal); B) Flor na presença do visitante (vista frontal); C) Flor na ausência do visitante (vista lateral); D) Flor na presença do visitante (vista lateral).

Capítulo 2

Polimorfismo em flores de *Chamaecrista flexuosa*: um exemplo de enantiostilia atípica?

Manuscrito a ser enviado ao periódico Flora

Polimorfismo em flores de *Chamaecrista flexuosa* (Fabaceae-Caesalpinioideae): um exemplo de enantioestilia atípica?

Natan Messias de Almeida¹; Cibele Cardoso de Castro²; Ana Virgínia de Lima Leite² e Isabel Cristina Machado³

¹Programa de Pós-Graduação em Botânica, Universidade Federal Rural de Pernambuco

²Departamento de Biologia, Rua Dom Manoel de Medeiros, S/N - Dois Irmãos, CEP: 51280-400, Recife-PE, Brasil

³Centro de Ciências Biológicas, Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco

Autor para correspondência: C. C. Castro (cibelecastro@hotmail.com)

Resumo

A hercogamia recíproca, representada pela enantioestilia e a heterostilia, é um exemplo de polimorfismo floral onde reciprocidade se dá pela disposição das estruturas sexuais nas flores. Em espécies da subtribo Cassiinae este polimorfismo ocorre também em relação a outras peças florais tais como pétalas, podendo ser interpretado como apenas morfológico, já que desvios no posicionamento das estruturas sexuais podem modificar a funcionalidade desses morfos. Para espécies heterostílicas estes desvios vêm sendo mostrados como possíveis resultados de perturbações ambientais, pouca eficiência dos polinizadores ou ausência dos mesmos, ou mesmo a eliminação total ou parcial de um dos morfos da população. Estudos relacionados a esses aspectos são inexistentes para a enantioestilia. Este estudo teve como objetivo a funcionalidade da enantioestilia em flores de *Chamaecrista flexuosa*, verificando possíveis desvios no padrão enantioestílico nesta espécie através de investigações a cerca da biologia floral, do sistema reprodutivo, do comportamento dos polinizadores, aliado a análises morfológicas e morfométricas. O estudo foi realizado em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil. *C. flexuosa* apresentou grupos de anteras de tamanhos distintos, mas com função similar. Esta espécie é autocompatível, tendo sucesso em todos os tratamentos com exceção da autopolinização espontânea. O pólen é depositado na região ventral do visitante, onde é captado pelo estigma. Esta estrutura mostrou grandes dimensões de deslocamento, sendo possível distinguir morfos morfológica e funcionalmente. Analisando a morfologia ocorreram dois morfos: o morfo morfológica e funcionalmente direito (MD) e morfológica e funcionalmente esquerdo (ME). Funcionalmente ocorreram três: Funcionalmente direito (FD), Funcionalmente esquerdo

(FE) e Funcionalmente central (FC). Esses morfos não obedeceram à proporção esperada de 1:1. Esse desvio na proporção ocorreu devido à inferioridade em frequência do morfo MD/FD. O comportamento dos polinizadores, o padrão na deposição de pólen e a existência de um morfo FC parecem beneficiar o sucesso reprodutivo de *C. flexuosa*, devido a uma maior eficiência na captação de pólen pela ocorrência da enantioestilia atípica ou variante nesta espécie.

Palavras chave: *Chamaecrista flexuosa*, polimorfismo floral, heterostilia, enantioestilia atípica ou variante.

Introdução

Caracteres reprodutivos de plantas têm grande significado evolutivo, sendo eles macro ou microevolutivos (ARROYO 2002), os polimorfismos florais podem trazer bastantes informações acerca desses processos evolutivos, já que alguns são acompanhados de fatores genéticos (HERRERA 1996).

A hercogamia recíproca, representada pela enantioestilia e pela heterostilia, é exemplo de um polimorfismo floral definido por forte carga genética (BARRET 2002), sendo assim, seus indivíduos possuem padrões morfológicos definidos geneticamente. Nesses dois exemplos de hercogamia recíproca, as flores apresentam morfos recíprocos, onde essa reciprocidade se dá pela disposição das estruturas sexuais (estiletos e anteras) nas flores (BARRET 2002).

Em alguns casos de enantioestilia, especialmente em espécies da subtribo Cassiinae, esta reciprocidade ocorre também em relação a outras peças florais, como pétalas, gerando flores que formam imagens especulares (FENSTER 1995; JESSON & BARRET 2002; JESSON & BARRET 2003). Esse tipo de polimorfismo pode ser interpretado como morfológico, já que desvios no posicionamento das estruturas sexuais podem modificar a funcionalidade desses morfos, sendo conhecidos exemplos em espécies flexistílicas e heterostílicas atípicas (SOBREVILA et al. 1983; HAMILTON 1990; RICHARDS & KOPTUR 1993; BARRET 2002; KRIECK 2008).

Para espécies heterostílicas estes aspectos vêm sendo mostrados como possíveis resultados de perturbações ambientais, pouca eficiência dos polinizadores ou ausência dos mesmos, ou mesmo a eliminação total ou parcial de um dos morfos da população

(BARRET 2002). Para espécies enantioestílicas, especialmente monomórficas, estes aspectos não foram estudados, sendo difícil a compreensão das causas destes possíveis desvios neste polimorfismo.

Investigando a biologia floral e o comportamento dos polinizadores aliado a análises morfológicas e morfométricas, este estudo teve como objetivo entender a funcionalidade da enantioestilia em flores de *Chamaecrista flexuosa*, verificando possíveis desvios no padrão enantioestílico nesta espécie, para isso foram desenvolvidas as seguintes perguntas e respectivas hipóteses: 1) Desvios ocorrentes no padrão enantioestílico nesta espécie alteram a funcionalidade da enantioestilia descrita para outras espécies? 2) A mudança no padrão enantioestílico ocorre devido aos mesmos fatores descritos para espécies heterostílicas? 3) A possível presença de um terceiro morfo influencia no sucesso reprodutivo desta espécie? 1) *Chamaecrista flexuosa* apresenta um padrão enantioestílico diferente de outras espécies do grupo, alterando a real funcionalidade deste mecanismo. 2) A mudança neste padrão está relacionada a uma busca pelo aumento da aptidão reprodutiva da espécie, diferindo do descrito para espécies heterostílicas 3) O sucesso reprodutivo desta espécie sofre influência direta pela presença do terceiro morfo, promovendo uma maior aptidão reprodutiva.

Material e métodos

Local do estudo

O estudo foi realizado na Reserva Particular de Patrimônio Natural Nossa Senhora do Oiteiro de Maracápe, localizada no Litoral Sul de Pernambuco, no Distrito de Nossa Senhora do Ó, Município de Ipojuca (08^o31'48'' S e 35^o01'05'' W) Nordeste do Brasil. A RPPN ocupa uma área de 76,2 ha, sendo que 60,96 ha correspondem a vegetação de Restinga e 15,24 ha correspondem a vegetação de manguezal (ALMEIDA JR. et al., 2009). No município de Ipojuca predomina o clima As', quente e úmido, de acordo com o sistema de classificação proposto por Köppen (1948). A precipitação pluviométrica média anual atinge cerca de 2000 mm, com maior concentração no período chuvoso (maio a julho) e os meses outubro, novembro e dezembro como os mais secos (SUDENE, 1990; INMET, 2005).

Espécie estudada

Chamaecrista flexuosa é um subarbusto, que pode ser encontrado em cinco agrupamentos em áreas de campos abertos na RPPN Nossa Senhora do Oiteiro de Maracaípe. É uma espécie enantiofítica monomórfica (Figura 1) e apresenta além dos dois morfos característicos (direito e esquerdo), um possível terceiro morfo (central). Sua floração ocorre durante todo o ano, com pico entre os meses de fevereiro e maio.

Biologia floral

A receptividade estigmática foi testada através da técnica de atividade peroxidásica (KEARNS & INOUE, 1993). A possível presença e localização de osmóforos foram aferidas através de coloração pela solução aquosa de vermelho neutro (VOGEL 1990). Foram contabilizados o número de verticilos florais, reprodutivos e estéreis em cada morfo floral. Para todos os experimentos foram utilizadas dez flores de cada morfo floral, de indivíduos distintos ocorrentes em cinco agrupamentos.

Sistema reprodutivo

Para a distinção dos morfos nos tratamentos do sistema reprodutivo foi observado previamente o deslocamento do estigma em relação ao centro da pétala falcada. Estigmas que visualmente se aproximavam do centro dessa pétala eram consideradas flores centrais (C). Os que apresentavam deslocamento para a direita, foram consideradas flores direita (D) e aqueles deslocados para a esquerda, flores esquerda (E).

Para a autopolinização manual, as flores receberam pólen das suas próprias anteras e posteriormente foram ensacadas por todo o período de antese, com posterior verificação da possível formação de frutos. Na verificação da autopolinização espontânea, os botões em pré-antese dos morfos foram ensacados durante todo seu período funcional. Na polinização cruzada foram realizados cruzamentos intramorfos (DxD, ExE e CxC) e intermorfos (DxE, DxC, ExD, EC, CxD e CxE), para verificação de possíveis mecanismos de auto-incompatibilidade existentes entre os morfos. Após a realização dos cruzamentos, as flores foram ensacadas durante o período de antese. No grupo controle, as flores dos distintos morfos foram deixadas expostas a ação dos visitantes florais (polinização natural).

O número de flores utilizadas nos diferentes tratamentos do sistema reprodutivo encontra-se descrito na tabela 1.

Comportamento dos visitantes

A frequência de visitas foi obtida através de 28h de observações a plantas focais, em um período de quatro dias não consecutivos entre os meses de março e maio de 2009.

Comportamento em relação à forma de chegada na flor, contatos com estruturas reprodutivas, forma de coleta do recurso e resultados das visitas (polinização ou pilhagem) foram analisados através de observações durante o período de março de 2009 a agosto de 2010.

Os visitantes foram coletados, para posterior identificação, com a utilização de redes entomológicas e posteriormente depositados em frascos de vidro contendo papel umedecido com acetato de etila, sendo os mais frequentes utilizados para a medição das larguras da região ventral (tórax e abdome), para posterior comparação com dados de morfometria das flores, para melhor interpretação das relações existentes.

Ocorrência e proporção de morfos nos agrupamentos

Foram coletadas 355 flores de indivíduos de *Chamaecrista flexuosa* em cinco agrupamentos (A=15; B=98; C=87; D= 43; E= 112), nas quais foi medida a dimensão do deslocamento do estilete. Para determinação da ocorrência e proporção de morfos, foram utilizados dois aspectos: morfológico e funcional. Para a determinação dos morfos pelo aspecto morfológico foi tomado como parâmetro o posicionamento da pétala falcada em relação ao eixo floral, já que essa pétala deve estar posicionada no lado inverso do gineceu. Quando esta pétala se posicionava à direita do eixo floral essas flores eram classificadas como “morfológicamente esquerdas” (ME) e quando se posicionava à esquerda eram classificadas em “morfológicamente direitas” (MD). Para o aspecto funcional, foi medido o afastamento dos estigmas das flores em relação ao centro da pétala falcada. Quando esse afastamento tomava o sentido da esquerda esse valor foi considerado negativo, sendo portanto considerada uma flor “funcionalmente esquerda” (FE), e quando tomava o sentido da direita foi considerado positivo, sendo considerada uma flor “funcionalmente direita” (FD) (Figura 1). Flores que apresentaram afastamento variando entre -1 e 1 foram consideradas “funcionalmente centrais” (FC).

Essas flores foram fixadas em álcool 70%, e posteriormente medidas no Laboratório de Ecologia Reprodutiva de Angiospermas da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). Foram contabilizados o número de flores de cada morfo por agrupamento.

Análise dos dados

Para avaliar possíveis diferenças no número de frutos formados e proporção dos morfos florais, foram utilizados os testes qui-quadrado e G, e ANOVA para verificar diferença no número de sementes entre os tratamentos. Os testes foram realizados com o auxílio do software BioEstat 5.0.

Resultados

Biologia floral

Chamaecrista flexuosa apresenta flores assimétricas, caracterizadas pela ocorrência da enantiostilia. O cálice possui cinco sépalas livres esverdeadas, a corola é amarela com cinco pétalas livres, sendo uma delas diferenciada (tipo falcada) das demais (Figura 1). O androceu é formado por três grupos de estames centrais, pequenos (5), médios (2) e grandes (4), com deiscência poricida. O gineceu possui ovário súpero, estilete curvado e estigma com câmara e tricomas e encontra-se inserido no meio do grupo de estames, sendo afastado por vezes devido à curvatura acentuada do estilete. Não foram encontradas áreas de concentração de glândulas de odor. A antese das flores de *C. flexuosa* é bastante curta, de aproximadamente quatro horas, iniciando por volta das 4h30min e finalizando próximo das 8h30min, momento no qual suas pétalas começam a murchar e mudar a coloração para alaranjada. No início da antese, o estigma e anteras já apresentavam-se funcionais.

Sistema reprodutivo

Chamaecrista flexuosa apresentou sucesso na formação de frutos nos tratamentos de autopolinização manual, polinização cruzada e no grupo controle, não tendo sucesso na formação de frutos sob autopolinização espontânea (Tabela 1). A espécie é, portanto, autocompatível, apresentando resultados semelhantes nos morfos ocorrentes. Não houve diferenças significativas entre os morfos florais na formação de frutos e sementes após cruzamentos intramorfos DxD-ExE ($P=0,344$), ExE-CxC ($P=0,528$), CxC-DxD ($P=0,263$) e intermorfos DxE-ExD ($P=0,315$), ExC-CxE

($P=0,475$) e DxC-CxD ($P=0,617$). Na polinização natural (controle), o morfo C apresentou maior percentual na formação de frutos em relação aos morfos D e E (Tabela 1).

Visitantes florais

Chamaecrista flexuosa recebeu visitas de sete espécies de abelhas (Tabela 2), sendo *Xylocopa* (*Neoxylocopa*) *cearensis* a mais freqüente (Figura 2), chegando ao total de 24 visitas diárias. Todos os visitantes foram considerados polinizadores, contatando o estigma desde a chegada até o término da visita.

As espécies de abelhas tiveram comportamentos de visita bastante semelhantes. Todas pousavam na pétala falcada utilizando-a como plataforma e acesso ao grupo de anteras. Posteriormente se agarravam aos estames exercendo movimentos vibratórios, posicionando toda a região ventral (tórax e abdome) na saída dos poros das anteras. Esses grãos eram depositados nessa região, formando um “cinturão” no ventre dos visitantes (Figura 3). Antes da retirada dos grãos pelas abelhas, ou até mesmo a sobra do pólen nessa região, ocorre a captação dos grãos por parte do estigma. Comumente, o pólen removido do próprio corpo pelas abelhas é destinado à alimentação das suas larvas (SCHLINDWEIN 2000).

Das sete espécies de abelhas visitantes, apenas *Florilegus* (*Eufleurilegus*) sp. é de pequeno a médio porte, as outras seis espécies apresentaram uma largura de tórax e abdome variando entre 0,8 a 1,2 cm, ou seja, possuíam grande porte. Esses valores apresentam-se bastante semelhantes à largura da pétala falcada (1,0-1,2cm), que também apresentou íntima relação com os valores encontrados para os desvios do estigma nas flores de diferentes morfos.

Ocorrência e proporção de morfos

Tendo a morfologia das pétalas como critério, foram observados dois grupos de flores ocorrentes nos agrupamentos de indivíduos de *C. flexuosa*, as ME e as MD. Em todos os agrupamentos, a proporção desses morfos apresentou-se 1:1, o que não ocorreu com a soma total de todos os agrupamentos, onde as flores ME apresentaram um número significativamente superior às flores MD (Tabela 3; Figura 4).

Funcionalmente, ou seja, tendo o deslocamento do estilete em relação ao centro da pétala falcada como referência, houve o surgimento de um terceiro morfo, o morfo

FC. O morfo FC surgiu como o segundo morfo floral mais freqüente, com 124 flores apresentando esse tipo floral, o que corresponde a aproximadamente 35% das flores analisadas (Tabela 4). Nos agrupamentos A e D o número de flores mostrou-se proporcional, já nos agrupamentos B e C os morfos FE e FC apresentaram uma proporção semelhante 1:1, diferindo do morfo FD. No agrupamento E, os morfos FE, FC e FD apresentaram proporções semelhantes. Já quando comparados, os morfos FE e FD apresentaram-se diferentes no número de flores ocorrentes. No total de flores os morfos apresentam diferenças na proporcionalidade nas suas freqüências (Tabela 4; Figura 5). Ocorreram grandes variações nas freqüências dos morfos MD e ME, quando analisados pelo aspecto funcional (Figura 5).

Discussão

Chamaecrista flexuosa apresentou características morfológicas comuns à subtribo Cassiinae, tais como anteras poricidas, flores amarelas, ausência de nectários e pólen como único recurso floral (GOTTSBERGER & SILBERBAUER-GOTTSBERGER 1988). Essas características enquadram *C. flexuosa* no grupo das espécies denominadas flores de pólen (BUCHMAN 1983), além de obedecerem aos atributos descritos para flores melitófilas (FAEGRI & PIJL 1979).

Outra característica de algumas flores de pólen é a presença de estames heteromorfos (CARVALHO & OLIVEIRA 2003). Apesar das diferentes dimensões, as anteras em *C. flexuosa* não apresentaram diferenças funcionais, sendo parte do pólen utilizado na alimentação das larvas ou na polinização, não corroborando com os resultados encontrados em outros estudos, onde o grupo da Caesalpinioideae apresenta diferenciação nas funções das anteras, em relação à viabilidade do pólen ou posicionamento das mesmas (VOGEL 1978; WESTERKAMP 2004; LAPORTA 2005; COSTA et al. 2007; DUTRA 2009; GÓMEZ 2008).

A autocompatibilidade encontrada para *C. flexuosa* vem sendo descrita em vários outros estudos envolvendo espécies da subtribo Cassiinae (DULBERGER 1981; LIU & KOPTUR 2003; RIBEIRO & LOVATO 2004; LAPORTA 2005; COSTA et al. 2007; COSTA et al. 2007; GÓMEZ 2008). Outros poucos estudos sugerem a ocorrência de mecanismos de incompatibilidade para as Caesalpinioideae (ARROYO

1981; OWENS 1989; CARVALHO & OLIVEIRA 2003; LEITE & MACHADO, 2010), o que não parece ser uma tendência na subtribo.

A presença do morfo FC não interferiu na formação de frutos da espécie *C. flexuosa* em nenhum dos tratamentos realizados. No tratamento da autopolinização espontânea nem mesmo a presença deste morfo contribuiu com a formação de frutos, isso se deve à necessidade da presença de um polinizador capaz de vibrar as anteras para a liberação do pólen (BUCHMAN 1983). Os resultados dos testes do sistema reprodutivo demonstram a não existência de mecanismos de incompatibilidade entre os morfos.

A predominância de abelhas de grande porte dentre os visitantes de *C. flexuosa* parece ser uma tendência para espécies de restinga (OLIVEIRA-REBOUÇAS & GIMENES 2004), e pode ser explicada pela ocorrência de ventos fortes neste ecossistema, os quais interferem na atividade de coleta de recursos por abelhas menores (GOTTSBERGER & SILBEBAUER- GOTTSBERGER 1988; VIANA & PINHEIRO 1998). O tamanho dos principais polinizadores (*Xylocopa* (Neoxylocopa) *cearensis*, *Xylocopa* (Neoxylocopa) *carbonaria*, *Xylocopa* (Neoxylocopa) *grisencens* e *Centris* sp. também indica a estreita relação com *C. flexuosa*, pois suas dimensões são muito semelhantes à da pétala falcada, utilizada como plataforma de pouso. Essa semelhança certamente está relacionada a uma maior eficiência na deposição de pólen no corpo do polinizador por parte das flores, tendo em vista que esta pétala parece direcionar os grãos de pólen com maior eficiência aos locais de captação pelo estigma, sendo este processo descrito por diversos autores de trabalhos relacionados à biologia reprodutiva deste grupo (DELGADO & SOUZA 1997; GOTTSBERGER SILBEBAUER- GOTTSBERGER 1988; WESTERKAMP 2004; LAPORTA 2005; COSTA et al. 2007; DUTRA 2009).

A proporção semelhante de flores MD e ME (dentro dos agrupamentos de *C. flexuosa*) também foi verificada em estudos envolvendo espécies enantioestílicas monomórficas (JESSON & BARRETT 2003; LAPORTA 2005) e dimórficas (JESSON & BARRETT 2002; JESSON & BARRETT 2002; JESSON & BARRETT 2003). Para a enantioestilia dimórfica, pode-se inferir hipóteses para as possíveis causas da ocorrência desta proporção, devido ao conhecimento dos fatores genéticos presentes na determinação dos morfos (JESSON & BARRETT 2002; JESSON & BARRETT 2003), já

para espécies monomórficas, devido à escassez de conhecimentos, é difícil estabelecer relações que esclareçam os fatores que levam a essa proporção.

É interessante notar a existência de várias semelhanças entre a enantiostilia aqui observada e a heterostilia, outro tipo de estratégia reprodutiva que inclui hercogamia recíproca, na qual a variação na altura dos elementos sexuais determina os morfos florais (GANDERS 1979; BARRET 2002). Assim como observado para espécies enantiostílicas, incluindo *C. flexuosa*, espécies heterostílicas também apresentam proporções semelhantes de morfos florais dentro das populações (isoplelia) (GANDERS 1979; BARRET & RICHARDS 1990). A diferença é que na enantiostilia contabiliza-se o número de flores de cada morfo, e na heterostilia essa proporção está relacionada aos indivíduos de cada morfo. Na heterostilia, desvios nos padrões morfológicos são bastante conhecidos, sendo essas espécies consideradas variantes ou atípicas (SOBREVILA et al. 1983; HAMILTON 1990; RICHARDS & KOPTUR 1993; BARRET 2002). BARRET (2002) entende que tais variações podem ocorrer como resposta a pressões ecológicas tais como perturbações ambientais, pouca eficiência dos polinizadores ou ausência dos mesmos, ou mesmo a eliminação total ou parcial de um dos morfos da população. Para a enantiostilia não existem estudos que tenham descrito desvios dos padrões morfológicos, e tampouco que sugiram a relação entre esses desvios e o ambiente.

No caso de *C. flexuosa*, a existência de uma enantiostilia atípica pode representar uma adaptação direcionada a uma captação mais eficiente de pólen pelo estigma. O posicionamento das anteras em uma grande extensão da pétala falcada sugere uma área de deposição do pólen em forma de cinturão na região ventral dos polinizadores. A existência de flores com posicionamento do estigma à direita, à esquerda e central possibilita a captação desse pólen, maximizando assim a aptidão reprodutiva da espécie.

Outra possível discussão em relação à ocorrência destes desvios é a diminuição da frequência do morfo D (classificação baseada no posicionamento da pétala falcada). Na classificação dos morfos florais tendo como base a análise funcional, um grande número de flores MD foram classificadas como FC, inclusive em um número maior do que o ocorrido para as flores ME. Este resultado pode indicar uma tendência à diminuição de flores MD na população estudada. Em espécies heterostílicas também pode ocorrer diminuição ou até mesmo extinção de um dos morfos na população (BARRET 2002).

Até onde temos conhecimento, não existem registros dos padrões morfo-funcionais de flores aqui observados para espécies enantiostílicas, portanto sugerimos a existência de variações na enantiostilia, sendo *C. flexuosa* uma espécie enantiostílica variante ou atípica, com benefícios associados à maior capacidade de captação do pólen no corpo dos polinizadores.

Agradecimentos

Ao CNPq pela auxílio financeiro e a administração da RPPN Nossa senhora do Oiteiro de Maracaípe pela autorização para a realização do estudo na área e por ter disponibilizado infra estrutura para realização do estudo.

Referências

- ALMEIDA JR, E. B.; OLIVO, M.A; ARAÚJO, E.L. & ZICKEL, C.S. 2009. Caracterização da vegetação de restinga da RPPN de Maracaípe, PE, Brasil, com base na fisionomia, flora, nutrientes do solo e lençol freático. *Acta botânica brasílica* 23(1): 36-48.
- ARROYO, M.T.K. 1981. Breeding systems and pollination biology in Leguminosae. In *Advances in Legume Systematics* (R.M. Polhill & P.H. Raven, eds.) (Part 2). Royal Botanic Gardens, Kew, p.723-769.
- ARROYO, J. 2002 *Narcissus* (Amaryllidaceae), la evolución de los polimorfismos florales y la conservación más allá de las “listas rojas” *Revista Chilena de Historia Natural* 75: 39-55.
- BARRETT, S. C. H.; RICHARDS, J. H. 1990. Heterostyly in tropical plants. *Memoirs of the New York Botanical Garden* v. 55, p. 35-61..
- BARRET, S.C.H. 2002. The evolution of plant sexual diversity. *Nature Reviews Genetics* 3: 274–284.
- BUCHMAN, S.L. 1983. Buzz pollination in angiosperms. In *Handbook of Experimental Pollination* (C.E. Jones & R.J. Little, eds.). Van Nostrand Reinhold, New York, p.73-113.
- CARVALHO, D.A., OLIVEIRA, P.E. 2003. Biologia reprodutiva e polinização de *Senna sylvestris* (Vell.) H. S. Irwin and Barneby (Leguminosae, Caesalpinioideae). *Revista Brasileira de Botânica* 26: 319–328.
- COSTA, C.B.N.; LAMBERT, S.M.; BORBA, E.L. & DE QUEIROZ, L.P. 2007. Post zygotic reproductive isolation between sympatric taxa in the *Chamaecrista desvauxii* complex (Leguminosae-Caesalpinioideae). *Ann Bot* 99: 625–635.

- DELGADO, S. A. & SOUZA, S. M. 1997. Biología floral do gênero *Cassia* em La region de Los Tuxtlas, Vera Cruz. Bol. Soc. Bot. M., 37: 5-45.
- DULBERGER, R. 1981. The floral biology of *Cassia didymobotrya* and *C. auriculata* (Caesalpinaceae). American Journal of Botany 68: 1350–1360.
- DUTRA, V.F., VIEIRA, M.F., GARCIA, F.C.P., LIMA, H.C. 2009. Fenologia reprodutiva, síndromes de polinização e dispersão em espécies de leguminosae dos campos rupestres do parque estadual do itacolomi, Minas Gerais, Brasil. Rodriguésia 60, 371-387.
- FAEGRI, K. & VAN DER PIJL, L. 1979. The principles of pollination ecology. 3ed. Pergamon Press, London.
- FENSTER, CB. 1995. Mirror image and their effect on outcrossing rate in *Chamaecrista fasciculata* (Leguminosae). American Journal of Botany 82: 46–50.
- GANDERS, F. R. The biology of heterostyly. New Zealand Journal of Botany, v. 17, p. 607-635, 1979.
- GOTTSBERGER, G. & SILBERBAUER-GOTTSBERGER, I. 1988. Evolution of flower structures and pollination in Neotropical Cassiinae (Caesalpinaceae) species. Phytol 28:293-320.
- HAMILTON, C. W. Variations on a distylous theme in Mesoamerican *Psychotria* subgenus *Psychotria* (Rubiaceae). Memoirs of the New York Botanical Garden, v. 55, p. 65-75, 1990.
- HERRERA, C.M. 1996. Floral traits and plant adaptation to insect pollinators: a devil's advocate approach. En: Lloyd DG & SCH BARRETT (eds) Floral biology: studies on floral evolution in animal-pollinated plants: 65-87. Chapman & Hall, New York, New York.
- INMET (Instituto Nacional de Meteorologia). 2005. Disponível em www.inmet.gov.br. (Acessado em: 20/11/2009).
- JESSON, L.K. & BARRETT, S.C.H. 2002. Solving the puzzle of mirror-image flowers. Nature 417:707.
- JESSON, L.K., & BARRETT, S.C.H. 2003. The comparative biology of mirror-image flowers. Int. J. Sci., 164 (5 Suppl.): 237-249.
- KEARNS, C.A. & INOUE, D.W. 1993. Techniques for pollination biologists. University of Colorado Press, Niwot.
- KÖPPEN, W. 1948. Climatologia: com un estudio de los climas de la tierra. Mexico.

- KRIECK, C.; FINATTO, T.; MÜLLER, T.S.; GUERRA, M.P.; ORTH, A.I. 2008. Biologia reprodutiva de *Alpinia zerumbet* (Pers.) B.L.Burtt & R.M.Sm. (Zingiberaceae) em Florianópolis, Santa Catarina Rev. Bras. Pl. Med., Botucatu, v.10, n.2, p.103-110.
- LAPORTA, C. 2005. Floral biology and reproductive system of enantiostylous *Senna corymbosa* (Caesalpinaceae). Revista de Biologia Tropical Vol. 53 (1-2): 49-61.
- LEITE, A.V. & MACHADO, I.C. 2010. Reproductive biology of woody species in caatinga, a dry forest of northeastern Brazil. Journal of arid environments. 74, 1374-1380.
- LIU, H & KOPTUR, S. 2003. Breeding system and pollination of a narrowly endemic herb of the Lower Florida Keys: impacts of the urban-wildland interface. American Journal of Botany 90: 1180-1187.
- OLIVEIRA-REBOUÇAS, P. & GIMENES, M. 2004. Abelhas (Apoidea) visitantes de flores de *Comolia ovalifolia* DC Triana (Melastomataceae) em uma área de restinga na Bahia. Neotropical Entomology, 33 (3): 315-320.
- OWENS, S.J. & LEWIS, G.P. 1989. Taxonomic and functional implications of stigma morphology in species of *Cassia*, *Chamaecrista*, and *Senna* (Leguminosae: Caesalpinioideae). Plant Systematics and Evolution, 163: 93-105.
- RIBEIRO, R.A. AND LOVATO, M.B. 2004. Mating system in a neotropical tree species, *Senna multijuga* (Fabaceae). Genet. Mol. Biol. vol.27, n.3, pp. 418-424.
- RICHARDS, J. H.; KOPTUR, S. 1993. Floral variation and distyly in *Guettarda scabra* (Rubiaceae). American Journal of Botany, v. 80, n 1, p. 31-40,
- SCHLINDWEIN, C. 2000. A importância de abelhas especializadas na polinização de plantas nativas e conservação do meio ambiente. Anais do Encontro sobre Abelhas 4: 131-141.
- 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, v. 15, n 3, p. 161-169,
- SUDENE. 1990. Dados pluviométricos do Nordeste – Pernambuco. Série pluviométrica. Superintendência para o Desenvolvimento do Nordeste, Recife.
- VIANA, V. M. & PINHEIRO, L. A. F. V. 1998. Conservação da biodiversidade em fragmentos florestais. Série Técnica IPEFv. 12, n. 32, p. 25-42.

WESTERKAMP, C. 2004. Ricochet pollination in Cassias – and how bees explain enantiostyly. In: Magalhães FB, Pereira JO, eds. Solitary bees: conservation, rearing and management for pollination. Fortaleza: Universidade Federal do Ceara', 225–230.

VOGEL S. 1978. Evolutionary shifts from reward to deception in pollen flowers. In The pollination of flowers by insects (A.J. Richards, ed.). Academic Press, London, p.89-96.

VOGEL S. 1990. The role of scent glands in pollination. A.A. Balkema, Rotterdam.

Tabela 1. Resultados do sistema reprodutivo de *Chamaecrista flexuosa* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil. D= flores direitas; E= flores esquerdas; C= flores centrais. N° de flores/% frutos formados

Controle								
	D			E			C	
	36/44,4			43/48,8			28/64,2	
Autopolinização espontânea								
	D			E			C	
	43/00			38/00			47/00	
Autopolinização manual								
	D			E			C	
	22/45,4			24/66,6			20/60	
Polinização cruzada								
DxD	DxE	DxC	ExD	ExE	ExC	CxD	CxE	CxC
24/83,3	31/51,6	27/48,1	23/43,4	30/60	28/50	32/37,5	24/37,5	40/45

Tabela 2. Comportamento dos visitantes florais das flores de *Chamaecrista flexuosa* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil.

Espécie	Forma de coleta do recurso	Resultado da vista
<i>Centris</i> sp.	Vibradora	Polinizador
<i>Eufriesea</i> sp.	Vibradora	Polinizador
<i>Florilegus</i> (<i>Euflorilegus</i>) sp.	Vibradora	Polinizador
<i>Triepeolus</i> sp.	Vibradora	Polinizador
<i>Xylocopa</i> (<i>Neoxylocopa</i>) <i>carbonaria</i>	Vibradora	Polinizador
<i>Xylocopa</i> (<i>Neoxylocopa</i>) <i>cearensis</i>	Vibradora	Polinizador
<i>Xylocopa</i> (<i>Neoxylocopa</i>) <i>grisencens</i>	Vibradora	Polinizador

Tabela 3. Ocorrência de diferentes morfos das flores de *Chamaecrista flexuosa*, pela análise da pétala falcada (morfologia) em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil. ME= flor morfologicamente esquerda; MD= flor morfologicamente direita.

Agrupamentos	A		B		C		D		E		Total	
Morfos florais	ME	MD	ME	MD	ME	MD	ME	MD	ME	MD	ME	MD
Nº de flores	07	08	56	42	48	39	22	21	65	47	198	157

Tabela 4. Ocorrência de diferentes morfos das flores de *Chamaecrista flexuosa*, pela análise do deslocamento do estigma (funcionalidade) em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil. FE= flor funcionalmente esquerda; FD= flor funcionalmente direita; FC= flor funcionalmente central.

Agrupamentos																		
A			B			C			D			E			Total			
Morfos florais																		
FE	FD	FC	FE	FD	FC	FE	FD	FC	FE	FD	FC	FE	FD	FC	FE	FD	FC	
Nº de flores																		
04	08	03	47	15	36	42	13	32	19	10	14	53	20	34	165	66	124	

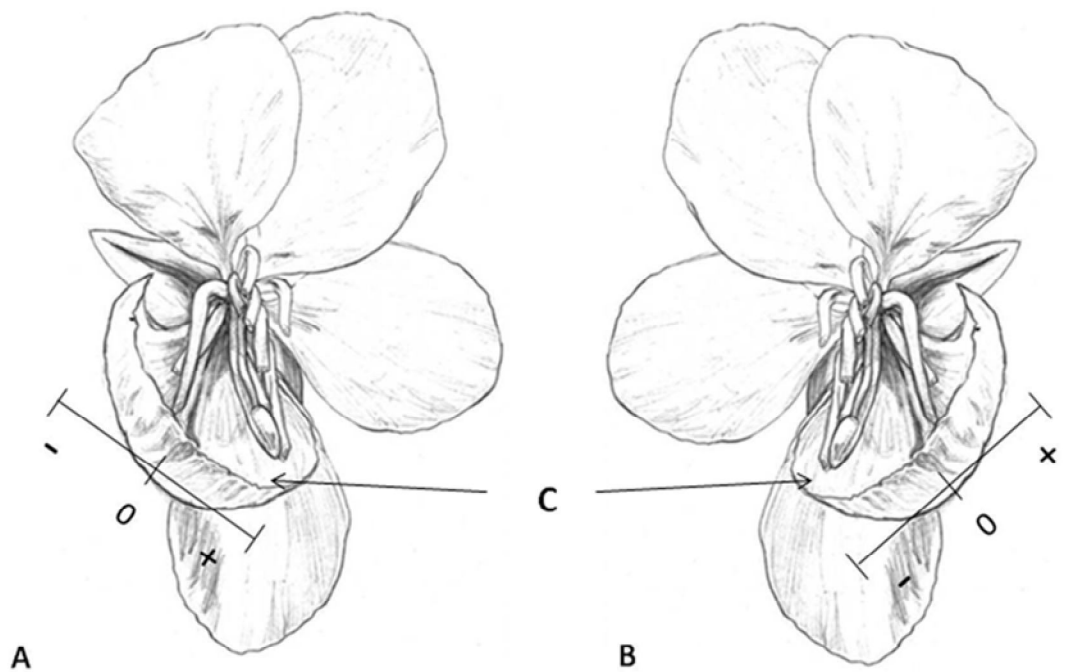


Figura 1. Flores direita (A) e esquerda (B) mostrando a pétala falcada (C) da espécie enantiofítica *Chamaecrista flexuosa* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil.

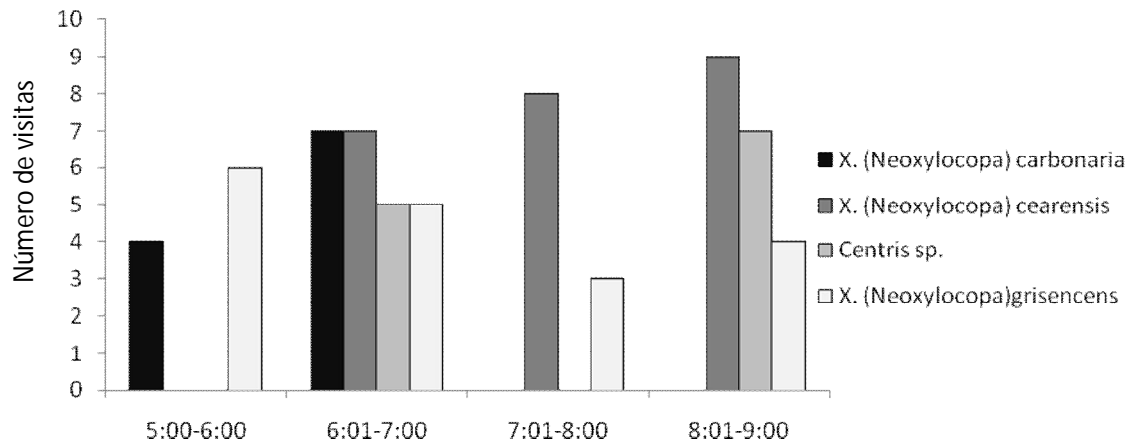


Figura 2. Frequência de visitas as flores de *Chamaecrista flexuosa* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil.

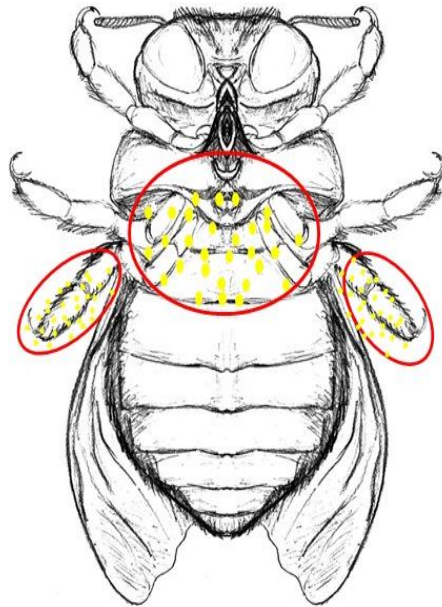


Figura 3. Locais de deposição de pólen nas abelhas visitantes de *Chamaecrista flexuosa* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil.

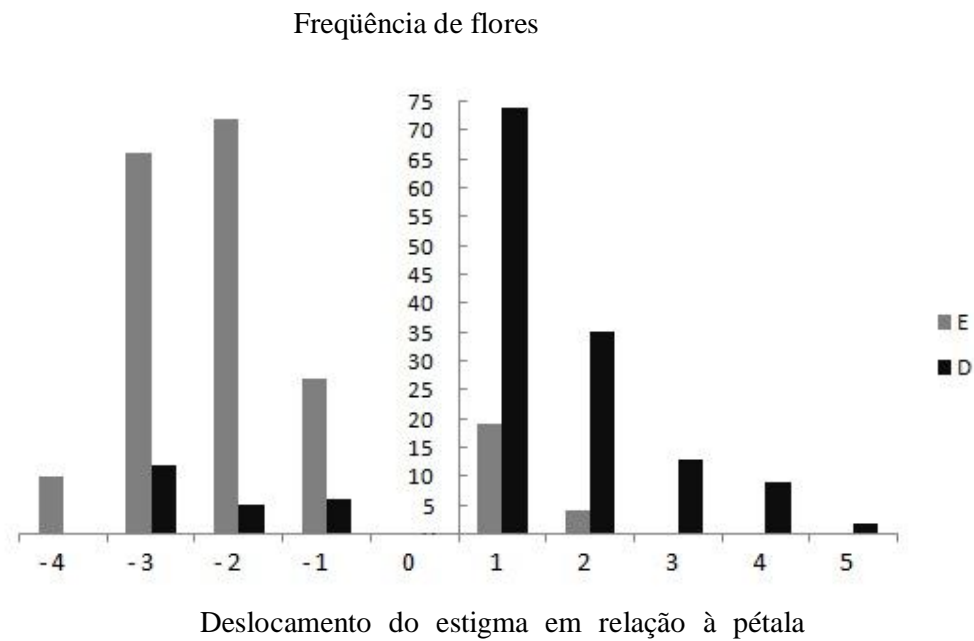


Figura 4. Frequência dos morfos florais em relação a morfologia da pétala falcada em flores de *Chamaecrista flexuosa* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil.

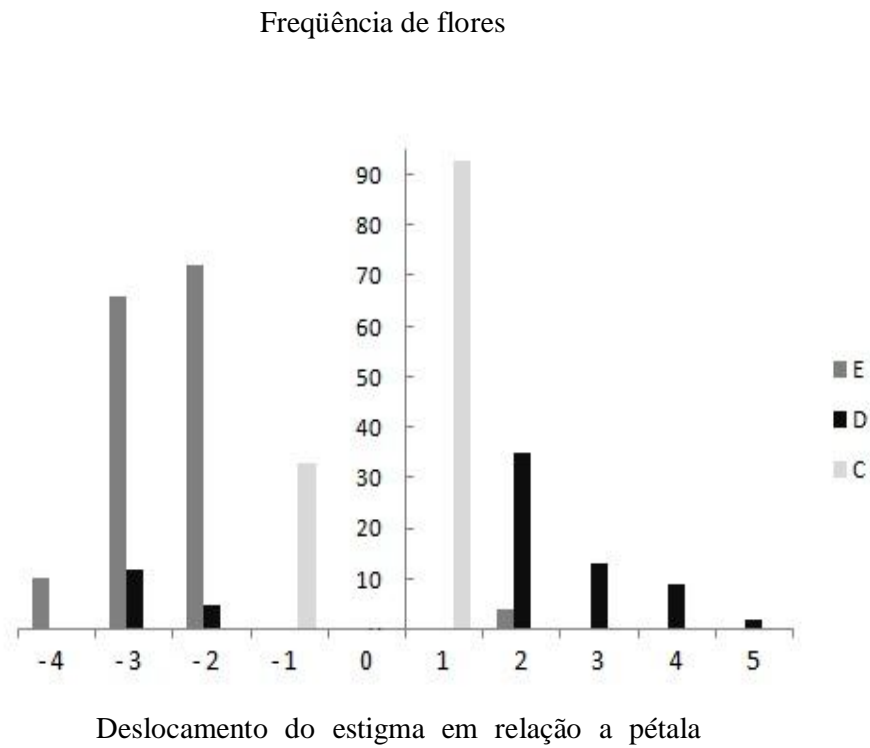


Figura 5. Ocorrência dos morfos florais em relação a funcionalidade em flores de *Chamaecrista flexuosa* em uma área de vegetação costeira em Pernambuco, Brasil.

6. ANEXOS

Normas para publicação na revista
FLORA

1. FLORA publishes regular articles and reviews, the latter solicited by the editors. Only contributions will be accepted which have not been published previously. Manuscripts should be submitted in triplicate to the Editor-in-Chief: Prof. i.R. Dr. Rainer Lösch, Nebensteingasse 1, D-63739 Aschaffenburg, Germany, e-mail: loesch@uni-duesseldorf.de. In cases with difficult postage connections, manuscript submission may occur also in form of an e-mail attachment. An electronic file of the text (by preference in "Word" under "Windows") should be delivered after manuscript acceptance; it is not needed to add it earlier. Correspondence between authors and editor occurs by preference via e-mail.
2. Copyright. Once a paper is accepted, authors will be asked to transfer copyright (for more information on copyright, see <http://www.elsevier.com/authorsrights>). A form facilitating transfer of copyright will be provided after acceptance. If material from other copyrighted works is included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article.
3. The manuscript will be reviewed by two referees, at least one of them being a Flora Editorial Board member. Decision about acceptance of a manuscript is based upon these reviews.
4. Manuscripts should be written in English or German; publication in English is recommended. Publication in French or Spanish is possible in exceptional cases by appointment of the editor-in-chief. Authors not using their mother tongue are strongly advised to have the text reviewed by a native speaker before submission. Manuscripts should be submitted in final form and prepared in accordance with the journal's accepted practice, form and content. Manuscripts should be checked carefully to exclude the need for corrections in proof. They should be typed doublespaced throughout, on one side of the paper only and with wide margins.
5. The first page (title page) should contain the full title of the paper, the full name(s) and surname(s) of the author(s), name of laboratory where the study was carried out, and the address (incl. e-mail) of the author(s).
6. Each manuscript must be preceded by an English title and an English abstract which presents briefly the major results and conclusions of the paper. In case of non-English written papers this summary must be more extensive as normal and may be as long as maximally 1½ printed pages. Immediately following the abstract, up to six English key words should be supplied indicating the scope of the paper. Legends of figures and tables must be given also in English in the case of non-English papers.
7. Papers should be written as concise as possible; as a rule, the total length of an article must not exceed 10 printed pages; exceptions are possible only upon explicit consent of the editors. The main portion of the paper should preferably be divided into four sections: Introduction, Materials and methods, Results, and Discussion, followed by Acknowledgements (if necessary) and References. Each section and sub-section must bear a heading.
8. Text marking: Names of Authors should not be written in capitals. Scientific names up to the genus are to be written in italics or underlined with a wavy line (*Viola alba* subsp. *alba*); plant community names are not to be printed in italics (*Seslerietum*, but *Sesleria-slope*). The SI-System of units must be used wherever possible.
9. The beginning of a paragraph should be indented. The section "References", captions for illustrations and tables will be printed in small print (petit).
10. Each table should be typed on a separate sheet of paper resp. on a separate page of a file. Tables should be numbered consecutively in Arabic numerals, e.g. "Table 1, Table

2”, etc., and attached to the end of the text. Tables should be supplied with headings, kept as simple as possible.

11. Figures (including photographic prints, line drawings and maps) should be numbered

consecutively in Arabic numerals, e.g. “Fig. 1, Fig. 2”, etc. and attached to the text after the tables. Legends for figures should be listed consecutively on a separate page. Plan all figures to suit a column width of 7.9 cm or a page width of 16.7 cm. Figures, in particular photographs, may be combined to a maximum plate size of 16.7 cm x 22.0 cm. Submit illustration files separately from text files. Files for full color images must be in a CMYK color space. All illustration files should be in TIFF or EPS formats. Journal quality reproduction will require greyscale and color files at resolutions yielding approximately 300 dpi. Bitmapped line art should be submitted at resolutions yielding 600-1200 dpi.

12. Photographs should be black-and-white, high-contrast, sharp glossy prints of the original negative and in a square or rectangular format. Free colour reproduction. If, together with your accepted article, you submit usable colour figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in colour on the web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in colour in the printed version. Colour figures can be printed only if the costs are covered by the author (€250.00 for first colour figure, €200.00 for every following colour figure). For further information on the preparation of electronic artwork, please see www.elsevier.com/locate/authorartwork. Magnification of microphotographs should be indicated by a scale bar. Inscriptions, marks, and scale bars should preferably be drawn neatly in black ink in an appropriate size on the face of the illustrations. When several pictures are used to produce a single plate, please ensure that they fit each other in size, are of equal contrast, and that they correspond to the caption in number and description.

13. Line drawings (incl. maps) should be large enough in all their details to permit a suitable reduction. Important points to note are thickness of lines, size of inscriptions, size of symbols, adequate spacing of shaded and dotted areas. Line drawings must be submitted as black drawings on white paper. If computerplotted they must have laserprint quality. If traditionally drawn the originals must be prepared with Indian ink according to the established methods of technical drawing.

14. Figures and tables should always be mentioned in the text in numerical order. The author should mark in the margin of the manuscript where figures and tables are to be inserted.

15. When quoting references in the text, the following format should be used: Meyer (1999) resp. (Meyer, 1999), Meyer and Smith (1995) resp. (Meyer and Smith, 1995) or Meyer et al. (1990) resp. (Meyer et al., 1990). Several papers by the same author(s) published in the same year should be differentiated in the text, and in the list of references, by a, b, c following the year of publication. “et al.” should be used in the text in the case of more than two authors. Quotations of references from different authors within one pair of brackets must be separated by semicolons, commas are to be put between the years of publication of papers of the same author: (Meyer, 1992, 1999; Meyer and Smith, 1995; Jones et al., 1998a, b). References should be listed alphabetically. Listings of several works by the same author should be grouped in chronological order. Then, papers of this author each with another one will follow according to the alphabetical order of the second author names, papers with three and

more authors (“et al.” in the text) will then be arranged again in the chronological order. The style to be used is shown in the following examples:

a. Papers published in periodicals:

Akhalkatsi, M., Wagner, J., 1996. Reproductive phenology and seed development of *Gentianella caucasea* in different habitats in the Central Caucasus. *Flora* 191, 161-168.
Zotz, G., Patiño, S., Tyree, M.T., 1997. CO₂ gas exchange and the occurrence of CAM in tropical woody hemiepiphytes. *J. Exp. Biol.* 192, 143-150.

b. Books:

Takhtajan, A., 1959. *Die Evolution der Angiospermen*. G. Fischer, Jena.

c. Papers published in multiauthor books:

Mathes, U., Feige, G.B., 1983. Ecophysiology of lichen symbiosis. In: Lange, O.L., Nobel, P.S., Osmond, C.B., Ziegler, H. (Eds.), *Physiological plant ecology. II. Responses to the chemical and biological environment. Encyclopedia of plant physiology. New Series, vol. 12C*, Springer, Berlin-Heidelberg-New York, pp. 423-467. The titles of books and papers in periodicals should always be quoted completely and exactly. Titles of periodicals should be abbreviated according to the usual rules listed e.g. in the *World List of Scientific Periodicals* or in *Biological Abstracts*. The number of the volume should be given in Arabic numerals.

16. When papers are cited which were originally published in languages which use alphabets other than Latin (e.g. Russian Cyrillic etc.), then the author, title of the paper and the periodical name itself must be transliterated using standards like ISO 1 or ISO 2 (cf. *Taxon* 30: 168-183).

17. *FLORA* is produced directly in page set. Consequently the author only receives the final page proofs for checking and approval. Extended corrections are not more possible at this stage.

18. Publication of an article of normal size and without color photographs in *FLORA* is free of charge to the author(s). In exchange, the Copyright of the article is transferred to the publisher. However, the author(s) will be free to use single figures or tables of the article in subsequent own work. The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via e-mail or, alternatively 30 free paper offprints. The PDF file is watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use. Additional offprints may be ordered when proofs are returned. Authors who pay for printed colour figures will be sent another 50 free off-prints. Until publication of the print edition, corrected proofs will be available at online first (www.sciencedirect.com).

19. Funding body agreements and policies. Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors who publish in Elsevier journals to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

Normas para publicação na revista
Plant Biology

Authors are encouraged to provide additional information as supplementary material that will be accessible online. Please identify the supplementary material as such in the manuscript.

Submission of Manuscripts

Please submit your manuscript online at <http://mc.manuscriptcentral.com/plabio> (*Plant Biology* no longer accepts submissions made by post or e-mail).

To submit a manuscript through ScholarOne Manuscripts, please follow these instructions:

1. If you do not yet have an account, click on 'Create Account'. You will then be sent a password by e-mail. If you already have an account, enter your user ID and password and click on 'Log In'. (Note: if necessary you can change your password under 'Edit My Account'.)
2. On the welcome page, click on 'Corresponding Author Center'.
3. You then reach the 'Author Center Dashboard', click on the star icon for manuscript submission.
4. Follow the steps 1-7 until manuscript submission is completed. The main document including title, abstract, key words (MS Word file), tables (MS Word files) and figures (*.eps, *.tif or *.jpg files) are loaded onto the system as individual files. (Note: you may also interrupt the online submission and continue at a later time.)
5. Submission of your manuscript will be confirmed by an e-mail that will give you the 'Manuscript ID Number'. Please refer to this number in all correspondence with the editorial office. Should you encounter difficulties submitting a manuscript to ScholarOne Manuscripts, please contact the editorial office by e-mail at annette.schlierenkamp@ctp.uni-freiburg.de or by telephone ++49(0)761/203-8300. Help is also available on the introductory page of ScholarOne Manuscripts in the form of an 'Online User's Guide'. To access the guide, click on 'Get Help Now' in the top right-hand corner.

Online production tracking is now available for your article through Wiley-Blackwell's Author Services

Author Services enables authors to track their article - once it has been accepted - through the production process to publication online and in print. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated e-mails at key stages of production. The author will receive an e-mail with a unique link that enables them to register and have their article automatically added to the system. Please ensure that a complete e-mail address is provided when submitting the manuscript. Visit <http://authorservices.wiley.com/bauthor/> for more details on online production tracking and for a wealth of resources including FAQs and tips on article preparation, submission and more.

Conditions for Publication

Please note that *Word 2007* is not yet compatible with journal production systems. Unfortunately, the journal cannot accept Microsoft Word 2007 documents until such time as a stable production version is released. Please use Word's 'Save As' option therefore to save your document as an older (.doc) file type.

Research papers may be submitted that have not been published previously, even as a summary. Concise presentation is required. Although the non-specialist reader should be kept in mind when abstracts, introductions and discussions are written, lengthy review type introductions and speculative discussions should be avoided. Experimental methods should be explained in detail except for standard procedures. Diffuse and

repetitive style should be avoided. Illustrations and tables should be limited to the truly essential material.

Plant Biology preferentially publishes **short research papers** (five printed pages maximum) that will be reviewed with high priority. **Concise review articles** that synthesize the state of the art in an original way are highly desirable for this journal.

Acute views contributions should contain brief comments on an actual problem.

NEW: Pre-submission English-language editing

Authors for whom English is a second language may choose to have their manuscripts professionally edited before submission to improve the English. A list of independent suppliers of editing services can be found at www.blackwellpublishing.com/bauthor/english_language.asp. All services are paid for and arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication.

Length of Papers

Papers should not exceed 8 printed pages or 9,000 words. One printed page in the journal (without figures and tables, with about 3 subheads and paragraphs) usually contains roughly 6200 characters. The number of figures plus tables should not exceed 9. Appendices will be published as Supporting Information rather than in the main text.

References: About 40 to 50 references usually fill one printed page.

Arrangement Research papers

Title page: The first page of each paper should indicate: The title, the author's names and affiliations, a short title for use as running head, the name, address, e-mail address, phone and fax number of the corresponding author, and 3 to 7 keywords. *Abbreviation:* List with abbreviations where appropriate. *Abstract:* Abstracts must not exceed 250 words. The following sections cover the usual contents: Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgements, References (see below), Tables (see below), Figure legends (see below), Illustrations (see below). In Materials and Methods, Results and Discussion subheadings are possible. If an author chooses to combine sections Results and Discussion, an additional section Conclusions can be added, but this must be brief.

Concise review articles

Choose subheadings as appropriate but do not use a numbering system. Title page, Key words, Abstract and other items as for full length papers.

Tables

Tables must be serially numbered in Arabic numerals and each must carry a brief descriptive heading. Tables reproduced from other publications must state their precise source. Only signs that can be typeset should be used in the tables and legends. Please provide Tables in Word and include them at the end of the manuscript after the References, each on a separate page. Refrain from using both tables and graphs to demonstrate the same results.

Figures and Graphics

Electronic artwork It is essential that all artwork is provided in electronic format. Please save vector graphics (e.g. line artwork) in Encapsulated Post-script (EPS) format and bitmap files (e.g. half-tones) in Tagged Image Format (TIFF). Detailed information on our digital illustration standards is available at <http://www.blackwellpublishing.com/bauthor/illustration.asp>. Please do not embed any tables and/or figures in the text document. If you should encounter difficulties upon submitting figures and graphics, please contact the editorial office by e-mail under

annette.schlierenkamp@ctp.uni-freiburg.de or by telephone under ++ 49/(0)761/203-8300.

Colour illustrations: Authors are required to cover the cost of colour printing. Therefore, please note that if there is colour artwork in your manuscript when it is accepted for publication, Blackwell Publishing require you to complete and return a [colour work agreement form](#) before your paper can be published. Colour printing costs €300 per article + VAT. Please supply colour work as eps, tiff or jpg files. The colour work form can be downloaded as a PDF from the internet. [To download PDF files you must have Acrobat Reader installed on your computer. If you do not have this program, this is available as a free download from the following web address:

<http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>. The web address for the form is http://www.blackwellpublishing.com/pdf/PLB_CWAF.pdf.

References

The list of references must include all (but no additional) references quoted. Arrange references alphabetically according to author name, not chronologically. The name of the journals containing the cited papers should be given in full. Each article reference should be given as in the following example: Alfano, J.R. and Collmer, A. (2004) Type III secretion system effector proteins: double agents in bacterial disease and plant defence. *Annual Review Phytopathology*. **42**, 385-414. Books or other non-serial publications which are quoted in the references must be cited as follows: Han, J. and Kamber, M. (2001) *Data Mining: Concepts and Techniques*, 1st edn. Morgan Kaufmann Publishers, San Francisco. Platt T., Sathyendranath S. (1995) Latitude as a primary factor in the calculation of primary production. In: H.R. Skoldahl, C. Hopkins, K.E. Erikstad & H.P. Leinaas (Eds). *Ecology of Fjords and Coastal Waters*. Elsevier, Amsterdam: 3-25. Articles not yet published may only be cited if they have definitely been accepted for publication. They must be denoted by the expression 'in press'. We recommend the use of a tool such as EndNote or Reference Manager for reference management and formatting.

Units

Plant Biology will follow the system of SI units (Systeme International d'Unites). Within a given paper chosen units must be uniform.

Abbreviation

Note that common abbreviations can be used without explanation. Others must be explained. In case of doubt always give an explanation. Use FW = fresh weight and DW = dry weight.

Scientific Names

Scientific names should be cited in their complete form when first mentioned with genus - species - authority - cultivar (cv.) or subspecies (ssp.) where appropriate. Latin names should be underlined or typed in *italics*. Subsequently the generic names should be abbreviated, but avoid confusion: e.g. use *A. comosus* if the only genus with a first letter A in your paper is *Ananas*; but use unambiguous abbreviations if you have more than one genus with the same first letter, e.g. *Ananas comosus*, *Aechmea nudicaulis* = *A. comosus*, *Ae. nudicaulis*, etc. Common names of organisms must be accompanied by the correct scientific name when first mentioned. For rare or exotic genera it may be useful to give the name of the family and/or higher taxon in brackets when first mentioned.

Copyright

Authors will be required to assign copyright of their paper to the German Botanical Society, Royal Botanical Society of the Netherlands and Blackwell Publishing.

Copyright assignment is a condition of publication and papers will not be passed to the publisher for production unless copyright has been assigned. (Papers subject to government or Crown copyright should tick box 3 on the form). Download the [Copyright Assignment Form](#) here. The publishers will not refuse any reasonable request by authors for permission to reproduce their contributions to the journal.

Reprints

A PDF offprint of the online published article and 25 printed offprints will be provided free of charge to the corresponding author, and may be distributed subject to the Publisher's terms and conditions. The corresponding author will be asked to provide up to seven email addresses for early distribution of a PDF offprint by the publisher. Additional paper offprints of the printed published article may be purchased if ordered via the method stipulated on the instructions that will accompany the proofs. Printed offprints are posted to the correspondence address given for the paper unless a different address is specified when ordered. Note that it is not uncommon for the printed offprints to take up to 8 weeks to arrive after publication of the journal. For further information please contact C.O.S. Printers PTe Ltd, 9 Kian Teck Crescent, Singapore 628875; Fax: +65 6265 9074; E-mail: offprint@cosprinters.com.

Author material archive policy

Please note that unless specifically requested, Blackwell Publishing will dispose of all hardcopy or electronic material submitted 2 months after publication. If you require the return of any material submitted, please inform the editorial office or production editor as soon as possible after the final decision about publication.