

REINALDO RODRIGO NOVO

BIOLOGIA REPRODUTIVA DE *Guettarda platypoda*
DC. (RUBIACEAE) EM UMA ÁREA DE RESTINGA
NO ESTADO DE PERNAMBUCO

RECIFE

2010

REINALDO RODRIGO NOVO

BIOLOGIA REPRODUTIVA DE *Guettarda platypoda*
DC. (RUBIACEAE) EM UMA ÁREA DE RESTINGA
NO ESTADO DE PERNAMBUCO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Botânica da Universidade Federal Rural de Pernambuco, como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de mestre em Botânica.

Orientadora: Prof^a. Dra. Cibele Cardoso de Castro

RECIFE

2010

Ficha catalográfica

N945b Novo, Reinaldo Rodrigo
Biologia reprodutiva de *Guettarda platypoda* DC.
(Rubiaceae) em uma área de restinga no Estado de
Pernambuco / Reinaldo Rodrigo Novo. – 2010.
47 f. : il.

Orientadora: Cibele Cardoso de Castro.
Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade
Federal Rural de Pernambuco, Departamento de Biologia,
Recife, 2010.

Inclui referências, anexo e apêndice.

1. Biologia reprodutiva 2. *Guettarda* 3. Heterostilia
4. Sistema reprodutivo 5. Polinização noturna
6. Esfingideo seca I. Cibele Cardoso de Castro, orientadora
II. Título.

CDD 581.5

REINALDO RODRIGO NOVO

BIOLOGIA REPRODUTIVA DE *Guettarda platypoda* DC. (RUBIACEAE) EM UMA
ÁREA DE RESTINGA NO ESTADO DE PERNAMBUCO

Dissertação apresentada e _____ em ____/____/____

Orientadora:

Prof.a. Dra. Cibele Cardoso de Castro

Examinadores:

Prof.a. Dra. Isabel Cristina S. Machado – UFPE (titular)

Prof.a. Dra. Tarcila Correia de Lima Nadia (titular)

Prof.a. Dra. Elisângela Lúcia de Santana Bezerra (titular)

Prof.a. Dra. Ana Virgínia de Lima Leite (suplente)

Recife
2010

Aos meus pais e aos meus irmãos.

AGRADECIMENTOS

À minha orientadora, Cibele Cardoso de Castro, pelos ensinamentos, críticas e sugestões ao longo do projeto.

Ao CNPq, pela bolsa de estudos.

A todos do LERA, em especial à professora Ana Virginia.

Aos professores do Programa de Pós-Graduação em Botânica/ UFRPE por colaborar com minha formação como MSc. em Botânica.

Aos colegas da turma do Programa, com os quais tenho respeito e consideração.

Aos responsáveis pela RPPN do Oiteiro de Maracaípe.

Aos meus companheiros de campo, Paula (Paulete), Heros, Márcio, Mariana, Natalia, Natan, Cristiane, Katarina e Omer, pela ajuda no campo.

Ao seu Zé e toda sua família, por tomarem conta da RPPN e pela assistência em todos os momentos.

À minha família que, desde sempre, me incentivou e apoiou.

À minha querida Sibebe, pelo companheirismo, amizade e apoio incondicionais.

Aos amigos Rodrigo Panda, Paulinha, Ricardo, Hector, Vini, Maíra, Fabio (Didi), Fernanda (feife), Gabi, Maria Lucia, Gileno, Tia Bui, Thiago (Jeff), Natan, Diogo (bracinho) e a todos que direta ou indiretamente são responsáveis por tornar os dias mais felizes e intensos.

Obrigado.

É preciso não esquecer nada:
nem a torneira aberta nem o fogo aceso,
nem o sorriso para os infelizes
nem a oração de cada instante.

É preciso não esquecer de ver a nova borboleta
nem o céu de sempre.

O que é preciso é esquecer o nosso rosto,
o nosso nome, o som da nossa voz, o ritmo do nosso pulso.

O que é preciso esquecer é o dia carregado de atos,
a idéia de recompensa e de glória.

O que é preciso é ser como se já não fôssemos,
vigiados pelos próprios olhos
severos conosco, pois o resto não nos pertence.

Cecília Meireles

SUMÁRIO

Resumo.....	viii
Abstract.....	ix
1. Introdução.....	10
2. Revisão de literatura.....	11
2.1. Heterostilia.....	11
2.2. Biologia reprodutiva de espécies distílicas de Rubiaceae no Brasil	12
3. Referências bibliográficas.....	15
4. Capítulo 1. Distilia atípica e polinização noturna de <i>Guettarda platypoda</i> C. (Rubiaceae) em uma área de restinga do Nordeste Brasileiro.....	23
Resumo.....	24
Introdução.....	25
Material e Métodos.....	26
Resultados.....	29
Discussão.....	32
Referências bibliográficas.....	35
5. Anexo.....	45

LISTA DE TABELAS

Capítulo 1

Tabela 1. Morfometria floral de *Guettarda platypoda* (Rubiaceae) em uma área de restinga de Pernambuco. Os valores (mm) são expressos em média \pm desvio padrão (p: valor de p para o Teste de Tukey)..... 38

Tabela 2. Produção de frutos (%) após os tratamentos de polinização manual (número de flores entre parênteses) e controle em flores de *Guettarda platypoda* (Rubiaceae) em uma área de restinga de Pernambuco. AE: autopolinização espontânea, APX: apomixia, AP: autopolinização manual, INTER: cruzamentos intermorfos, INTRA: cruzamentos intramorfos, CO: controle. Letras minúsculas diferentes na mesma linha, e maiúsculas na mesma coluna representam diferença significativa pelo teste Exato de Fisher ($p < 0.05$)..... 39

LISTA DE FIGURAS

Capítulo 1

- Figura 1. Localização da área de estudo (Reserva Particular do Patrimônio Natural Nossa Senhora do Oiteiro de Maracápe, município de Ipojuca, região metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil)..... 40
- Figura 2. Flores de *Guettarda platypoda* (Rubiaceae) de uma área de restinga do Nordeste do Brasil. A) flor brevistila (seta: anteras); B) corte longitudinal de flor brevistila (setas: estigma e anteras); C) flor longistila (setas: posição do estigma); D) corte longitudinal do botão floral de flor longistila..... 41
- Figura 3. Reciprocidade entre os elementos sexuais de flores brevistilas e longistilas de *Guettarda platypoda* (Rubiaceae) em uma área de restinga do Nordeste do Brasil. A: altura do estigma de flores brevistilas (AEB) e de anteras de flores longistilas (AAL); B: Altura do estigma de flores longistilas (AEL) e de anteras de flores brevistilas (AAB)..... 42
- Figura 4. Distribuição dos indivíduos com base nas alturas (mm) de estigma (ae) e anteras (aa) de flores brevistilas (B) e longistilas (L) de *Guettarda platypoda* (Rubiaceae) em uma área de restinga do Nordeste do Brasil. A: altura do estigma de flores B e das anteras de flores L; B: altura do estigma de flores L e das anteras de flores B..... 43
- Figura 5. Frequência de visitas observadas em indivíduos de flores brevistilas e longistilas de *Guettarda platypoda* (Rubiaceae) em uma área de restinga do Nordeste do Brasil. Os valores de “Intervalo de hora (h)” representam intervalos de uma hora com início as 17:00 horas..... 44

RESUMO

A distilia é uma síndrome encontrada principalmente na família Rubiaceae, caracterizada por um dimorfismo floral no qual alguns indivíduos possuem flores brevistilas (B) e outros possuem flores longistilas (L). Espécies tipicamente distílicas possuem hercogamia recíproca entre os morfos opostos, um mecanismo de auto-incompatibilidade e de incompatibilidade intramorfo, e uma proporção equilibrada dos morfos florais na população (isoplelia). Pressões seletivas tais como o isolamento reprodutivo ou a deficiência dos serviços de polinização, podem acarretar na quebra da distilia, resultando em modificações nos padrões morfológicos e reprodutivos em espécies de grupos tipicamente distílicos. Este estudo investigou a biologia floral, o sistema reprodutivo, a polinização e as relações morfométricas de flores de *Guettarda platypoda* DC. (Rubiaceae) em uma área de restinga do litoral sul do Estado de Pernambuco, utilizando medições das peças florais, experimentos de polinização manual, estimativa da razão entre morfos e observação focal dos visitantes florais. *Guettarda platypoda* possui flores hermafroditas, tubulares, que produzem néctar, emitem forte odor, são noturnas e polinizadas por mariposas e esfingídeos. Os dados morfométricos mostraram ausência de reciprocidade entre morfos florais, o que pode limitar a funcionalidade da distilia. Ambos os morfos florais formaram frutos em todos os experimentos realizados de polinização manual, e por esta razão a espécie pode ser considerada auto e intra-morfo compatível. Devido a essas características, a espécie pode ser classificada como distílica atípica. Tanto a condição morfológica encontrada nas populações de *G. platypoda* quanto a autocompatibilidade podem estar relacionadas à quebra da distilia, o que pode ter ocorrido por ineficiência dos serviços de polinização e/ou fragmentação do habitat, uma vez que a área de estudo sofre forte impacto ambiental. Estudos genéticos mais específicos devem ser realizados para investigar a integridade do supergene no gênero, uma vez que outros estudos evidenciaram variações morfológicas semelhantes em outras regiões, algumas também atribuídas ao serviço de polinização.

Palavras-chave: distilia, esfingofilia, incompatibilidade, polinização, Rubiaceae

ABSTRACT

Distyly is a syndrome mainly found in the Rubiaceae family, being characterized by a floral dimorphism in which some individuals have thrum flowers (T) and others have pin ones (P). Typical distylous species present reciprocal herkogamy between floral morphs, a self and intramorph incompatibility mechanism and an equilibrated proportion of morphs in the population (isoplethy). Selective pressures such as the reproductive isolation or deficient pollination services may result in the break down of the distylous syndrome, and consequently in modifications on morphological and reproductive patterns of species of typically distylous groups. This study investigated the floral biology, the breeding system, the pollination and the floral morphometric relations of *Guettarda platypoda* DC. (Rubiaceae) in an area of coastal vegetation in the Pernambuco state, using measurement of floral parts, hand pollination experiments, estimate of floral morphs ratio in the population and focal observation of floral visitors. *Guettarda platypoda* have hermaphrodite, tubular, nectariferous flowers that produce a sweet odor; anthesis is nocturnal and flowers are pollinated by mophs and sphingids. Morphometric data showed the absence of reciprocity between the floral morphs, a feature that may limit distyly function. Both floral morphs produced fruits after all hand pollination experiments, and the species may be considered self and intramorph compatible. Because of these features, the species is considered as atypically distylous. Both the morphological and the compatibility conditions recorded here may be related to the break down of the distylous syndrome, which may be occurred because of deficient pollination services and/or habitat fragmentation, since the study area is strongly altered by antropogenic occupation. More specific genetical studies must be developed to investigate the distyly supergene integrity in the genus, since other studies showed similar morphological variations in other regions, some of them also related to pollination services.

Key words: Distyly, sphingophyly, incompatibility, pollination, Rubiaceae

INTRODUÇÃO

A distília é um dimorfismo floral geneticamente controlado, caracterizado pela existência de dois morfos florais, diferenciados pela separação espacial (hercogamia) entre a altura do estigma e das anteras e a posição recíproca entre os diferentes morfos florais (WEB e LLOYD, 1986; BARRETT, 1992). Os indivíduos que produzem flores de estilete longo e filetes curtos são denominados longistilos (L), e os que produzem flores de estilete curto e filetes longos são denominados brevistilos (B). Espécies tipicamente distílicas são auto-incompatíveis e apresentam incompatibilidade intramorfo, de forma que, na maioria das vezes, apenas os cruzamentos entre flores de morfos distintos são capazes de produzir progênie viável (GANDERS, 1979; WEB e LLOYD, 1986; BARRETT, 2002; BARRETT, 2003). Além disso, comumente pode-se encontrar uma razão equilibrada entre indivíduos de ambos os morfos florais nas populações (isopleia) (GANDERS, 1979).

A distília é interpretada como uma estratégia que minimiza as chances de autofertilização e promove o fluxo polínico entre morfos, devido à diminuição da interferência entre estigma e anteras e a deposição de pólen B e L em porções diferentes do corpo do polinizador (WEB e LLOYD, 1986; BARRETT, 2002). Outras diferenças morfológicas (ditas secundárias) podem ser observadas entre os morfos florais distílicos, como o tamanho da corola, o número e o tamanho dos grãos de pólen, tamanho e morfologia do estigma e das papilas estigmáticas (BARRETT e RICHARDS, 1990; RICHARDS e KOPTUR, 1993). Algumas espécies distílicas podem apresentar desvios nos padrões morfológicos e de cruzamentos, como ausência de reciprocidade e autocompatibilidade, relacionadas à quebra do supergene responsável pela expressão da distília (GANDERS, 1979; BAWA e BEACH, 1983; RICHARDS e KOPTUR, 1993; RIVEROS et al., 1995).

A família Rubiaceae compreende cerca de 9.000 espécies distribuídas pelo mundo, sendo mais representada em regiões tropicais, onde já foram registradas aproximadamente 5.000 espécies (SOUZA e LORENZI, 2005). É a família com o maior número de gêneros heterostílicos dentre as Angiospermas (SOUZA e LORENZI, 2005; BARRETT, 1992). No Brasil ocorrem cerca de 2.000 espécies de Rubiaceae distribuídas em 120 gêneros, sendo considerada uma das principais famílias da flora brasileira (SOUZA e LORENZI, 2005).

Muitos estudos tem colaborado com informações acerca da biologia reprodutiva em diferentes espécies distílicas da família Rubiaceae no Brasil (CASTRO et al., 2004; TEIXEIRA e MACHADO, 2004a,b; ROSSI et al., 2005; MENDONÇA e ANJOS, 2006; SOUZA et al., 2007; VIRILLO et al., 2007; SOUZA et al., 2007; FONSECA et al., 2008), no entanto, muito destes estudos tem investigado espécies relacionadas a poucos gêneros, tais como *Psychotria* e *Palicourea*. Espécies do gênero *Guettarda* DC. (subfamília Antirrhoideae, tribo Guettardeae) têm sido registradas como distílicas atípicas (RICHARDS e KOPTUR, 1993; CONSOLARO, 2008), no

entanto poucas espécies deste gênero foram investigadas, e portanto pouco se pode afirmar sobre questões ecológicas relacionadas à distília no gênero.

Guettarda platypoda DC. é uma espécie arbustiva com ampla distribuição no litoral brasileiro, principalmente na região Nordeste (PEREIRA e BARBOSA, 2004; ZICKEL et al., 2007), incluindo restingas, que são ecossistemas bastante ameaçados pela ocupação humana. O objetivo geral desse estudo foi investigar a biologia floral, o sistema reprodutivo e a polinização, de *Guettarda platypoda* DC. em uma área de restinga na região Nordeste do Brasil

REVISÃO DE LITERATURA

Heterostilia

A hercogamia é um mecanismo que promove a separação espacial das partes feminina e masculina de flores hermafroditas, reduzindo a interferência entre o estigma e as anteras além de diminuir diretamente as chances de formação de frutos por autopolinização (WEBB e LLOYD, 1986). A heterostilia é um tipo de hercogamia caracterizada por um polimorfismo floral, de controle genético, onde ocorre a formação de dois (distília), e raramente três (tristília) morfos florais distintos respectivamente, em diferentes indivíduos de uma mesma espécie (GANDERS, 1979; WEB e LLOYD, 1986; BARRETT, 1992). Este polimorfismo está associado a diferenças recíprocas na altura dos estigmas e das anteras nos diferentes morfos florais (hercogamia recíproca) e ao sistema de auto-incompatibilidade e incompatibilidade intramorfo, de modo que apenas o pólen de anteras posicionadas na mesma altura do estigma do morfo oposto são compatíveis, além de uma proporção equilibrada de morfos na população (GANDERS, 1979; WEB e LLOYD, 1986, BARRETT e RICHADS, 1990; BARRETT, 1992).

Espécies distílicas possuem indivíduos com flores de estilete longo e filetes curtos, conhecidos como longistilos, e indivíduos de estilete curto e filetes longos, denominados brevistilos. Devido ao arranjo morfológico das flores de espécies distílicas, associado ao sistema de incompatibilidade, a produção de frutos dessas espécies torna-se dependente obrigatório do fluxo de pólen entre os morfos, de forma que o sucesso reprodutivo de espécies distílicas está diretamente relacionado à deposição do pólen das flores de ambos os morfos em diferentes partes do corpo do polinizador (GANDERS, 1979; WEB e LLOYD, 1986; BARRETT, 1992; KHON e BARRETT, 1992). Outras características morfológicas entre os morfos florais (denominadas secundárias) freqüentemente podem ser observadas em espécies heterostílicas, tais como a morfologia da corola (maior em B), produção polínica (maior em B), o tamanho dos grãos de pólen (maior em L), além da arquitetura da exina desses grãos, a morfologia do estigma e das células das papilas estigmáticas (BARRETT, 1992).

Algumas espécies podem apresentar variações desses padrões encontrados na síndrome da distília. Essas variações podem se apresentar nos padrões morfológicos e/ou do sistema reprodutivo. As espécies com tais variações são consideradas variantes ou atípicas (SOBREVILA et al., 1983; HAMILTON, 1990; BARRETT, 1992; RICHARDS e KOPTUR, 1993). Dentre essas variações, podemos encontrar principalmente os seguintes casos: a) homostília, caracterizada por indivíduos com flores que apresentam estigma e anteras no mesmo nível; esta pode estar acompanhada do morfo brevistilo, longistilo ou ambos; b) monomorfismo, caracterizado pela presença de apenas um dos morfos na população, brevistilo ou longistilo. Tais variações podem ocorrer como resposta a pressões ecológicas como perturbações ambientais, pouca eficiência dos polinizadores ou ausência dos mesmos, ou mesmo a eliminação total ou parcial de um dos morfos da população (BARRETT, 2002).

Biologia reprodutiva de espécies distílicas de Rubiaceae no Brasil

No Brasil, estudos têm gerado informações diversas a respeito da biologia reprodutiva e aspectos importantes da distília de espécies da família Rubiaceae (Tabela 1). A maioria destes estudos envolveu espécies de Mata Atlântica, sendo algumas poucas espécies de Cerrado e Caatinga.

Dentre os estudos desenvolvidos em áreas de Mata Atlântica do Estado de Pernambuco, Machado e Loiola (2000) registraram a existência de um heteromorfismo anômalo em *Borreria alata*, devido a um polimorfismo relacionado principalmente ao comprimento do estilete, e em algumas flores foram identificadas diferenças na altura das anteras e possivelmente uma relação de autocompatibilidade. Teixeira e Machado (2004a) apresentam dados sobre a biologia floral, o sistema reprodutivo e a polinização de *Sabicea cinerea*. A espécie apresentou dois morfos nas populações, sendo considerada distílica, no entanto foi observado ausência de hercogamia recíproca devido a diferenças entre a altura do estigma de flores longistilas e as anteras de brevistilas. Além disso, os morfos foram encontrados em proporções desiguais, com maior número de indivíduos longistilos, o que pode estar relacionado à reprodução vegetativa, uma característica da espécie estudada. O tubo polínico de ambos os morfos indicou a existência de um sistema de auto-incompatibilidade com reação no estigma nos tratamentos de autopolinização e no estilete nos tratamentos de cruzamento intramorfo. Além disso, não houve formação de frutos nos tratamentos citados acima, sendo a espécie considerada auto-incompatível.

Ainda em área de Mata Atlântica de Pernambuco, temos o trabalho de Teixeira e Machado (2004b), que investigaram a biologia floral, o sistema reprodutivo e a polinização de *Psychotria barbiflora*. Foi observada isopletia na população. As flores do morfo brevistilo apresentaram o estigma significativamente maior do que as anteras do morfo oposto, não apresentando

reciprocidade. A espécie estudada não apresentou formação de frutos nos testes de autopolinização manual. Os testes de tubo polínico mostraram reação de incompatibilidade na região do estigma em flores brevistila e na região mediana em flores longistila, ambas observadas após os tratamentos de autopolinização manual.

Em uma área de Mata Atlântica do estado de São Paulo, Castro e Oliveira (2002) investigaram a biologia floral e os polinizadores de quatro espécies de Rubiaceae (*Rudgea jasminoides*, *Psychotria birotula*, *P. mapourioides* e *P. pubigera*), sendo uma delas ocorrente em área de restinga e as outras três em floresta de encosta. Todas as espécies apresentaram hercogamia recíproca. Foi observado uma maior concentração de açúcares no néctar nas flores do morfo brevistilo de *P. mapourioides* e *P. pubigera*. Os autores observaram que alguns visitantes florais tinham preferência pelo morfo longistilo em *Rudgea jasminoides*, *Psychotria birotula* e *P. mapourioides*, indicando a ocorrência de um fluxo assimétrico de pólen entre os morfos. Por outro lado, *P. pubigera* apresentou maior atração no morfo brevistilo, o mesmo que apresentou maior concentração de açúcares. O sistema reprodutivo e a morfometria floral também foram estudados para estas espécies (CASTRO et al., 2004), sendo registrada distília típica para todas as espécies exceto *P. pubigera*, que possui populações anisopléticas. Ainda na mesma área de Mata Atlântica, Castro e Araujo (2004) investigaram a biologia reprodutiva de *Psychotria nuda*, espécie arbustiva que apresentou atributos de espécies tipicamente distílicas tais como isoplelia e auto-incompatibilidade e incompatibilidade intramorfo, no entanto a população estudada apresentou ausência de reciprocidade de estigma e anteras, sendo considerada distílica atípica.

Outra espécie estudada na mesma área de Mata Atlântica (restinga) supracitada foi a liana *Chiococca alba* (CASTRO et al., 2008). A espécie apresentou separação espacial expressa pela posição superior do estigma em relação às anteras. No entanto, apresentou um único morfo na população, sendo auto-incompatível. A maior parte dos tubos polínicos provenientes de autopolinização foi inibida na região estigmática, enquanto os tubos de polinização cruzada tiveram um crescimento mais acelerado, como observado em outras espécies distílicas.

Em áreas de Mata Atlântica dos estados de Minas Gerais e Rio de Janeiro, Rossi et al. (2005) observaram a variação nos traços florais e o sistema reprodutivo de *Psychotria ipecacuanha*. As populações estudadas apresentaram a presença dos morfos em razão equilibrada. Os morfos opostos apresentaram hercogamia recíproca entre estigma e anteras, apesar da amplitude observada nas medidas das peças florais. Diferenças entre os morfos também foi observada no comprimento das anteras, do estigma e do diâmetro do tubo da corola, sendo as flores do morfo brevistilo, representante das maiores medidas. Quando comparado as medidas de cada morfo individualmente entre as populações, apenas a altura do estigma do morfo longistilo não apresentou diferença significativa. Não houve formação de frutos por autopolinização, no entanto os tratamentos de

apomixia e cruzamento intramorfo formaram frutos, mostrando que a espécie possui algum grau de compatibilidade. O morfo longistilo quando comparado com o morfo brevistilo formou maior quantidade de frutos em cruzamentos legítimos e ilegítimos, em relação ao morfo brevistilo.

Ainda no Estado do Rio de Janeiro, Virillo et al. (2007) investigaram a biologia de polinização, a morfometria floral, a proporção de morfos na população, e o sistema de cruzamentos de *Psychotria tenuinervis*, uma espécie arbustiva. A espécie foi tida como distílica de características típicas como incompatibilidade auto e intramorfo, hercogamia recíproca e isopleτία, além de apresentar características secundárias que corroboram com a síndrome. No mesmo estado, Fonseca et al. (2008) investigaram a biologia floral, os visitantes florais e a formação de frutos de *Psychotria brachypoda*. A espécie apresentou antese diurna com duração de um dia. A corola das flores brevistilas foi maior que a de flores longistilas, sendo este considerado um padrão esperado para espécies distílicas com estames epipétalos, permitindo que a posição das anteras sejam equivalentes à altura do estigma das flores do morfo oposto. Segundo os autores, não foi encontrado hercogamia recíproca entre os morfos, no entanto a amplitude da altura do estigma e das anteras dos morfos opostos se sobrepôs. A população foi considerada isoplética.

Apenas um estudo foi desenvolvido em Mata Atlântica do Paraná: Mendonça e Anjos (2006) investigaram as características morfológicas, a oferta de recurso e o comportamento dos visitantes florais de *Palicourea crocea*. Os grupamentos estudados apresentaram isopleτία. As flores não apresentaram reciprocidade entre a altura de estigma e anteras entre os morfos opostos. Além das diferenças na altura do estigma e anteras, foram observadas diferenças no comprimento da corola, das anteras e do lobo estigmático, sendo os maiores valores atribuídos ao morfo brevistilo. O volume e a concentração de néctar não variaram entre os morfos. Os autores observaram que o valor energético ofertado pela espécie estudada pode influenciar no comportamento de forrageamento dos polinizadores, dessa forma aumentando a possibilidade de cruzamentos legítimos.

Existem alguns estudos relacionados à distília no Cerrado, região central do Brasil. Consolaro et al. (2005) registraram monomorfia longistila em *Manettia cordifolia* em uma mata-de-galeria. O gênero *Manettia* é tido como tipicamente distílico e, apesar da ausência do morfo oposto, os indivíduos apresentaram-se preferencialmente auto-incompatíveis, mas com certo relaxamento do mecanismo de incompatibilidade, observado principalmente pela imprecisão do local de inibição dos tubos polínicos provenientes de polinização intramorfo. No cerrado do Brasil central também foi investigada, por Toledo et al. (2007), a biologia reprodutiva de *Palicourea coriaceae*, *P. officinalis*, *P. marcgravii* e *P. macrobotrys*. As espécies *P. officinalis* e *P. marcgravii* apresentaram distília, no entanto, apenas a segunda apresentou hercogamia recíproca, sendo a única espécie considerada tipicamente distílica. *Palicourea coriaceae* apresentou hercogamia recíproca, além da presença de

um terceiro morfo denominado homostílico. *Palicourea macrobotrys* apresentou um único morfo, denominado homostílico.

Menos freqüentes são os estudos desenvolvidos em áreas de Caatinga. Souza et al. (2007) estudaram a estratégia reprodutiva de *Mitracarpus longicalyx*, uma espécie protândrica, no Estado da Bahia. Os autores observaram que a espécie é protândrica, com a fase masculina durando aproximadamente dois dias. A fase feminina dura em torno de cinco dias. Além da dicogamia, a espécie apresentou hercogamia e auto-incompatibilidade. A inibição dos tubos polínicos ocorreu na região estigmática, caracterizando um sistema de incompatibilidade homomorfo esporofítico, mecanismo menos freqüente entre as angiospermas e raro na tribo estudada.

Apesar de existir um padrão bem descrito para a distília, percebe-se que a grande maioria das espécies apresenta alguma modificação neste padrão. Os desvios mais frequentemente observados estão relacionados à ausência de reciprocidade, a algum grau de autocompatibilidade e compatibilidade intramorfo e à existência de apenas um morfo na população. Estudos acerca da biologia reprodutiva de espécies distílicas, portanto, certamente auxiliam na compreensão dos fatores envolvidos na manutenção ou quebra dos padrões distílicos, principalmente quando se leva em consideração que a modificação de habitats, que é considerada uma das forças seletivas influenciando esses padrões e atualmente é amplamente distribuída.

Referências bibliográficas

BARRETT, S. C. H. Heterostylous genetic polymorphisms: model systems for evolutionary analysis. In: BARRETT, S.C.H. (ed) **Evolution and function of heterostyly. Monographs on theoretical and applied genetics**. Berlin: Springer-Verlag, 1992.

BARRETT, S. C. H. Mating strategies in flowering plants: the outcrossing-selfing paradigm and beyond. **Philosophical transactions of the Royal Society of London - Series B**, v. 358, p. 991-1004, 2003.

BARRETT, S. C. H. The evolution of plant sexual diversity. **Nature reviews - Genetics**, v. 3, p. 274-284, 2002.

BARRETT, S. C. H.; RICHARDS, J. H.,. Heterostyly in tropical plants. **Memoirs of the New York Botanical Garden** v. 55, p. 35-61, 1990.

BAWA, K. S.; BEACH, J. H. Self-incompatibility systems in the Rubiaceae of a tropical lowland wet forest. **American Journal of Botany**, V. 70, P. 1281-1288, 1983.

CASTRO, C. C., OLIVEIRA, P. E. A. M. Pollination biology of distylous Rubiaceae in the Atlantic rain forest, SE Brazil. **Plant Biology**, v. 4, p. 640-646, 2002.

CASTRO, C. C.; ARAUJO, A. C. Distyly and sequential pollinators of *Psychotria nuda* (Rubiaceae) in the Atlantic rain forest, Brazil. **Plant Systematics and Evolution**, v. 244, p. 131-139, 2004.

CASTRO, C. C.; OLIVEIRA, P. E. A. M.; ALVES, M. Breeding system and floral morphometry of distylous *Psychotria L.* species in the Atlantic rain forest, SE Brazil. **Plant Biology**, v. 6, p. 1-6, 2004.

CASTRO, C. C.; OLIVEIRA, P. E. A. M.; PIMENTEL, R. M. M. Reproductive biology of the herkogamous vine *Chiococca alba* (L.) Hitchc. (Rubiaceae) in the Atlantic rain forest, SE Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 31, p. 317-321, 2008.

COELHO, P.; C.; BARBOSA, A. A. A. Biologia reprodutiva de *Psychotria poeppigiana* Mull. Arg. (Rubiaceae) em mata de galeria. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n 3, p. 481-489, 2004.

CONSOLARO, H. N. **A distilia em espécies de Rubiaceae do bioma Cerrado**. 2008. 96f. (Doutorado em Ecologia) Universidade de Brasília, Brasília.

CONSOLARO, H.; SILVA, E. B.; OLIVEIRA, P. E. Variação floral e biologia reprodutiva de *Manettia cordifolia* Mart. (Rubiaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 28, n 1, p. 85-94, 2005.

Floral Morph on Seed Production in the Distylous Herb *Arcytophyllum lavarum* (Rubiaceae). **Plant Biology**, v. 9, p. 453-461, 2007.

FONSECA, L. C. N.; ALMEIDA, E. M.; ALVES, M. A. S. Fenologia, morfologia floral e visitantes de *Psychotria brachypoda* (Müll. Arg.) Britton (Rubiaceae) em uma área de Floresta Atlântica, Sudeste do Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 22, n 1, p. 63-69, 2008.

GANDERS, F. R. The biology of heterostyly. **New Zealand Journal of Botany**, v. 17, p. 607-635, 1979.

GARCÍA-ROBLEDO, C.; MORA, F. Pollination biology and the impact of floral offer, pollen donor, Pollination Biology and the Impact of Floral Offer, Pollen Donor Availability and

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.

KHON J. K.; BARRETT, S. C. H. Experimental studies on the functional significance of heterostyly. **Evolution**, v. 46, p. 43-55, 1998.

LAU, P.; BOSQUE, C. Pollen flow in the distylous *Palicourea fendleri* (Rubiaceae): an experimental test of the disassortative pollen flow hypothesis. **Oecologia**, v. 135, p. 593-600, 2003.

LENZA, E.; FERREIRA, J. N.; CONSOLARO, H.; AQUINO, F. G. Biologia reprodutiva de *Rourea induta* Planch. (Connaraceae), uma espécie heterostílica de cerrado do Brasil Central. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 31, n 3, p. 389-398, 2008.

MACHADO, I. C.; LOIOLA, M. I. Fly pollination and pollinator sharing in two synchronopatric species: *Cordia multispicata* (Boraginaceae) and *Borreria alata* (Rubiaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 23, n 3, p. 305-311, 2000.

MENDONÇA, L. B.; ANJOS, L. Flower morphology, néctar features, and hummingbird visitation to *Palicourea crocea* (Rubiaceae) in the Upper Paraná River floodplain, Brazil. **Anais da Academia Brasileira de Ciências**, v. 78, p. 45-57, 2006.

NAIKI, A.; NAGAMASU, H. Distyly and pollen dimorphism in *Damnacanthus* (Rubiaceae). **Journal Plant Restoration**, v. 116, p. 105-113, 2003.

PAILLER, T.; THOMPSON, J. D. Distyly and variation in heteromorphic incompatibility in *Gaertnera vaginata* (Rubiaceae) endemic to La Réunion Island. **American Journal of Botany**, v. 84, n 3, p. 315-327, 1997.

PEREIRA, M. S.; BARBOSA, M. R. V. A família Rubiaceae na reserva biológica Guaribas, Paraíba, Brasil. Subfamílias Antirheoideae, Cinchonoideae e Ixoroideae. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n 2, p. 305-318, 2004.

REE, R. H. Pollen flow, fecundity, and the adaptative significance of heterostyly in *Palicourea padifolia* (Rubiaceae). **Biotropica**, v. 29, n 3, p. 298-308, 1997.

RICHARDS, J. H.; KOPTUR, S. Floral variation and distyly in *Guettarda scabra* (Rubiaceae). **American Journal of Botany**, v. 80, n 1, p. 31-40, 1993.

RIVEROS, G. M.; BARRÍA, O. R.; HUMANÁ, P. A. M. Self-compatibility in distylous *Hedyotis salzmannii* (Rubiaceae). **Plant Systematics and Evolution**, v. 194, p. 1-8, 1995.

ROBBRECHT, E. Tropical woody Rubiaceae. **Opera Botanica Belgica**, v. 1, p. 1-271, 1998.

ROSSI, A. A. B.; OLIVEIRA, L. O.; VIEIRA, M. F. Distyly and variation in floral in natural populations of *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes (Rubiaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 28, p. 285-294, 2005.

SAKAI, S.; WRIGHT, S. J. Reproductive ecology of 21 coexisting *Psychotria* species (Rubiaceae): when is heterostyly lost?. **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 93, p. 125-134, 2008.

SOBREVILA, C, RAMIREZ, N.; ENRECH, N. X. 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, 1983.

SOUZA, E. B.; COSTA, C. B. N.; BORBA, E. L. Ocorrência de auto-incompatibilidade homomórfica em *Mitracarpus longicalyx* E. B. Souza & M. F. Sales (Rubiaceae – Spermaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 30, n 2, p. 281-287, 2007.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APGII**. São Paulo: Nova Odessa, Instituto Plantarum, 2005.

TEIXEIRA, L. A. G.; MACHADO, I. C. Biologia da polinização e sistema reprodutivo de *Psychotria barbiflora* DC. (Rubiaceae). **Acta Botanica Brasílica**, v. 18, p. 853-862, 2004b.

TEIXEIRA, L. A. G.; MACHADO, I. C. *Sabicea cinerea* Aubl. (Rubiaceae): distília e polinização em um fragmento de floresta Atlântica em Pernambuco, Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 27, p. 193-204, 2004a.

TOLEDO, R.; CARVALHO, A.; HASHIMOTO, D.; RODRIGUES, M.; FERREGUTI, R.; CONSOLARO, H.; HAY, J.; OLIVEIRA, P. E. Caracterização morfológica de quatro espécies de *Palicourea* Aubl. (Rubiaceae) do cerrado do Brasil central. **Revista Brasileira de Biociências**, v. 5, n 1, p. 732-734, 2007.

VIRILLO, C. B.; RAMOS, F. N.; CASTRO, C. C.; SEMIR, J. Floral biology and breeding systems of *Psychotria tenuinervis* Muell. Arg. (Rubiaceae) in the Atlantic rain forest, SE Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 21, n 4, p. 879-884, 2007.

WEBB, C. J.; LLOYD, D. G. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in Angiosperms. I. Dichogamy. **New Zealand Journal of Botany**, v. 24, p. 135-162, 1986.

ZICKEL, C. S.; ALMEIDA JR., E. B.; MEDEIROS, D. P. W.; LIMA, P. B.; SOUZA, T. M. S.; LIMA, A. B. Magnoliophyta species of restinga, state of Pernambuco, Brazil. **Check List**, v. 3, n 3, p. 224-241, 2007.

Tabela 1. Espécies de Rubiaceae com distília típica ou atípica.

ESPÉCIE(S)	RECIPROCIDADE	SISTEMA REPRODUTIVO	RAZÃO DOS MORFOS	OUTROS	REFERÊNCIA
<i>Arcytophyllum lavarum</i>	SIM	INCOMPATIBILIDADE AUTO E INTRAMORFO	---	DISTILIA	García-Robledo e Mora, 2007
<i>Borreria alata</i>	NÃO	AUTOCOMPATÍVEL	---	POLIMORFIA	Machado e Loiola, 2000
<i>Chiococca alba</i>	NÃO	AUTO-INCOMPATÍVEL	---	MONOMORFIA	Castro et al., 2008
<i>Damnacanthus indicus var. major</i>	SIM	---	---	DISTILIA	Naiki e Nagamasu, 2003
<i>D. indicus var. microphyllus</i>	SIM	---	---	DISTILIA	
<i>D. indicus var. parvispinus</i>	NÃO	---	---	DISTILIA	
<i>D. okinawensis</i>	NÃO	---	---	DISTILIA	
<i>D. biflorus</i>	NÃO	---	---	DISTILIA	
<i>Gaertnera vaginata</i>	SIM	INCOMPATIBILIDADE AUTO E INTRAMORFO	ANISOPLETIA	DISTILIA	Pailler e Thompson, 1997
<i>Hedyotis salzmannii</i>	SIM	AUTOCOMPATÍVEL	ANISOPLETIA	DISTILIA	Riveros et al., 1995
<i>Manettia cordifolia</i>	NÃO	AUTO-INCOMPATÍVEL	---	MONOMORFIA	Consolaro et al., 2005
<i>Mitracarpus longicalix</i>	NÃO	AUTO-INCOMPATÍVEL	---	HERCOGAMIA	Souza et al., 2007
<i>Palicourea coriacea</i>	SIM	---	---	DISTILIA	Toledo et al., 2007

Tabela 1. (continuação)

<i>P. fendleri</i>	NÃO	AUTOCOMPATÍVEL	---	DISTILIA	Lau e Bosque, 2003
<i>P. longepedunculata</i>	SIM	INCOMPATIBILIDADE AUTO E INTRAMORFO	ISOPLEZIA	---	Pereira et al., 2006
<i>P. macrobotrys</i>	-	---	---	HOMOSTILIA	Toledo et al., 2007
<i>P. marcgravii</i>	SIM	---	---	DISTILIA	Toledo et al., 2007
<i>P. marcgravii</i>	SIM	INCOMPATIBILIDADE AUTO E INTRAMORFO	ANISOPLEZIA	DISTILIA	Pereira et al., 2006
<i>P. officinalis</i>	NÃO	---	---	DISTILIA	Toledo et al., 2007
<i>P. padifolia</i>	SIM	INCOMPATIBILIDADE AUTO E INTRAMORFO	ISOPLEZIA	DISTILIA	Ree, 1997
<i>Psychotria conjugens</i>	SIM	INCOMPATIBILIDADE AUTO E INTRAMORFO	ANISOPLEZIA	DISTILIA	Pereira et al., 2006
<i>P. hygrophiloides</i>	-	INCOMPATIBILIDADE AUTO E INTRAMORFO	ANISOPLEZIA	MONOMORFIA	Pereira et al., 2006
<i>P. nuda</i>	SIM	INCOMPATIBILIDADE AUTO E INTRAMORFO	ISOPLEZIA	DISTILIA	Pereira et al., 2006
<i>P. sessilis</i>	SIM	INCOMPATIBILIDADE AUTO E INTRAMORFO	ISOPLEZIA	DISTILIA	Pereira et al., 2006
<i>Rourea induta</i>	NÃO	INCOMPATIBILIDADE INTRAMORFO E AUTOCOMPATIBILIDADE DE NO MORFO B	ISOPLEZIA	DISTILIA	Lenza et al., 2008
<i>Rudgea lanceolata</i>	SIM	INCOMPATIBILIDADE AUTO E INTRAMORFO	ISOPLEZIA	DISTILIA	Pereira et al., 2006
<i>Sabicea cinerea</i>	NÃO	INCOMPATIBILIDADE AUTO E INTRAMORFO	ANISOPLEZIA	DISTILIA	Teixeira e Machado, 2004

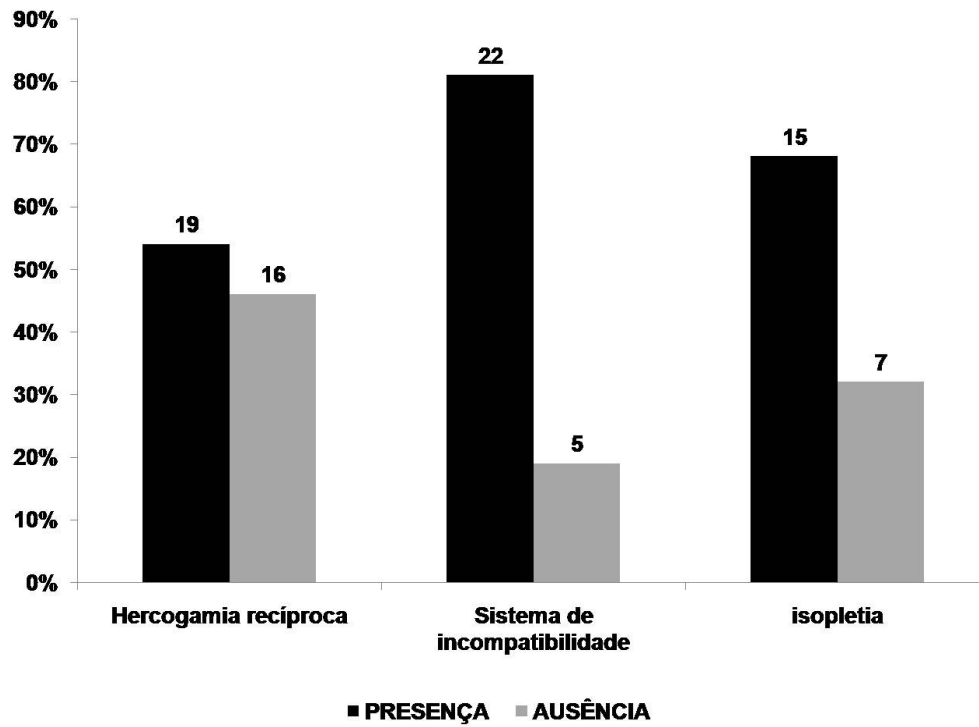


Figura 1. Levantamento do percentual de características tipicamente distílicas presentes em espécies da família Rubiaceae

CAPÍTULO 1

DISTILIA ATÍPICA E POLINIZAÇÃO NOTURNA DE *Guettarda platypoda* DC. (RUBIACEAE) EM UMA ÁREA DE RESTINGA DO NORDESTE BRASILEIRO

Manuscrito a ser enviado ao periódico Flora

Distilia atípica e polinização noturna de *Guettarda platypoda* DC. (Rubiaceae) em uma área de vegetação costeira do Nordeste brasileiro

Reinaldo Rodrigo Novo¹ e Cibele Cardoso de Castro²

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

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

Resumo

A síndrome da distilia é caracterizada pela hercogamia recíproca, na qual flores brevistilas (estilete curto e filetes longos) e flores longistilas (estilete longo e filetes curtos) são produzidos em indivíduos distintos. Além da reciprocidade entre os morfos florais, em espécies tipicamente distílicas ocorre também um mecanismo de auto-incompatibilidade e de incompatibilidade intramorfo, que resulta em um número semelhante de indivíduos brevistilos (B) e longistilos (L) na população, ao que se denomina isopletia. Algumas espécies pertencentes a grupos distílicos podem apresentar desvios nesses padrões, que normalmente estão associados a problemas nos serviços de polinização, sendo esta nova estratégia reprodutiva classificada como distílica atípica. Este estudo registrou a biologia floral, a variação morfológica, o sistema reprodutivo e a polinização de *Guettarda platypoda* DC. em uma área de restinga do litoral sul do Estado de Pernambuco, através de medições das peças florais, experimentos de polinização manual e observação focal dos visitantes florais. As flores de *G. platypoda* são hermafroditas, de coloração clara, antese noturna com duração de aproximadamente 18 horas, produzem néctar, além de um forte odor adocicado, e são polinizadas por esfingídeos e mariposas. Os dados morfométricos confirmaram a presença de hercogamia e a ausência de reciprocidade entre a altura do estigma e das anteras de ambos os morfos. Indivíduos B e L formaram frutos em todos os experimentos de polinização manual. O índice de Auto-incompatibilidade (ISI) apontou o morfo L como autocompatível e o morfo B como auto-incompatível. Os dados dos tubos polínicos após cruzamentos ilegítimos realizados no morfo L corroboram com o ISI. Os tubos de cruzamentos ilegítimos realizados no morfo B apresenta algum nível de flexibilidade no sistema de incompatibilidade. Devido à ausência de reciprocidade e a presença de autocompatibilidade a espécie pode ser classificada como distílica atípica. Tanto a condição morfológica encontrada nas populações de *G. platypoda* quanto à autocompatibilidade

estão aparentemente relacionadas com a quebra do supergene da distília, o que pode ter ocorrido por ineficiência dos serviços de polinização e/ou fragmentação do habitat, uma vez que a área de estudo sofre forte impacto ambiental, o que favoreceria o surgimento de morfos variantes. Por outro lado, estudos genéticos mais específicos devem ser realizados para investigar a integridade do supergene, uma vez que outros estudos evidenciaram variações morfológicas semelhantes em outras regiões.

Palavras-chave: Morfometria, sistema reprodutivo, incompatibilidade, polinização noturna.

Introdução

A distília é um dimorfismo floral geneticamente controlado, caracterizado pela separação espacial (hercogamia) entre a altura do estigma e das anteras das flores e a posição recíproca entre os diferentes morfos florais (Hamilton, 1990). Os indivíduos podem produzir flores de estilete longo e filetes curtos, denominadas longistilas, e flores de estilete curto e filetes longos, denominadas brevistilas. Outras diferenças podem ser observadas entre os morfos florais distílicos, tais como o tamanho da corola, o número e o tamanho dos grãos de pólen, tamanho e morfologia do estigma e das papilas estigmáticas (Barrett, 1992).

O sistema reprodutivo de espécies distílicas é caracterizado pela auto-incompatibilidade e incompatibilidade intramorfo, influenciando desta forma o fluxo polínico nas populações, possibilitando o equilíbrio do potencial reprodutivo em ambos os morfos florais. Por esta razão, espera-se encontrar uma frequência equilibrada dos morfos na população, denominada isopleτία. Algumas espécies distílicas podem apresentar desvios em suas características morfológicas e fisiológicas (distília atípica) em função da quebra da distília, relacionada à quebra do supergene responsável pela expressão dos morfos florais e do sistema reprodutivo (Barrett, 1992).

A quebra do supergene que controla a distília pode dar origem, na maioria das vezes, ao surgimento de morfos florais atípicos, sendo normalmente atribuído a fatores ecológicos que podem afetar o fluxo dos grãos de pólen entre os morfos florais, tais como a falta de polinizadores eficientes ou à fragmentação de habitats (Barrett e Richards, 1990). Como consequência, as populações podem tornar-se monomórficas (presença de apenas um dos morfos florais, acompanhada de autocompatibilidade; Sobrevila et al., 1983) ou homostílicas (flores com estigma e anteras no mesmo nível e autocompatíveis; Hamilton, 1990). Exemplos de gêneros de Rubiaceae com espécies que apresentam desvios do padrão distílico são *Borreria* (Machado e Loiola, 2000), *Chiococca* (Castro et al., 2008), *Guettarda* (Richards e Koptur, 1993), *Manettia* (Consolaro et al., 2005), *Palicourea* (Mendonça e Anjos, 2006; Toledo et al., 2007), *Psychotria* (Castro e Araujo, 2004; Castro, et al., 2004; Teixeira e Machado, 2004a, b; Rossi, et al., 2005; Fonseca et al., 2008) e *Sabicea* (Teixeira e Machado, 2004).

A família Rubiaceae compreende cerca de 9.000 espécies distribuídas pelo mundo, sendo mais representada em regiões tropicais, onde já foram registradas aproximadamente 5.000 espécies (Souza e Lorenzi, 2005). É a família com o maior número de gêneros heterostílicos dentre as Angiospermas (Souza e Lorenzi, 2005; Barrett, 1992). No Brasil ocorrem cerca de 2.000 espécies de Rubiaceae distribuídas em 120 gêneros, sendo considerada uma das principais famílias da flora brasileira (Souza e Lorenzi, 2005).

Muitos estudos tem colaborado com informações acerca da biologia reprodutiva em diferentes espécies da família Rubiaceae no Brasil (Castro et al., 2004; Teixeira e Machado, 2004; Rossi et al., 2005; Mendonça e Anjos, 2006; Souza et al., 2007; Virillo et al., 2007; Souza et al., 2007; Fonseca et al., 2008), no entanto, muito destes estudos tem investigado espécies relacionadas a poucos gêneros, tais como *Psychotria* e *Palicourea*. Espécies do gênero *Guettarda* DC. (subfamília Antirheoideae, tribo Guettardeae) têm sido registradas como distílicas atípicas (Richards e Koptur, 1993; Consolaro, 2008), no entanto poucas espécies deste gênero foram investigadas, e portanto pouco se pode afirmar sobre questões ecológicas relacionadas à distília no gênero.

Guettarda platypoda DC. é uma espécie arbustiva com ampla distribuição no litoral brasileiro, principalmente na região Nordeste (Pereira e Barbosa, 2004; Zickel et al., 2007), incluindo restingas, que são ecossistemas bastante ameaçados pela ocupação humana. O objetivo geral desse estudo foi investigar a biologia floral, a polinização, a morfometria floral e o sistema reprodutivo de *Guettarda platypoda* DC. em uma área de restinga na região Nordeste do Brasil

Material e métodos

Área de estudo - O estudo foi desenvolvido em uma área de vegetação tropical costeira conhecida como restinga, localizada na Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Nossa Senhora do Oiteiro de Maracaípe (portaria nº 58 de 26 de setembro de 2000, IBAMA), localizada no Município de Ipojuca (08°31'48''S e 35°01'05''W), litoral sul do Estado de Pernambuco, região Nordeste do Brasil (Fig. 1), no período de julho de 2008 a julho de 2009. A reserva possui uma área total de 76,20 ha, sendo uma região fortemente perturbada pela ação humana, principalmente pela atividade canavieira. O clima da área se enquadra no tipo AS' (segundo a classificação de Köppen, 1948), definido como tropical chuvoso com verão seco, com menos de 60 mm de chuva no mês mais seco e precipitação anual de aproximadamente 2.500 mm (Medeiros et al., 2007). O período chuvoso ocorre entre os meses de abril a setembro, com maior precipitação entre maio e julho; a estação seca ocorre de outubro a março, com pico entre outubro a dezembro (INMET, 2005).

Espécie estudada - *Guettarda platypoda* (Rubiaceae) é uma espécie arbustiva, abundante na área de estudo e em outras áreas de restinga da região Nordeste (Zickel et al., 2007). Na área de estudo a

floração ocorre ao longo do ano, com exceção dos meses de abril, agosto, novembro e dezembro; a frutificação ocorre ao longo do ano, com exceção dos meses de outubro e janeiro (Medeiros et al., 2007).

Biologia floral – O período de antese das flores de *G. platypoda* foi determinado através do acompanhamento de botões maduros previamente ensacados até a queda das pétalas, em 25 botões por morfo, distribuídos em cinco indivíduos de cada morfo (cinco botões por indivíduo). A receptividade estigmática foi verificada através da reação de peroxidase (Dafni et al., 2005) em 30 flores para cada morfo, distribuídas em 10 indivíduos (n= 5 de cada morfo), logo após a abertura das flores (17:00h) e das 6:00 às 10:00 h. A presença de regiões emissoras de odor foi checada utilizando-se a técnica do vermelho neutro em um total de 30 flores distribuídas em 10 indivíduos de cada morfo (Dafni et al., 2005). A concentração de açúcar e o volume acumulado do néctar foram medidos, respectivamente, utilizando-se refratômetro de bolso (Atago 0-32%) e microsseringa graduada (Microliter® 10 µL), no dia seguinte à antese, entre 7:00 h e 8:00 h, em flores encobertas desde a pré-antese (28 flores brevistilas e 34 flores longistilas, coletadas de dez indivíduos de cada morfo floral). A viabilidade dos grãos de pólen foi avaliada utilizando a técnica de coloração do citoplasma pelo carmim acético (Dafni et al., 2005), em anteras (n= 4 anteras por botão) de botões maduros (n= 20 botões por morfo) coletados em dez indivíduos de cada morfo (2 botões por indivíduo). As anteras foram esmagadas e os grãos de pólen foram colocados em lâminas e se determinou a viabilidade dos primeiros 500 grãos de pólen por lâmina. A razão pólen/óvulo (P:O) foi calculada através da contagem dos grãos de pólen de uma antera por botão (Cruden, 1977), coletados de 10 indivíduos por morfo (n= 3 botões por indivíduo). O teste Meann-Whitney foi utilizado pra comparar a média de grãos de pólen produzidos por flores brevistilas e longistilas (Sokal e Rohlf, 1995).

Morfometria floral e razão de morfos – Os dados de morfometria floral foram coletados seguindo protocolo de Richards e Koptur (1993), com o auxílio de paquímetro digital (erro 0,01mm) e de estereomicroscópico. Foram tomadas as medidas do comprimento total da corola (CC), do diâmetro da corola (DT), da altura do estigma (AE) e das anteras (AA), do comprimento das anteras (CA) e do lobo estigmático (CE) de 100 flores brevistilas (B) e 100 longistilas (L) coletadas de 10 indivíduos de cada morfo e preservadas em FAA 70.

Diferenças entre os morfos florais foram testadas usando o teste MANOVA (Sokal e Rohlf, 1995). No caso de diferença significativa entre os morfos, foi aplicado o teste de Tukey para múltiplas comparações de média para verificar qual das variáveis é responsável por caracterizar a

diferença entre os morfos. As análises foram realizadas utilizando o software R (Ihaka e Gentleman, 1996).

A presença de hercogamia recíproca entre os elementos sexuais de ambos os morfos foi testada através do índice de reciprocidade (IR) determinado pela razão (altura da antera – altura do estigma recíproco)/(altura da antera + altura do estigma recíproco). Segundo Richards e Koptur (1993), espécies perfeitamente recíprocas apresentam o IR igual a zero para ambos os morfos florais.

A razão entre os morfos na população foi determinada através da identificação e contagem dos indivíduos B e L encontrados em uma área de aproximadamente 9000m². A proporção encontrada foi analisada utilizando-se o teste do Qui-quadrado para proporções esperadas iguais (Sokal e Rohlf, 1995).

Sistema reprodutivo – O sistema reprodutivo foi avaliado por experimentos de polinização manual, seguidos de acompanhamento do crescimento de tubos polínicos e da formação de frutos. Para cada tratamento, foram encobertas, com sacos de tule, inflorescências contendo botões em pré-antese. Foi utilizado um mínimo de 30 flores de dez indivíduos de cada morfo para cada tratamento, não sendo utilizadas mais que cinco flores por inflorescência e por indivíduo para cada tratamento, a fim de não ultrapassar a quantidade média de frutos formados por inflorescência. Foram realizados os seguintes experimentos: a) autopolinização espontânea: os botões foram apenas ensacados, sem receber tratamentos de polinização; b) autopolinização manual: as flores foram polinizadas com o pólen proveniente de suas próprias anteras; c) polinização cruzada intramorfo: as flores foram polinizadas com pólen proveniente de diferentes indivíduos do mesmo morfo; d) polinização cruzada intermorfo: as flores foram polinizadas com pólen proveniente de diferentes indivíduos do morfo distinto; e) apomixia: os botões em pré-antese foram emasculados e ensacados. Além disso botões em período de pré-antese foram marcados para acompanhar o processo de formação de frutos por polinização natural (controle).

O teste de apomixia foi realizado apenas em indivíduos com flores de estilete curto, pois não foi possível emasculas as flores longistilas sem contaminar o estigma com seu próprio pólen. As flores utilizadas nos testes de cruzamentos inter e intramorfo não foram emasculadas devido à dificuldade no manuseio das flores, não sendo possível evitar danos ao estigma das flores de estilete longo. As polinizações manuais foram realizadas entre 06:00h e 10:00h da manhã, período de comprovada receptividade estigmática. Após os tratamentos, as flores receberam marcações individuais por tratamento e foram re-encobertas, permanecendo assim por pelo menos 24 horas. Após totalmente formados, os frutos foram quantificados e comparados entre os tratamentos e os morfos usando o teste exato de Fisher. A partir dos dados de formação de frutos, foi calculado o

Índice de Auto-incompatibilidade (ISI) para ambos os morfos, que corresponde à razão entre a proporção de frutos produzidos por autopolinização manual sobre a polinização cruzada, sendo considerado autocompatível o morfo com o valor do índice maior que 0,2 (Bullock, 1985). Foi estimado o sucesso reprodutivo pré-emergente (PERS), através das razões FR:FL e S:O (Wiens et al., 1987).

Para a análise do crescimento de tubos polínicos, foram realizados tratamentos de autopolinização manual, polinização cruzada intermorfo e intramorfo em flores de diferentes indivíduos. Depois de polinizados, os pistilos foram mantidos em placas gerbox, em uma solução de ágar a 2%, e posteriormente foram fixados em FAA 70 em intervalos de 24 h. (n= 46 pistilos) e 48 horas (n= 29 pistilos). Os pistilos foram clarificados, dissecados e observados sob microscópio de fluorescência (Martin, 1959).

Visitantes florais – A frequência de visitantes florais foi registrada para ambos os morfos durante 14 dias não consecutivos entre os meses de maio a julho de 2009 (período chuvoso), com observações focais distribuídas entre 17:00 h (hora de início de antese) e 10:00 h (hora de senescência da flor), totalizando 41:31 h de observação. Os indivíduos observados apresentavam um grande número de flores. Cada intervalo de hora foi observado pelo menos uma única vez e no máximo três vezes. A cada visita, foi registrado a espécie visitante, o comportamento de forrageamento dos visitantes (recurso coletado, contato com elementos sexuais, interações agonísticas), e o número de visitas. O número de flores visitadas (frequência) foi estimada através da contagem do tempo de visita em cada flor, o intervalo entre uma flor e outra e o tempo de permanência do inseto na planta. Os visitantes observados foram capturados quando possível e encaminhados para especialistas para identificação.

Resultados

Biologia floral – *Guettarda platypoda* possui dois morfos florais que diferem entre si na altura dos elementos sexuais, denominados brevistilo (B) e longistilo (L), e que são produzidos em diferentes indivíduos (ver Morfometria para maiores detalhes). As flores são hermafroditas, actinomorfas, pentâmeras, com sépalas fundidas, esverdeadas e persistentes no fruto, fase em que adquirem coloração levemente avermelhada; as pétalas são fundidas, de cor creme, formando um tubo ereto e hipocrateriforme (Fig. 2). O androceu é livre, formado por estames epipétalos, inclusos, anteras dorsifixas, bitecas, com deiscência longitudinal; o gineceu possui ovário ínfero, bilocular, com um óvulo em cada lóculo. O estigma úmido, globoso, esverdeado, que se encontra receptivo logo após a abertura da flor e assim permanece até perto de sua senescência. O nectário tem forma de disco e se localiza na base do tubo da corola. A razão P:O e a viabilidade polínica foram de 3193 e 73%

respectivamente em flores B e 3123 e 80% em flores L. Não foi encontrada diferença significativa no número médio de grãos de pólen produzidos nas flores de ambos os morfos ($U= 43$; $p= 0,59$).

O período de antese foi de aproximadamente 18 horas, com início entre 17:00 h e 17:30 h. Antes da abertura das flores é possível sentir forte odor adocicado, que permanece perceptível até a manhã do dia seguinte. As flores possuem regiões emissoras de odor em toda a parte externa do tubo floral, com maior concentração nas margens dos lobos da corola. A secreção de néctar ocorreu desde a fase de pré-antese, sendo o volume total e a concentração de açúcares registrados, respectivamente, de 2 μ l e 24,3% em flores B, e de 1,5 μ l e 20% em flores L.

Morfometria floral e razão de morfos – *Guettarda platypoda* possui dois morfos florais na população; as flores B têm o estigma localizado abaixo das anteras ($p= <0,01$), enquanto as flores L apresentam estigma acima das anteras ($p= <0,01$; Figs. 3-4). Na comparação entre os morfos, foi observado que as flores do morfo B possuem o estigma mais baixo, as anteras mais altas e o comprimento da corola maior ($p= <0,01$) que as flores do morfo L (Tabela 1, Figs. 3-4). Não foram encontradas diferenças significativas no comprimento do estigma, das anteras e no diâmetro da corola entre os dois morfos florais (Tabela 1).

O cálculo do Índice de reciprocidade (IR) apontou maior semelhança entre o estigma L com as anteras B (IR= 0,03) do que entre estigma de B com anteras de L (IR= 0,17). As flores de ambos os morfos apresentaram uma grande variação na altura de estigmas e anteras (Fig. 4).

Na população foram contabilizados 55 indivíduos B e 50 indivíduos L, sendo que esta razão não diferiu de 1:1 ($\chi^2= 0,23$; $gl= 1$; $p= 0,69$).

Sistema reprodutivo – As flores de *G. platypoda* formaram frutos em todos os tratamentos (Tabela 2). Os controles produziram uma maior quantidade de frutos do que os tratamentos em ambos os morfos (Tabela 2). No morfo B, a produção de frutos formados após polinização intermorfo foi significativamente maior quando comparada à formação de frutos por autopolinização que, por sua vez, foi menor do que a formação de frutos por autopolinização no morfo L (Tabela 2).

O Índice de Auto-incompatibilidade (ISI) indicou autocompatibilidade do morfo L (1,09) e auto-incompatibilidade do morfo B (0,16). A razão FR/FL foi de 0,56 para o morfo B e 0,5 para o morfo L. A razão S/O foi de 0,5 para ambos os morfos, de forma que foi encontrado uma semente por fruto e 2 óvulos por flor. O sucesso reprodutivo pré-emergente (PERS) foi de 0,28 no morfo B e 0,25 no morfo L.

Os pistilos das flores do morfo B submetidos à autopolinização sofreram reação de auto-incompatibilidade na região do estigma em 91% dos tubos polínicos, e o restante foi observado próximo à base do estilete. Em cruzamentos intramorfos (ilegítimos), 71% dos tubos polínicos

sofreram reação de incompatibilidade estigmática, e o restante alcança a base ou chegam próximo. No morfo L, 80% dos tubos resultantes de autopolinização chegaram até a metade do estilete após 48 horas, e o restante não avançou além do estigma (10%) ou alcançaram a base do estilete (10%); 75% dos tubos resultantes de polinização intramorfo (ilegítimos) chegaram à base do estilete e 25% não passaram do estigma.

Entre os resultados dos experimentos manuais de polinizações cruzada intermorfo (cruzamentos legítimos), 87,5% dos tubos dos cruzamentos BxL (morfo B doador de pólen para o morfo L) atingiram a base do estilete e o restante não passou do estigma; 54% dos tubos dos cruzamentos LxB (morfo L doador de pólen para o morfo B) alcançaram a base do estilete, 23% chegaram até a metade do estilete e 23% não passaram do estigma. Não foi possível observar quaisquer tubos polínicos alcançarem os óvulos devido a uma reação de fenol causada durante a etapa de clareamento com NaOH, tornando o tecido do pistilo escuro.

Polinização – As flores receberam apenas visitas noturnas, por duas espécies de esfingídeos, *Xylophanes tersa* (Linnaeus, 1771) e uma espécie não identificada (*sp. 2*), e por uma espécie de mariposa (*sp. 3*). *Xylophanes tersa* foi o polinizador mais frequente em ambos os morfos, visitando aproximadamente 332 flores B e 193 flores L (Fig. 5). O maior número de visitas ocorreu entre 18:00h e 06:00h no morfo B e entre 20:00h e 04:00h no morfo L, período em que as flores estavam totalmente abertas, receptivas e apresentavam néctar, além de emitirem um forte odor adocicado. Foi possível observar durante as visitas de *X. tersa* a probóscide estendida ainda durante o vôo, quando parecia escolher a melhor opção e posteriormente a introduzia na flor rapidamente. O esfingídeo *sp. 2* visitou cerca de 75 flores B e 30 flores L (Fig. 5). Este, quando comparado ao *X. tersa*, parecia mais lento durante o vôo e a aproximação da planta, mas suas visitas eram semelhantes, assim como o tempo de visitas nas flores e nos indivíduos. Ambas as espécies de esfingídeos permaneceram até três minutos forrageando as flores de um mesmo indivíduo, e algumas vezes visitavam mais de uma vez a mesma flor. Não foram observadas interações agonísticas entre os visitantes. A espécie de mariposa *sp. 3* foi o visitante menos freqüente, sendo observada por seis vezes polinizando sempre uma única flor em cada visita, demorava a coletar o néctar e, quando o fazia, pousava na pétala e permanecia por até dois minutos na mesma flor, nunca dirigindo-se para outra flor do mesmo indivíduo.

Apesar de não ser possível ver a probóscide dos visitantes entrando em contato com os elementos sexuais, as três espécies podem ser consideradas polinizadoras, pois as visitas legítimas muito provavelmente resultavam em contato com os verticilos reprodutivos, devido ao seu posicionamento e tamanho da probóscide, associado ao estreito tubo da corola.

Discussão

As flores de *G. platypoda* apresentam atributos que corroboram a síndrome da falenofilia e esfingofilia (Faegri e van der Pijl, 1979), tais como coloração clara, corola tubular hipocrateriforme, antese noturna, a emissão de odor forte e adocicado (cujo início da emissão coincide com o horário de início de antese) e a oferta de néctar.

A concentração de açúcares encontrada em *G. platypoda* também está associada à esfingofilia, e encontra-se dentro da amplitude registrada em outras espécies esfingófilas de Rubiaceae dos gêneros *Hilia*, *Posoqueria*, *Randia*, *Sabicea* e *Tocoyena* (Avila Jr., 2009). O volume acumulado de néctar foi muito abaixo do observado em outras espécies polinizadas por esfingídeos (Primo, 2008). No entanto, estes valores podem ter sido subestimados, uma vez que a coleta do néctar foi realizada sempre, pelo menos, oito horas após a antese. Algumas espécies podem apresentar diferentes padrões de secreção de néctar durante o período de antese, podendo haver uma única secreção de néctar durante toda a vida da flor ou ocorrer de forma contínua, após a retirada do volume secretado (Galletto & Bernardello, 2005). Algumas espécies ainda podem apresentar a reabsorção do néctar secretado e não coletado, como uma forma de poupar e/ou realocar recursos importantes não utilizados (Burquez & Corbet 1991).

A existência de dois morfos florais, um com estilete curto e outro com estilete longo, produzidos em indivíduos de proporções semelhantes na população (isopleitia) remete à síndrome da distilia (Ganders 1979, Barrett, 1992). No entanto, a ausência de hercogamia recíproca, apontada pelo cálculo do IR, bem como presença de autocompatibilidade e compatibilidade intramorfo nos leva a considerar *G. platypoda* uma espécie distílica atípica (Barrett, 1992).

Segundo a teoria de funcionalidade da distilia, a reciprocidade entre os morfos florais favorece a deposição de pólen de morfos distintos em partes diferentes do corpo do polinizador, favorecendo também as polinizações intermorfo (Ganders, 1979; Web e Lloyd, 1986; Barrett e Richards, 1990; Barrett, 1992). O menor IR para as flores B em comparação com as flores L indica que há maiores chances de as flores L receberem pólen B do que o inverso, comprometendo o fluxo de pólen entre os indivíduos. Assim, caso a espécie apresentasse auto-incompatibilidade e incompatibilidade intramorfo, era de se esperar que a produção de frutos por polinização natural fosse maior em flores L, o que não ocorreu. Ambos os morfos tiveram produção de frutos por polinização natural relativamente alta. Este resultado pode ser explicado pelo fato de ambos os morfos formarem frutos por autopolinização, e por polinização intramorfo, levando a uma compensação do fluxo assimétrico de pólen em direção ao morfo L. Além disso, a existência de alguns indivíduos longistilos que apresentam anteras na mesma altura do estigma das flores brevistilas pode também maximizar a formação de frutos controle no morfo B. Um outro aspecto que favorece a formação de frutos por auto-fecundação é o comportamento dos polinizadores: apesar da alta frequência de visitas, os polinizadores utilizavam muitas flores de um mesmo

indivíduo, talvez como consequência do baixo volume de néctar, que somado à atratividade do display floral pode favorecer a geitonogamia e, conseqüentemente, a formação de frutos autogâmicos.

Frutos formados nos testes de polinização espontânea em *G. platypoda* ocorre em ambos os morfos. Richards e Koptur (1993) relataram o mesmo ocorrido em *G. scabra*, que foi interpretado como uma possível contaminação do estigma com o próprio pólen que poderia ser liberado ainda em fase de botão.

A formação de frutos no tratamento de apomixia observado no presente estudo já foi anteriormente relatada em espécies do gênero *Psychotria* (Castro et al., 2004; Castro e Araujo, 2004; Rossi et al., 2005), podendo ter contribuído com a formação de frutos naturais. A apomixia é interpretada como uma estratégia de reprodução que pode ser vantajosa na fixação do gene parietal e na formação de frutos na ausência do polinizador, no entanto pode promover a diminuição da heterozigose na população (Richards, 1986).

A razão pólen/óvulo e o sucesso reprodutivo pré-emergente de ambos os morfos indicam que *G. platypoda* possui sistema reprodutivo xenógamo (Cruden, 1977; Wiens, 1987) para espécies xenógamas.

O índice de auto-incompatibilidade (ISI) indicou o morfo B como auto-incompatível e o morfo L como sendo autocompatível. Os dados do ISI corroboram com os dados de formação de frutos: no morfo B, os frutos formados nos cruzamentos intermorfos diferem significativamente dos frutos formados por autopolinização; no morfo L não há diferença entre os frutos formados nos mesmos tratamentos. No entanto, nos dados de tubo polínico, ambos os morfos mostram quebra do sistema de incompatibilidade.

O comportamento dos tubos polínicos observados em flores B e L autopolinizadas já foi descrito em outras espécies de Rubiaceae como em *Manettia lúteo-rubrae* (Passos e Sazima, 1995), *Psychotria barbiflora* (Teixeira e Machado, 2004) e *Luculia gratissima* (Murray, 1990). Segundo Gibbs (1990), as espécies com auto-incompatibilidade heteromórfica apresentam rejeição na região estigmática, principalmente em flores do morfo B, enquanto nas flores do morfo L, a inibição dos tubos polínicos ocorre na região mediana do estilete.

Os tubos provenientes de cruzamentos intramorfos, variaram em relação aos tubos de autopolinização em ambos os morfos. Devido à reação de fenol causada no tecido observado, não é possível afirmar que os tubos de cruzamentos intramorfo realizados no morfo L tenham germinado. No entanto, é possível especular que tenha ocorrido uma reação de incompatibilidade tardia, uma vez que a produção de frutos após os mesmo tratamentos não apresentaram diferença significativa em ambos os morfos. Bawa & Beach (1983) observaram uma variação no local de inibição dos tubos após cruzamentos intramorfos em 10 espécies de Rubiaceae.

A isopletia de *G. platypoda* é uma condição interpretada como uma consequência da auto-incompatibilidade e incompatibilidade intramorfo e ausência de reprodução vegetativa (Barrett, 1992). O mesmo foi observado em *Psychotria ipecacuanha* e *Rourea induta* (Rossi et al., 2005; Lenza et al., 2008). Estes resultados podem indicar que a progênie formada por autopolinização e polinização intramorfo não se desenvolva até a fase adulta, e portanto não interfira, até o momento, na proporção de morfos da população.

Variações na morfologia de espécies distílicas, tais como as observadas para *G. platypoda*, podem ocorrer em diferentes níveis dentro da família Rubiaceae, como em algumas populações separadas geograficamente, ou espécies em determinados locais, sob diferentes pressões ecológicas, podendo até mesmo variar entre os taxa em um mesmo habitat (Barrett e Richards, 1990; Consolaro, 2008). Registros desta condição já foram relatados para a família, sendo alguns gêneros considerados variáveis devido à presença de espécies com tais variações, dentre eles o gênero *Guettarda* (Hamilton, 1990; Richards e Koptur, 1993).

Richards e Koptur (1993) encontraram indivíduos com anteras e estigma ocupando o mesmo nível dentro do tubo da corola em flores do morfo L de *G. scabra*, similar ao encontrado para *G. platypoda*, mas que apresentavam reciprocidade com o morfo B. Variações encontradas em *G. scabra* foram interpretadas como sendo possivelmente comuns no gênero, e que essa forma atípica poderia ser um tipo de hercogamia convencional que tenha sido quebrada por pressões tais como a ineficiência de polinizadores e, deste modo, a distília não seria funcional, e a espécie seria preferencialmente autopolinizada (Richards e Koptur, 1993). O comportamento dos polinizadores de *G. platypoda* apontam para uma tendência semelhante, pois, apesar de aparentemente entrar em contato com elementos sexuais, realizam muitas visitas dentro de um mesmo indivíduo, favorecendo a autopolinização.

A produção de frutos em condições naturais de *G. platypoda* e a existência de grande quantidade de agrupamentos da espécie na área de estudo indicam que os desvios registrados nos padrões distílicos não implicam, necessariamente, em diminuição imediata da aptidão da planta ao ambiente, corroborando a maioria dos estudos que investigaram os padrões distílicos em espécies de Rubiaceae. *Guettarda platypoda*, apesar de não possuir reciprocidade e apresentar autocompatibilidade e compatibilidade intramorfo, aparentemente está tendo sucesso reprodutivo na área de estudo no momento. No longo prazo, no entanto, a compatibilidade pode levar a uma maior homogeneização do genótipo da população, e conseqüentemente a uma menor flexibilidade evolutiva.

Referências bibliográficas

- Avila Jr., R. S., 2009. A guilda de plantas esfingófilas e a comunidade de Esphingidae em uma área de floresta atlântica do sudeste do Brasil. PhD. Thesis. Universidade Estadual de Campinas, Campinas.
- Barrett, S. C. H., 1992. Heterostylous genetic polymorphisms: model for evolutionary analysis. In: Barrett, S.C.H (Eds.), Evolution and function of heterostyly. Monographs on theoretical and applied genetics. Springer-Verlag, Berlin, pp. 1-24.
- Barrett, S. C. H., Richards, J. H., 1990. Heterostyly in tropical plants. Memoirs of the New York Botanical Garden 55, 35-61.
- Bawa, K.S. & Beach, J.H. 1983. Self-incompatibility systems in the Rubiaceae of a tropical lowland wet forest. American Journal of Botany 70, 1281-1288.
- Bullock, S. H., 1985. Breeding system in the flora of a tropical deciduous Forest in Mexico. Biotropica 17, 287-301.
- Burquez, A.; Corbet, A., 1991. Do flowers reabsorb nectar? Functional Ecology 5, 369-379.
- Castro, C. C., Oliveira, P. E. A. M., Alves, M., 2004. Breeding system and floral morphometry of distylous *Psychotria L.* species in the Atlantic rain forest, SE Brazil. Plant Biology 6, 1-6.
- Castro, C. C., Oliveira, P. E. A. M., Pimentel, R. M. M., 2008. Reproductive biology of the herkogamous vine *Chiococca alba* (L.) Hitchc. (Rubiaceae) in the Atlantic rain forest, SE Brazil. Revista Brasileira de Botânica 31, 317-321.
- Consolaro, H. N., 2008. A distilia em espécies de Rubiaceae do bioma Cerrado. Tese de Doutorado, Universidade de Brasilia, Brasilia.
- Consolaro, H., Silva, E. B., Oliveira, P. E., 2005. Variação floral e biologia reprodutiva de *Manettia cordifolia* Mart. (Rubiaceae). Revista Brasileira de Botânica 28, 85-94.
- Cruden, R.W., 1977. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. Evolution 31, 32-46.
- Dafni, A., Kevan, P. G., Husband, B. C., 2005. Practical pollination biology. Cambridge Enviroquest, pp. 83-131.
- Faegri, K., van der Pilj, L., 1979. The Principles of pollination ecology. London: Pergamom Press.
- Fonseca, L. C. N., Almeida, E. M., Alves, M. A. S., 2008. Fenologia, morfologia floral e visitantes de *Psychotria brachypoda* (Müll. Arg.) Britton (Rubiaceae) em uma área de Floresta Atlântica, Sudeste do Brasil. Acta Botanica Brasilica 22, 63-69, 2008.
- Galetto, L., Bernardello, G., 2005. Rewards in flowers. Nectar. In: Dafni, A.; Kevan, P. G.; Husband, B. C. (Eds.), Practical Pollination Biology. Cambridge. Ontario, Canada, pp. 261-312.
- Ganders, F. R., 1979. The biology of heterostyly. New Zealand Journal of Botany 17, 607-635.

- Gibbs, P. 1990. Self-incompatibility in flowering plants: a neotropical perspective. *Revista brasileira de Botânica* 13, 125-136.
- Hamilton, C. W., 1990. Variations on a distylous theme in Mesoamerican *Psychotria* subgenus *Psychotria* (Rubiaceae). *Memoirs of the New York Botanical Garden* 55, 65-75.
- Ihaka, R., Gentleman, R., 1996. R: A Language for Data Analysis and Graphics. *Journal of Computational and Graphical Statistics* 5, pp. 299-314.
- INMET – Instituto Nacional de Meteorologia. 2005. Disponível em www.inmet.gov.br. (Acessado em: 10/01/2005).
- Koppen, W., 1948. *Climatologia: com un estudio de los climas de la tierra*. Mexico, Fondo de Cultura Economica.
- Lenza, E.; Ferreira, J. N.; Consolaro, H.; Aquino, F. G., 2008. Biologia reprodutiva de *Rourea induta* Planch. (Connaraceae), uma espécie heterostílica de cerrado do Brasil Central. *Revista Brasileira de Botânica* 31, 389-398.
- Machado, I. C., Loiola, M. I., 2000. Fly pollination and pollinator sharing in two synchronopatric species: *Cordia multispicata* (Boraginaceae) and *Borreria alata* (Rubiaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 23, 305-311.
- Martin, F. W., 1959. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Technology* 34, pp. 125-128.
- Medeiros, D. P. W., Lopes, A. V., Zickel, C. S., 2007. Phenology of woody species in tropical coastal vegetation, northeastern Brazil. *Flora* 202, pp. 513-520.
- Mendonça, L. B., Anjos, L., 2006. Flower morphology, néctar features, and hummingbird visitation to *Palicourea crocea* (Rubiaceae) in the Upper Paraná River floodplain, Brazil. *Anais da Academia Brasileira de Ciências* 78, 45-57.
- Murray, B.G. 1990. Heterostyly and pollen-tube interactions in *Luculia gratissima* (Rubiaceae). *Annals of Botany* 65, 691-698.
- Passos, L. & Sazima, M. 1995. Reproductive biology of the distylous *Manettia luteo-rubra* (Rubiaceae). *Botanic Acta* 108, 309-313.
- Pereira, M. S.; Barbosa, M. R. V., 2004. A família Rubiaceae na Reserva Biológica Guaribas, Paraíba, Brasil. Subfamílias Antirheoideae, Cinchonoideae e Ixiroideae. *Acta Botanica Brasilica* 18, 305-318.
- Primo, L. M., 2008. A guilda de plantas esfingófilas e quiropterófilas em remanescente de floresta Atlântica estacional semidecidual em Pernambuco: sazonalidade de recursos e biologia reprodutiva. Tese de Doutorado, Universidade Federal de Pernambuco, Recife.
- Richards, A.J. 1986. *Plant breeding systems*. Allen & Unwin, London.

- Richards, J. H., Koptur, S., 1993. Floral variation and distyly in *Guettarda scabra* (Rubiaceae). *American Journal of Botany* 80, pp. 31-40.
- Rossi, A. A. B., Oliveira, L. O., Vieira, M. F., 2005. Distyly and variation in floral in natural populations of *Psychotria ipecacuanha* (Brot.) Stokes (Rubiaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 28, 285-294.
- Sobrevila, C., Ramirez, N., Enrech, N. X., 1983. Reproductive biology of *Palicourea fendleri* and *P. petiolares* (Rubiaceae), heterostylous shrubs of a tropical cloud forest in Venezuela. *Biotropica* 15, 161-169.
- Sokal, R. R., Rohlf, F. J., 1995. *Biometry*. Freeman and Company, New York.
- Souza, V. C., Lorenzi, H., 2005. *Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em AGP II*. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum.
- Teixeira, L. A. G., Machado, I. C., 2004a. *Sabicea cinerea* Aubl. (Rubiaceae): distilia e polinização em um fragmento de floresta Atlântica em Pernambuco, Nordeste do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 27, 193-204.
- Teixeira, L. A. G., Machado, I. C., 2004b. Biologia da polinização e sistema reprodutivo de *Psychotria barbiflora* DC. (Rubiaceae). *Acta Botanica Brasílica* 18, 853-862.
- Toledo, R., Carvalho, A., Hashimoto, D., Rodrigues, M., Ferreguti, R., Consolaro, H., Hay, J., Oliveira, P. E., 2007. Caracterização morfológica de quatro espécies de *Palicourea* Aubl. (Rubiaceae) do cerrado do Brasil central. *Revista Brasileira de Biociências* 5, 732-734.
- Webb, C. J., Lloyd, D. G., 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in Angiosperms II. *Hercogamy*. *New Zealand Journal of Botany* 24, pp. 163-178.
- Wiens, D., Calvin, C. L., Wilson, C. A., Davern, C. I., Frank, D., Seavey, S. R., 1987. Reproductive success, spontaneous embryo abortion, and genetic load in flowering plants. *Oecologia* 71, pp. 501-509.
- Zickel, C. S., Almeida JR, E. B., Medeiros, D. P. W., Lima, P. B., Souza, T. M. S., Lima, A. B., 2007. Magnoliophyta species of restinga, state of Pernambuco, Brazil. *Check List* 3, pp. 224-241.

Tabela 1. Morfometria floral de *Guettarda platypoda* (Rubiaceae) em uma área de restinga do Nordeste do Brasil. Os valores (mm) são expressos em média \pm desvio padrão (p= Teste de Tukey).

Caracteres	Brevistila	Longistila	p
Altura do estigma	11,11 \pm 1,96	16,79 \pm 2,20	<0,001
Comprimento do estigma	0,82 \pm 0,11	0,78 \pm 0,16	0,25
Altura da antera	17,90 \pm 2,49	15,62 \pm 1,69	<0,001
Comprimento da antera	2,60 \pm 0,29	2,53 \pm 0,32	0,19
Comprimento da corola	18,53 \pm 2,57	16,50 \pm 1,99	<0,001
Diâmetro da corola	13,39 \pm 2,74	13,62 \pm 1,85	0,49

Tabela 2. Produção de frutos (%) após os tratamentos de polinização manual (número de flores entre parênteses) e controle em flores de *Guettarda platypoda* (Rubiaceae) em uma área de restinga do Nordeste do Brasil. AE: autopolinização espontânea, APX: apomixia, AP: autopolinização manual, INTER: cruzamentos intermorfos, INTRA: cruzamentos intramorfos, CO: controle. Letras minúsculas diferentes na mesma linha, e maiúsculas na mesma coluna representam diferença significativa pelo teste Exato de Fisher ($p < 0.05$).

Morfotipo	AP	AE	CO	APX	INTRA	INTER
Brevistila	2.7 (37) ^{bA}	13.9 (43) ^{aA}	56.25 (48) ^{cA}	9.09 (55)	3.03 (33) ^{aA}	17.14 (35) ^{dA}
Longistila	18.18 (33) ^{aB}	10 (50) ^{aA}	50 (42) ^{cA}	-	7.89 (38) ^{aA}	16.6 (42) ^{aA}

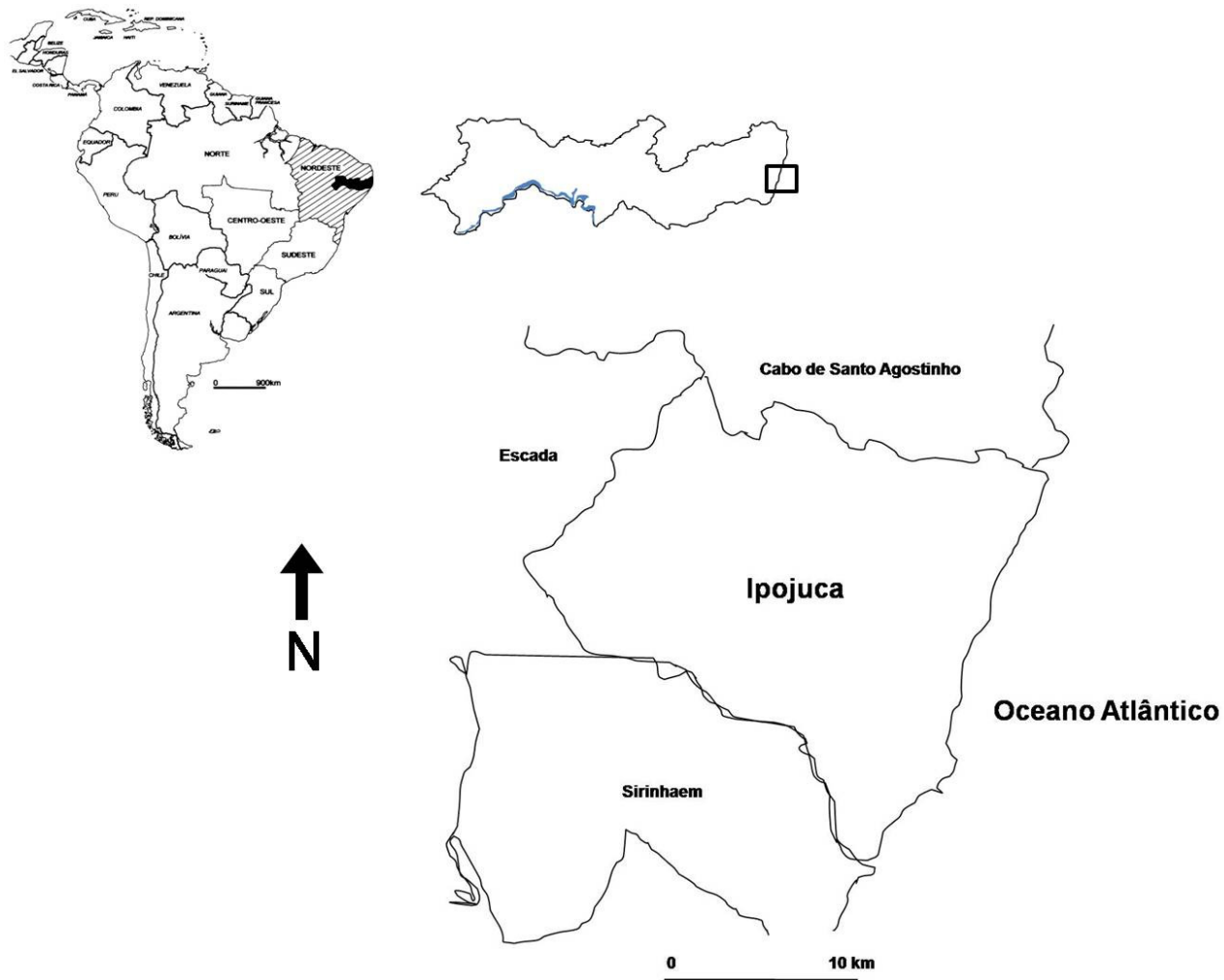


Figura 1. Localização da área de estudo (Reserva Particular do Patrimônio Natural Nossa Senhora do Oiteiro de Maracaípe, município de Ipojuca, região metropolitana do Recife, Pernambuco, Brasil).

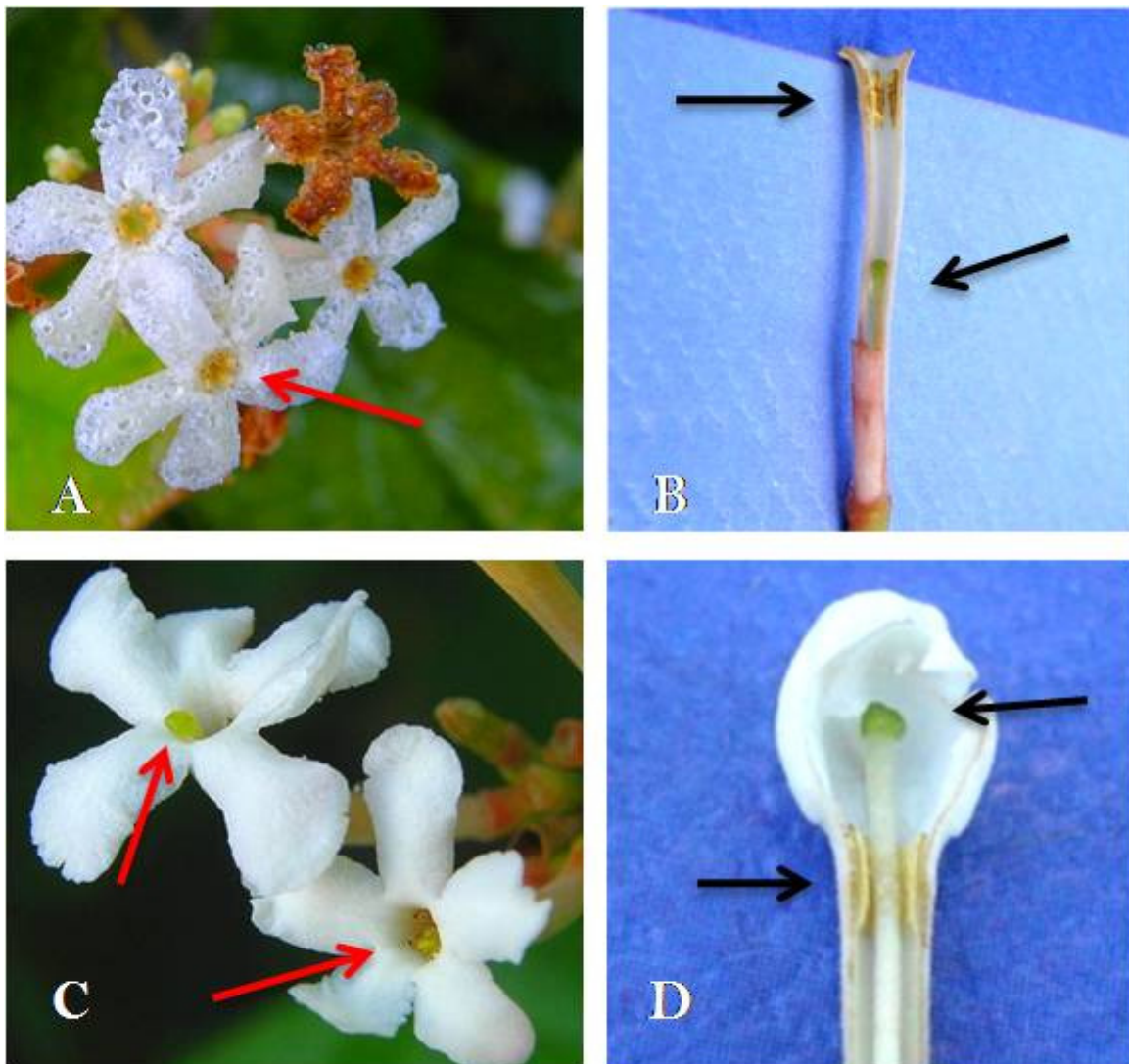


Figura 2. Flores de *Guettarda platypoda* (Rubiaceae) de uma área de restinga do Nordeste do Brasil. A) flor brevistila (seta: anteras); B) corte longitudinal de flor brevistila (setas: estigma e anteras); C) flor longistila (setas: posição do estigma); D) corte longitudinal do botão floral de flor longistila.

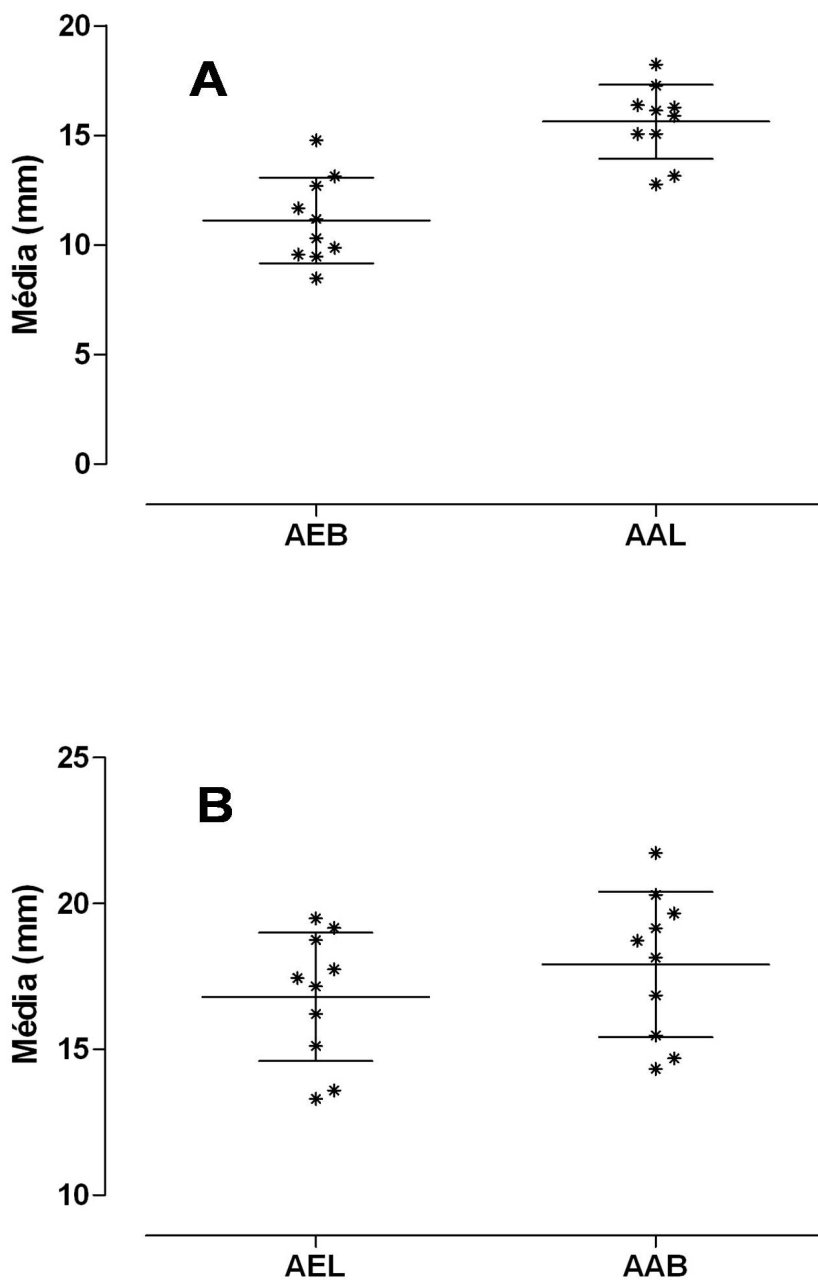


Figura 3 – Reciprocidade entre os elementos sexuais de flores brevistilas e longistilas de *Guettarda platypoda* (Rubiaceae) em uma área de restinga do Nordeste do Brasil. A: altura do estigma de flores brevistilas (AEB) e de anteras de flores longistilas (AAL); B: Altura do estigma de flores longistilas (AEL) e de anteras de flores brevistilas (AAB).

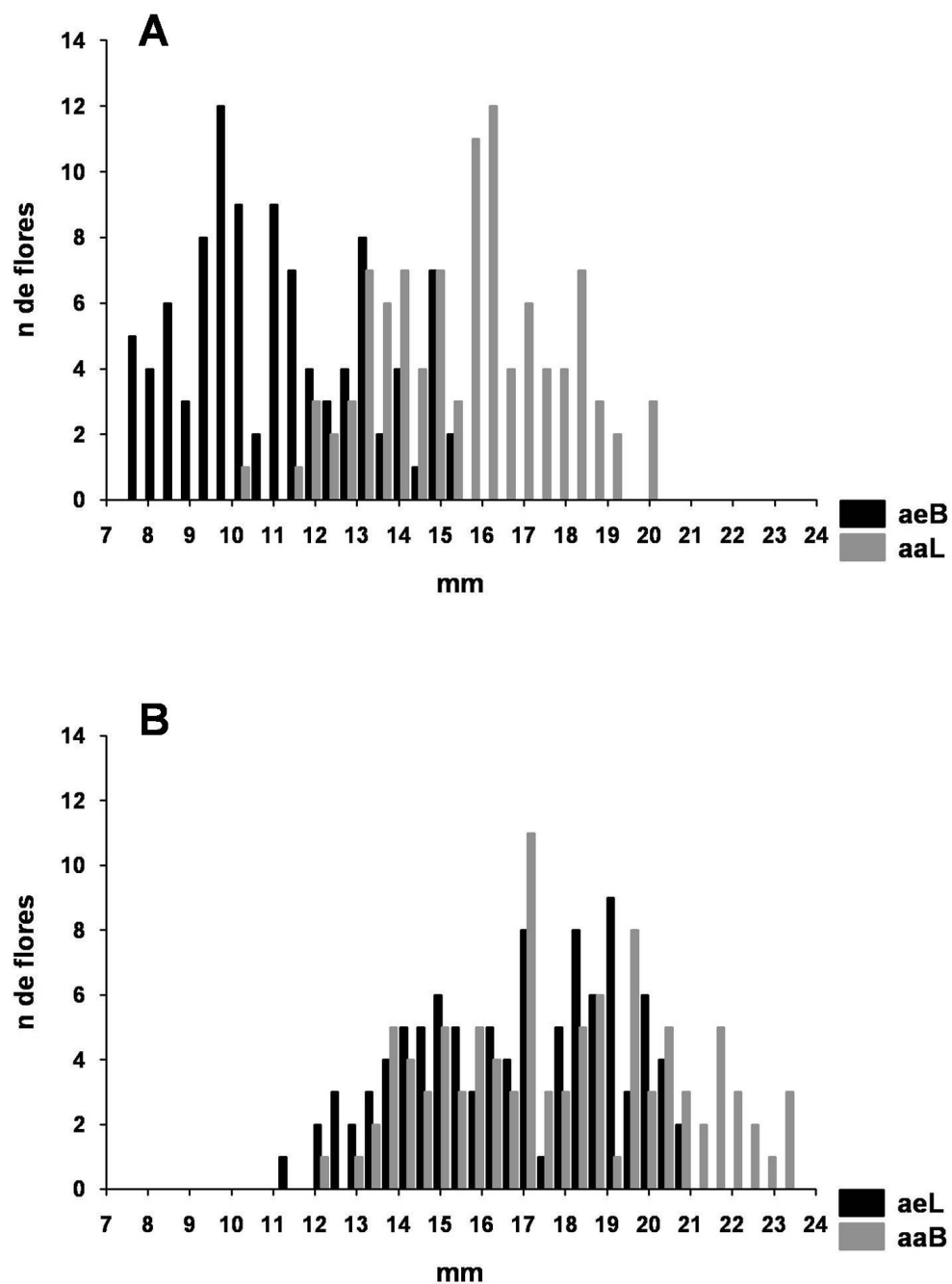


Figura 4 – Distribuição dos indivíduos com base nas alturas (mm) de estigma (ae) e anteras (aa) de flores brevistilas (B) e longistilas (L) de *Guettarda platypoda* (Rubiaceae) em uma área de restinga do Nordeste do Brasil. A: altura do estigma de flores B e das anteras de flores L; B: altura do estigma de flores L e das anteras de flores B.

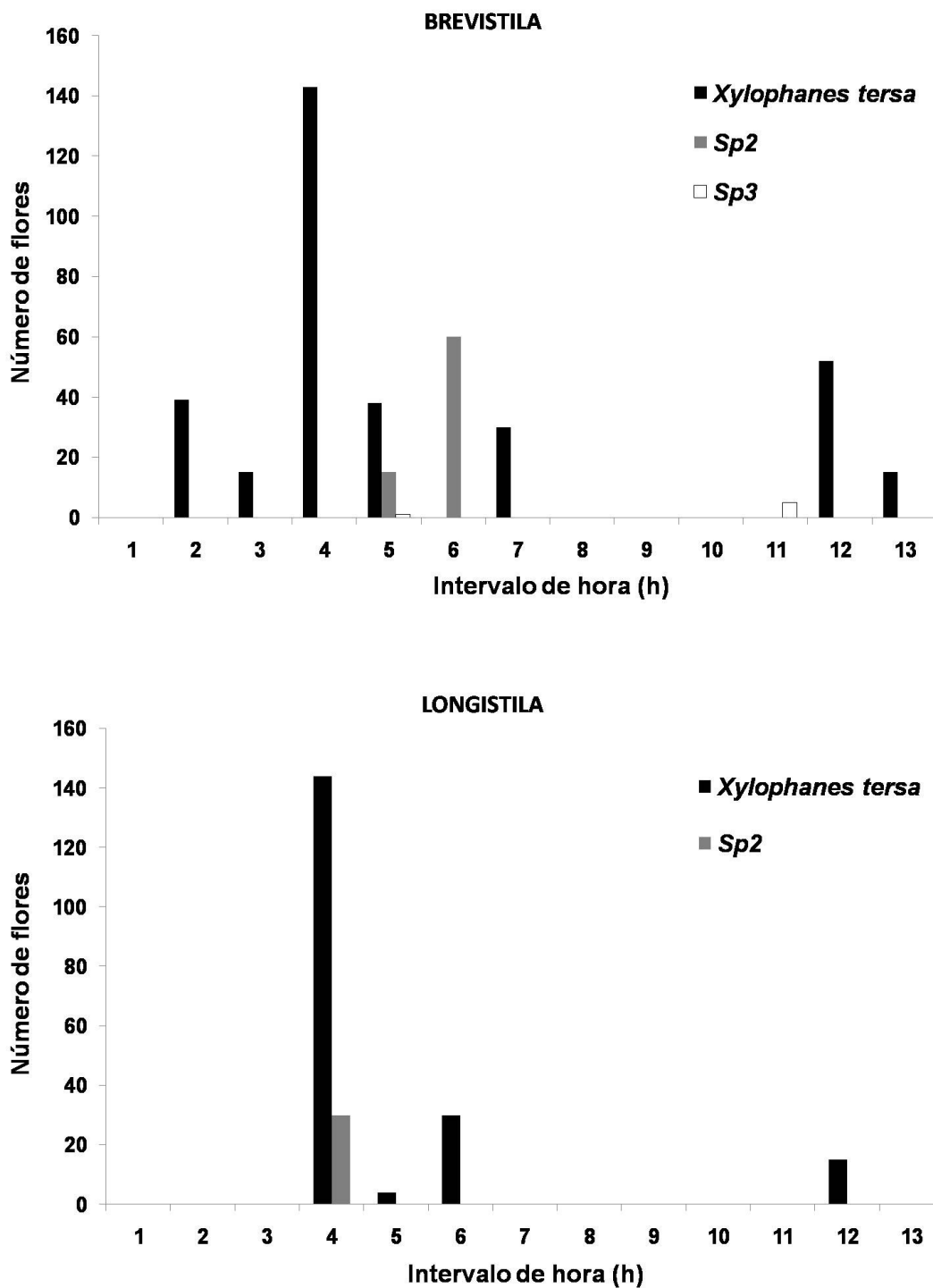


Figura 5 – Frequência de visitas observadas em indivíduos de flores brevistilas e longistilas de *Guettarda platypoda* (Rubiaceae) em uma área de restinga do Nordeste do Brasil. Os valores de “Intervalo de hora (h)” representam intervalos de uma hora com início as 17:00 horas.

5. ANEXO

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 not-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 laser-print 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, commata 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>.