

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO

FLUXO DE PÓLEN EM ESPÉCIES SINCRONOPÁTRICAS NO
SUDOESTE GOIANO

Autor: Paula Gabriela Ferreira Barbosa
Orientadores: Prof. Dr. Christiano Peres Coelho
Prof. Dr. Diego Ismael Rocha
Coorientadora: Prof. Dra. Luzia Francisca de Souza

Rio Verde – Goiás

Outubro – 2019

INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA, PÓS-GRADUAÇÃO E INOVAÇÃO
PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO

FLUXO DE PÓLEN EM ESPÉCIES SINCRONOPÁTRICAS NO
SUDOESTE GOIANO

Autor: Paula Gabriela Ferreira Barbosa
Orientador: Prof. Dr. Christiano Peres Coelho
Prof. Dr. Diego Ismael Rocha
Coorientadora: Prof. Dra. Luzia Francisca de Souza

Dissertação apresentada como parte das exigências para obtenção do título de MESTRE EM BIODIVERSIDADE E CONSERVAÇÃO, ao Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Conservação do Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano – Campus Rio Verde - Área de concentração: Conservação dos Recursos Naturais.

Rio Verde – Goiás

Outubro – 2019

Sistema desenvolvido pelo ICMC/USP
Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)
Sistema Integrado de Bibliotecas - Instituto Federal Goiano

B238f Barbosa, Paula Gabriela Ferreira
 Fluxo de pólen em espécies sincronopátricas do
 Sudoeste Goiano / Paula Gabriela Ferreira
 Barbosa; orientador Diego Ismael Rocha; co-orientador
 Christiano Peres Coelho. -- Rio Verde, 2019.
 61 p.

 Dissertação (em Biodiversidade e Conservação) --
 Instituto Federal Goiano, Campus Rio Verde, 2019.

 1. Rubiaceae. 2. Fluxo de pólen. 3. Heterostilia.
 4. Distília. 5. . I. Rocha, Diego Ismael, orient.
 II. Coelho, Christiano Peres, co-orient. III. Título.

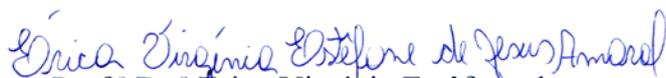
INSTITUTO FEDERAL DE EDUCAÇÃO, CIÊNCIA E TECNOLOGIA
GOIANO – CAMPUS RIO VERDE
DIRETORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO, PESQUISA E INOVAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIODIVERSIDADE E
CONSERVAÇÃO

FLUXO DE PÓLEN ENTRE ESPÉCIES SINCRONOPÁTRICAS
NO SUDOESTE DE GOIÁS

Autora: Paula Gabriela Ferreira Barbosa
Orientadores: Christiano Peres Coelho
Diego Ismael Rocha

TITULAÇÃO: Mestre em Biodiversidade e Conservação – Área de
concentração Conservação dos Recursos Naturais.

APROVADA em 30 de outubro de 2019.



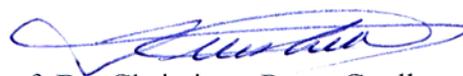
Prof.^a Dr.^a Erica Virginia Estéfane de
Jesus Amaral
Avaliadora externa
UFJ / Jataí



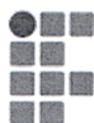
Prof.^a Dr.^a Luzia Francisca de Souza
Avaliadora externa
UFJ / Jataí



Prof.^a Dr.^a Sueisla Lopes Rezende
Silva
Avaliadora externa
UFJ / Jataí



Prof. Dr. Christiano Peres Coelho
Presidente da Banca
UFJ / Jataí



TERMO DE CIÊNCIA E DE AUTORIZAÇÃO PARA DISPONIBILIZAR PRODUÇÕES TÉCNICO-CIENTÍFICAS NO REPOSITÓRIO INSTITUCIONAL DO IF GOIANO

Com base no disposto na Lei Federal nº 9.610/98, AUTORIZO o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano, a disponibilizar gratuitamente o documento no Repositório Institucional do IF Goiano (RIIF Goiano), sem ressarcimento de direitos autorais, conforme permissão assinada abaixo, em formato digital para fins de leitura, download e impressão, a título de divulgação da produção técnico-científica no IF Goiano.

Identificação da Produção Técnico-Científica

[] Tese [] Artigo Científico
[x] Dissertação [] Capítulo de Livro
[] Monografia – Especialização [] Livro
[] TCC - Graduação [] Trabalho Apresentado em Evento
[] Produto Técnico e Educacional - Tipo:

Nome Completo do Autor: Paula Gabriela Ferreira Barbosa

Matrícula: 2017202310840152

Título do Trabalho: FLUXO DE PÓLEN EM ESPÉCIES SINCRONOPÁTRICAS NO SUDOESTE GOIANO

Restrições de Acesso ao Documento

Documento confidencial: [x] Não [] Sim, justifique: _____

Informe a data que poderá ser disponibilizado no RIIF Goiano: 01/03/20

O documento está sujeito a registro de patente? [] Sim [x] Não

O documento pode vir a ser publicado como livro? [] Sim [x] Não

DECLARAÇÃO DE DISTRIBUIÇÃO NÃO-EXCLUSIVA

O/A referido/a autor/a declara que:

- o documento é seu trabalho original, detém os direitos autorais da produção técnico-científica e não infringe os direitos de qualquer outra pessoa ou entidade;
- obteve autorização de quaisquer materiais inclusos no documento do qual não detém os direitos de autor/a, para conceder ao Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano os direitos requeridos e que este material cujos direitos autorais são de terceiros, estão claramente identificados e reconhecidos no texto ou conteúdo do documento entregue;
- cumpriu quaisquer obrigações exigidas por contrato ou acordo, caso o documento entregue seja baseado em trabalho financiado ou apoiado por outra instituição que não o Instituto Federal de Educação, Ciência e Tecnologia Goiano.

Rio Verde 10/12/19
Local Data

Paula Gabriela F. Barbosa

Assinatura do Autor e/ou Detentor dos Direitos Autorais

Ciente e de acordo:

Diego Rocha
Assinatura do(a) orientador(a)

Diego Ismael Rocha
Instituto de BioCiências - UFG/REJUNATAI
SIAPE: 2264104

Girls shouldn't be afraid to be smart

Emma Watson

[...]

Até meu jeito é o dela

Amor cego escutando com o coração a luz do peito dela

Descreve o efeito dela, breve, intenso, imenso

Ao ponto de agradecer até os defeitos dela

Esses dias achei na minha caligrafia

A tua letra e as lágrimas molham a caneta

[...]

Emicida – Mãe

A minha mãe, **dedico.**

AGRADECIMENTOS

A Deus, pelas bênçãos em minha vida, por me permitir concluir mais esta etapa. Agradeço a Deus também pela minha família, aos meus pais, tios e tias, por me transmitirem o valor e a importância da educação. Aos mais velhos, agradeço pelo incentivo e suporte. Aos primos e primas que concluíram suas graduações e pós-graduações antes de mim, agradeço pelo exemplo a ser seguido, pela força e determinação, e pela confiança depositada. Aqueles que ainda não chegaram lá, todo meu apoio. Às crianças mais novas, agradeço pelas risadas inocentes, pelos sorrisos sinceros e pela esperança renovada.

A minha mãe Carmelita, pois sem ela ao meu lado nada seria possível. Agradeço pelo apoio emocional, pelo exemplo de mulher forte e determinada, agradeço por me ensinar que somos capazes de tudo, desde que nos dediquemos.

Ao meu irmão Pedro Henrique, por estar ao meu lado sempre, mesmo nos dias de mau humor, por ser meu companheiro, por estar sempre comigo. Agradeço também ao meu pai Everardo, pelo suporte, apoio e interesse.

Ao meu amigo, e namorado Adriano por todo o incentivo, por ouvir minhas reclamações, por dirigir pra mim nos dias de preguiça, pelas tardes passadas dentro do carro esperando o término das aulas. Obrigada por me acompanhar nas coletas e sinto muito pelos carrapatos!

Aos meus orientadores, Professor Dr. Christiano pelo incentivo e confiança depositada, pelo apoio durante esta jornada. Agradeço a Professora Dra. Luzia, pelas conversas, pelas sugestões, pelo apoio prestado. Ao Profprofessor Dr. Diego, por todo o apoio, pela dedicação e incentivo.

Aos amigos do Herbário Jataiense da Universidade Federal de Jataí, pelos cafés, pelas conversas e risadas.

Ao pessoal do Laboratório de Morfofisiologia da Universidade Federal de Jataí, a Dra. Lilia pelo apoio no início desta etapa e a Técnica Dra. Sueisla pelas sugestões e ajuda na conclusão deste trabalho, obrigada também pelos chocolates!

Ao Laboratório de Anatomia Vegetal da Universidade Federal de Jataí, em especial o Professor Vinícius, e ao amigo Matheus.

A todos que de alguma forma contribuíram para a conclusão deste estudo.

BIOGRAFIA DA AUTORA

Paula Gabriela Ferreira Barbosa, filha de Carmelita Francisca Ferreira Barbosa e Everardo Guedes Barbosa, nasceu em Santa Helena de Goiás, Estado de Goiás, em 06 de outubro de 1993. Em 2011 ingressou no curso de Bacharelado em Ciências Biológicas pela Universidade Federal de Goiás, Campus Jataí, com conclusão no primeiro semestre de 2017. Em maio de 2018, iniciou curso de pós-graduação em Docência do Ensino Superior pela Universidade Norte do Paraná, com conclusão em março de 2019. Em setembro de 2017 ingressou no programa de pós-graduação em Biodiversidade e Conservação, nível mestrado, área de concentração Conservação de Recursos Naturais submetendo-se à defesa da dissertação intitulada: Fluxo de pólen em espécies sincronopatricas no sudoeste goiano, requisito indispensável para a obtenção do título de mestre em outubro de 2019.

ÍNDICE GERAL

	Página
Índice de Tabelas	Ix
Índice de Figuras	X
RESUMO	Xiii
ABSTRACT	Xv
1. INTRODUÇÃO	01
1.1. Cerrado	01
1.2. Fragmentação e Polinização	02
1.3. Heterostilia	05
1.4. Família Rubiaceae	08
1.5. Os gêneros <i>Psychotriae Palicourea</i>	09
1.6. Referencias Bibliográficas	12
2. Objetivos	16
2.1. Objetivo geral	16
2.2. Objetivos específicos	16
3. CAPÍTULO 1: Distilia em Rubiaceae: uma avaliação cienciométrica	18
3.1. Introdução	19
3.2. Metodologia	21
3.3. Resultados e discussão	22
3.3.1. Análise geral sobre a distilia	22
3.3.2. <i>Psychotria carthagenensis</i> e <i>Palicourea crocea</i>	24
3.3.3. Característica das espécies	25
3.4. Conclusão	26
3.5. Referencias Bibliográficas	26

4. CAPITULO II: FLUXO DE PÓLEN EM ESPÉCIES DE RUBIACEAE EM FRAGMENTO DLORESTAL ANTROPIZADO	30
4.1. Introdução	31
4.2. Objetivos	32
4.3. Material e métodos	32
4.3.1. Local do estudo	33
4.3.2. Espécies estudadas	33
4.3.3. Morfometria floral	33
4.3.4. Hercogamia recíproca	33
4.3.5. Dimorfismo polínico	34
4.3.6. Fluxo de pólen	34
4.3.7. Morfologia das papilas estigmáticas	34
4.3.8. Avaliação anatômica dos caracteres florais	35
4.4. Resultados	35
4.4.1. Local do estudo	35
4.4.2. Morfometria floral	37
4.4.3. Hercogamia recíproca	41
4.4.4. Dimorfismo polínico	44
4.4.5. Fluxo de pólen	46
4.4.6. Análise das papilas estigmáticas	51
4.5. Conclusão	55
4.6. Referencias bibliográficas	56
5. CONCLUSÃO GERAL	60

INDICE DE TABELAS

	Página
CAPÍTULO II: FLUXO DE PÓLEN EM ESPÉCIES DE RUBIACEAE EM FRAGMENTO FLORESTAL ANTROPIZADO	
Tabela 1 – Morfometria floral de <i>P. carthagenensis</i> e <i>P. crocea</i>	38
Tabela 2 – Dimorfismo polínico observado em <i>P. carthagenensis</i> e <i>P. crocea</i>	44
Tabela 3 – Porcentagem de Fluxo de pólen encontrado nos estigmas de <i>P. carthagenensis</i> e <i>P. crocea</i>	48

INDICE DE FIGURAS

Página

INTRODUÇÃO

Figura 1. Detalhes de *Psychotria carthagenensis* e *Palicourea crocea*. A) flor brevistílica de *P. carthagenensis*, B) flor longistílica de *P. carthagenensis*, C) frutos de *P. carthagenensis*, D) inflorescência de *P. carthagenensis*. E) Inflorescência de *P. crocea*, F) flor longistílica à esquerda e flor brevistílica à direita. G) frutos imaturos de *P. crocea*, H) frutos maduros de *P. crocea*. (Imagens E a H fonte: Coelho, 2013).....11

CAPÍTULO I: DISTILIA EM RUBIACEAE: UMA AVALIAÇÃO CIENCIOMÉTRICA

Figura 2. Relação entre quantidade de trabalhos publicados e país onde os estudos foram desenvolvidos. Resultados encontrados nas buscas realizadas nas bases de dados Scielo, Scopus e Web of Science. As palavras-chave utilizadas foram Rubiaceae+*Distyly*, sendo que os resultados estão expostos na forma de números de artigos publicados entre os anos de 1990 e 2018.....23

Figura 3. Figura 3 - Relação entre os visitantes florais dos gêneros *Palicourea* e *Psychotria*.....24

CAPÍTULO II: FLUXO DE PÓLEN EM ESPÉCIES DE RUBIACEAE EM FRAGMENTO FLORESTAL ANTROPIZADO.

- Figura 4. Figura 4: Vista de satélite do local onde foi realizado o estudo. Fragmento florestal próximo ao Ribeirão Paraiso, (17°48'17.9"S 51°47'35.2"W). Fonte: Google Earth.....36
- Figura 5. Visão do local onde foram realizadas as coletas. Instalações pertencentes à olaria (A, C, D), fluxo de animais (B) e veículos pesados (E).....37
- Figura 6. Fotomicrografias das pétalas de *P. carthagenensis* e *P. crocea*. A) Corte transversal da pétala de flor brevistílica de *P. carthagenensis* B) Corte transversal da pétala de flor longistílica de *P. carthagenensis*, C) Corte transversal da pétala de flor brevistílica de *P. crocea*, B) Corte transversal da pétala de flor longistílica de *P. crocea*. T- tricoma, FV- feixe vascular, I – idioblasto, FI – filete, EA – epiderme adaxial, EB- epiderme abaxial, P – papilas.....40
- Figura 7: Comparação da variação de tamanho das estruturas reprodutivas em flores de *P. carthagenensis* coletadas em Jataí–GO. Triângulos representam a altura dos estigmas e círculos altura das anteras.43
- Figura 8. Comparação da variação de tamanho das estruturas reprodutivas em flores de *P. crocea* em Jataí–GO. Triângulos representam a altura dos estigmas e círculos altura das anteras.....43
- Figura 9. Fotomicrografias das estruturas reprodutivas de *P. carthagenensis* e *P. crocea*. A) Corte transversal da antera brevistílica de *P. carthagenensis*, B) Corte transversal da antera longistílica de *P. carthagenensis*. C) Corte transversal da antera brevistílica de *P. crocea*, aumento de 10x, D) Corte transversal da antera longistílica de *P. crocea*, aumento de 10x, E) Corte transversal da antera brevistílica de *P. crocea*, aumento de 20x, F) Corte transversal da antera brevistílica de *P. crocea*, aumento de 20x. C – conectivo, TP – tapetum, TR – tricomas, GP – Grãos de Pólen.....45
- Figura 10. Tamanho dos grãos de pólen medidos em anteras de dois morfos distintos em botões florais empré-antese de *P. carthagenensis*.....46
- Figura 11. Tamanho dos grãos de pólen medidos em anteras de dois morfos distintos em botões florais em pré-antese de *P. crocea*.....47

- Figura 12. Fotomicrografias dos estigmas de *P. carthagenensis*. A a C) Evidencia de fluxo de deposição de pólen de outras espécies sobre estigma brevistilos. D) Evidencia de fluxo de deposição de pólen de outras espécies sobre estigma longistilo.....49
- Figura 13. Fotomicrografias dos estigmas brevistilos de *P. crocea*. A a F) Evidência de fluxo de deposição de pólen de outras espécies sobre estigma de *P. crocea*..... 50
- Figura 14. Fotomicrografias das papilas estigmáticas de *P. carthagenensis*. A) Estigma brevistílico com aumento de 10x, C e E) Papilas estigmáticas do morfobrevistílico com aumento de 20x e 40X respectivamente. B) Estigma brevistílico com aumento de 20x, D e F) Papilasestigmáticas do morfolongistílico com aumento de 20x e 40X respectivamente.....52
- Figura 15. Fotomicrografias das papilas estigmáticas de *P. crocea*. A) Estigma brevistílico com aumento de 10x, B) Estigma longistílico com aumento de 10x, C) Estigma brevistílico com aumento de 20x, D) Papilas estigmáticas do morfolongistílico com aumento de 20x.....53
- Figura 16. Fotomicrografias das papilas estigmáticas de *P. carthagenensis* e *P. crocea*. (A) corte paradermico do estigma brevistílico de *P. carthagenensis*, (B) Corte paradermico do estigma longistílico de *P. carthagenensis*, C) Corte paradermico dos estigmas brevistílico de *P. crocea*, D) Corte paradermico dos estigmas longistílico de *P. crocea*. I- Idioblastos.....54

RESUMO

BARBOSA, PAULA GABRIELA FERREIRA, Instituto Federal Goiano – Campus Rio Verde–GO, outubro de 2019. **Fluxo de pólen em espécies sincronopátricas no sudoeste goiano.** Orientadores: Dr. Christiano Peres Coelho e Dr. Diego Ismael Rocha. Coorientadora: Dra. Luzia Francisca de Souza

Palicourea crocea e *Psychotria carthagenensis* são espécies distílicas pertencentes a família Rubiaceae, comum a flora do Cerrado. A distilia é um polimorfismo floral controlado geneticamente que tem como função principal a otimização do fluxo de pólen legítimo entre morfos distintos de uma mesma espécie em uma população. O fluxo de pólen é uma importante interação entre as espécies, pois leva a reprodução cruzada e esta por sua vez gera diversidade genética, fator importante para a manutenção das espécies em ambientes e resistência a mudanças ambientais. Devido a grande quantidade de espécies distílicas pertencentes à Rubiaceae o presente estudo teve o objetivo de realizar uma avaliação cienciométrica dos trabalhos já realizados sobre o assunto para a família, além de avaliar as características florais de *P. carthagenensis* e *P. crocea* para avaliar a presença de distilia na população, além de seus polimorfismos floras secundários e sua anatomia. Os resultados encontrados para as avaliações cienciométricas demonstraram que são ainda poucos os estudos realizados considerando o tamanho da espécie e a quantidade de representantes distílicos. Com coletas realizadas em um ambiente antropizado, as flores foram armazenadas em álcool 70% para posterior análise. Os resultados da morfologia floral demonstraram que havia dois morfos nas populações estudadas, entretanto os testes de reciprocidade demonstraram que havia grande variação na altura das estruturas reprodutivas, fator que

pode levar a contaminação com pólen ilegítimo. Os resultados encontrados para a avaliação do diâmetro dos grãos revelou que o morfo brevistílico apresenta grãos de pólen maiores. Já a avaliação do fluxo de pólen nos estigmas demonstrou uma maior eficiência do morfo longistílicos para *P. carthagenensis*. Para *P. crocea* o morfo brevistílico apresentou maior porcentagem de fluxo legítimo. Além disso, houve contaminação com pólen de outras espécies, o que pode ser resultado da variação na altura das peças reprodutivas observada nas populações avaliadas. A morfologia das papilas estigmáticas demonstrou que *P. carthagenensis* apresenta papilas alongadas para ambos os morfos, sendo mais finas no morfolongistílico, já *P. crocea* apresenta papilas arredondadas para o morfobrevistílico e alongadas para o morfolongistílico. A anatomia da flor das duas espécies é semelhante com pétalas composta de epiderme simples e parênquima fundamental, sendo possível observar alguns tricomastectores e idioblastos, além de *P. crocea* apresentar papilas em sua epiderme abaxial. As anteras tetrasporangeadas também foram comuns a ambas as espécies. Os estigmas ambos bífidos compostos por papilas estigmáticas em sua maioria alongadas a exceção do morfo brevistílico de *P. crocea* que apresenta papilas arredondadas.

Palavras-chave: Rubiaceae, Cienciometria, Fluxo de pólen

Abstract

BARBOSA, PAULA GABRIELA FERREIRA. **Pollen flow in synchronized species in southwestern Goiás.** Advisors: Dr. Christiano Peres Coelho, Dr. Diego Ismael Rocha. Co-advisor: Dra. Luzia Francisca de Souza.

Palicourea crocea and *Psychotria carthagenensis* are distillic species belonging to the family Rubiaceae, common to the Cerrado flora. Dysthily is a genetically controlled floral polymorphism that has as its main function the optimization of legitimate pollen flow between distinct morphs of the same species in a population. Pollen flow is an important interaction between species, as it leads to cross breeding and this in turn generates genetic diversity, an important factor for the maintenance of species in environments and resistance to environmental changes. Due to the large number of distillic species belonging to Rubiaceae, this study aimed to carry out a scientometric evaluation of the family's work on the subject, as well as to evaluate the floral characteristics of *P. carthagenensis* and *P. crocea* to evaluate the presence of dysthily in the population, in addition to its secondary flower polymorphisms and its anatomy. The results found for the scientometric evaluations showed that there are still few studies considering the size of the species and the number of distillic representatives. With collections performed in an anthropized environment, the flowers were stored in 70% alcohol for further analysis. The results of floral morphology showed that there were two morphs in the studied populations, however reciprocity tests showed that there was great variation in the height of reproductive structures, a factor that can lead to contamination with illegitimate pollen. The results found for the grain diameter evaluation revealed that the brevistillic morphus has larger pollen grains. The evaluation of pollen flow in the stigmas demonstrated a higher efficiency of the longistillic morphos

for *P. carthagenensis*. For *P. crocea* the brevistilic morphus presented higher percentage of legitimate flow. Moreover, there was contamination with pollen from other species, which may be a result of the variation in height of reproductive parts observed in the populations evaluated. The morphology of the stigmatic papillae showed that *P. carthagenensis* has elongated papillae for both morphos, being thinner in the morpho longistilic, whereas *P. crocea* has rounded papillae for the morpho brevistilic and elongated papillae for the morpho longistilic. The anatomy of the flower of the two species is similar with petals composed of simple epidermis and fundamental parenchyma, and it is possible to observe some trichomes and idioblasts, besides *P. crocea* presenting papillae in its abaxial epidermis. Tetrasporanged anthers were also common to both species. Both bifid stigmas composed of mostly elongated stigmatic papillae with the exception of the *P. crocea* brevistilic morphus which has rounded papillae.

Keywords: Rubiaceae, Sciencimetry, Pollen flow.

1. INTRODUÇÃO

1.1 Cerrado

O Cerrado é o segundo maior bioma brasileiro, abrangendo cerca de 2 milhões de km² ocorrendo nos estados de Goiás, Bahia, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, Maranhão, Piauí, Rondônia, São Paulo e Paraná. O clima da região é estacional, possuindo um período chuvoso que ocorre de outubro a março, e um período seco de abril a setembro, com temperaturas, variando entre 22°C a 27°C durante todo o ano (COUTINHO, 2006; KLINK; MACHADO, 2005; MACHADO et al., 2004).

Considerado um *Hotspot* de biodiversidade, o Cerrado é rico em espécies vegetais e animais, e um alto nível de endemismo, que pode chegar até 70% em alguns casos dependendo do grupo (MACHADO et al., 2004). Essa riqueza de espécies deve-se ao fato da região possuir uma grande variação entre os ambientes, desse modo podem ser observadas áreas de florestas, áreas campestres, savânicas e até brejosas na mesma região (COUTINHO, 2006; MACHADO et al., 2004).

A flora do Cerrado é extremamente rica, somando aproximadamente 12 mil espécies de plantas superiores, sendo que grande parte destas são endêmicas, (aproximadamente 44%) (KLINK; MACHADO, 2005; NOVAES et al., 2013). As árvores possuem normalmente tronco retorcido e casca espessa, algumas sempre verdes, enquanto outras são caducifólias, perdendo suas folhas durante a estação seca,

associadas a estas se encontram uma variedade de gramíneas e ciperáceas. As famílias mais frequentemente encontradas são Fabaceae, Asteraceae, Myrtaceae e Rubiaceae (RATTER; RIBEIRO; BRIDGEWATER, 1997).

Atualmente cerca de metade da área original do Cerrado foi convertida em pastagens, áreas de cultivo ou terras para outros usos. Este alto nível de desmatamento deve-se principalmente ao fato de que a agroindústria nas regiões do Cerrado é lucrativa e encontra-se em constante expansão, aliado a isto está o fato de que por exigência do código florestal, apenas o mínimo de 20% de área precisa ser preservada pelos estabelecimentos agrícolas (KLINK; MACHADO, 2005).

As consequências da antropização no Cerrado são diversas, indo desde contaminação de aquíferos, erosão do solo, fragmentação das áreas naturais, alterações nos ciclos de queimadas, dispersão de espécies exóticas dentre outras que contribuem para a perda de espécies, tanto vegetais como animais (KLINK; MACHADO, 2005), afetando a rede de interação que existe entre as diferentes populações presentes em um ambiente.

1.2 **Fragmentação e Polinização**

O crescimento populacional, e o desenvolvimento da sociedade nos últimos anos, vêm causando um aumento nos efeitos negativos ao ambiente, incluindo situações como: maior utilização de recursos, geração de resíduos, contaminação do ambiente por pesticidas e degradação dos ecossistemas naturais principalmente para uso na agricultura e pecuária (FERES, 2009; HARRIS; JOHNSON, 2004; WHITE; BOSHIER; POWELL, 2002).

O constante desmatamento é um processo comum nas regiões tropicais, local onde há grande parte da produção agrícola (SANTOS; AIZEN; SILVA, 2014; WHITE; BOSHIER; POWELL, 2002). A justificativa para tal atitude seria o crescimento populacional e a necessidade de se produzir alimentos. Entretanto, no Brasil, a maior parte da produção agrícola é de monoculturas como cana-de-açúcar ou soja, produtos usados principalmente na agroindústria, enquanto a área colhida de arroz e feijão, que são de consumo direto, vem diminuindo (MARTINELLI et al., 2010). Além disso, grande parte das terras também é convertida em pastagens (MARTINELLI et al., 2010).

A substituição da paisagem natural leva a formação de fragmentos florestais que ficam isoladas por uma matriz antropizada, o que causa isolamento de populações, além de alterações microclimáticas como o aumento da temperatura nos fragmentos e nas bordas da floresta, situações que interferem na dinâmica de interação entre as espécies (CARVALHO, 2009; SANTOS; AIZEN; SILVA, 2014; WHITE; BOSHIER; POWELL, 2002), sendo considerada uma das principais ameaças à biodiversidade do planeta (HARRIS; JOHNSON, 2004).

A fragmentação afeta as espécies de diferentes maneiras, dependendo de suas características. Assim, algumas delas precisam buscar por novos locais que ofereçam recursos que sejam favoráveis a sua permanência, incluindo neste caso, os polinizadores, que dependem muitas vezes da interação com plantas específicas para conseguir néctar. Entretanto, a matriz antropizada é homogênea, inóspita e na maioria das vezes formada por pastagens ou monoculturas, o que impede que os animais consigam ultrapassá-las (HARRIS; JOHNSON, 2004; SANTOS; AIZEN; SILVA, 2014).

As espécies que existem em um determinado local são relacionadas entre si. Espécies vegetais dependem dos polinizadores para a geração de frutos e sementes, e de dispersores para obter sucesso reprodutivo e colonizar novos ambientes. Os polinizadores visitam as flores em busca de recursos como néctar, pólen, resina ou abrigo. Após a formação do fruto, outros animais vêm em busca dos mesmos para sua alimentação, e realizam o papel de dispersores (HARRIS; JOHNSON, 2004; SANTOS; AIZEN; SILVA, 2014).

A polinização pode ser caracterizada pela transferência de pólen de uma antera para uma superfície estigmática, o que pode ou não resultar em fertilização (OLIVEIRA; MARUYAMA, 2014; RICCI, 2017; WILLMER, 2011). Os fatores fundamentais para a polinização são a quantidade de pólen que chega aos estigmas e a qualidade deste pólen. Uma polinização eficiente contribui para a formação de frutos e sementes (RICCI, 2017), além disso, a reprodução sexuada pode oferecer vantagens à prole como: maior capacidade de colonização, maior probabilidade de resistir a predação e/ou mudanças ambientais, tudo isso devido à recombinação genética (OLIVEIRA; MARUYAMA, 2014). A polinização é um importante processo biológico, fundamental para plantas que necessitam de transferência de pólen para se reproduzir,

além de ter grande importância para o homem, visto que um terço dos produtos agrícolas consumidos necessita de polinizadores (MAUÉS, 2014; SANTOS; AIZEN; SILVA, 2014).

A polinização pode ocorrer tanto por agentes bióticos como por abelhas (melitofilia), borboletas (psicofilia) ou abióticas, como o vento (anemofilia) e a água (hidrofilia) (RAMOS, 2009). A anemofilia é um sistema primitivo onde uma grande quantidade de pólen é liberada no ar e carregada pelo vento e está presente principalmente em gimnospermas (RAMOS, 2009). Algumas angiospermas também apresentam este tipo de polinização como, por exemplo, as gramíneas, entretanto, em florestas tropicais ou densas essa forma de polinização é inviável devido à alta umidade do ar (RAMOS, 2009).

Cerca de 90% das espécies de angiospermas são polinizadas por animais, que tem uma relação de mutualismo, onde o polinizador se beneficia de algum recurso floral e a planta tem suas flores polinizadas (HARRIS; JOHNSON, 2004). Uma polinização eficiente mediada por polinizadores bióticos pode levar a um maior sucesso reprodutivo, devido a maior distância percorrida por eles, aumentando a eficiência na polinização cruzada, permitindo um fluxo de pólen entre populações distantes, gerando maior variabilidade genética, reduzindo a possibilidade de extinção (BORGES, 2017).

Os polinizadores podem ser os mais variados animais desde pequenas vespas e abelhas, até morcegos e mamíferos não voadores. Devido sua importância, uma das estratégias para a sua conservação seria preservar as áreas onde eles são encontrados e os recursos que os mesmos utilizam para o forrageamento, nidificação e reprodução. Entretanto, estes vetores enfrentam diversas ameaças, sendo as principais delas a perda de *habitat*, uso excessivo de agrotóxicos e a presença de espécies invasoras (SANTOS; AIZEN; SILVA, 2014).

A interação entre plantas e animais que coexistem em um mesmo local é complexa, visto que flores generalistas podem ser visitadas por várias espécies de animais, assim como um mesmo animal pode visitar diversas espécies de plantas (SANTOS; AIZEN; SILVA, 2014). Mudanças ambientais podem interferir nessa relação, e a perda desta interação levaria a graves consequências para todas as espécies relacionadas (HARRIS; JOHNSON, 2004).

Populações compostas por poucos indivíduos possuem uma diversidade genética baixa. Isso gera o aumento da homozigose, causada pelo cruzamento entre indivíduos aparentados, que aumenta a chance de alelos deletérios serem fixados na população (JANKE, 2014). Além disso, a redução na população de indivíduos vegetais interfere diretamente na quantidade de polinizadores, que por sua vez afetaria o sucesso da polinização, levando a uma menor produção de frutos, interferindo na dinâmica entre plantas, polinizadores e dispersores, situação que pode levar ao declínio das espécies como um todo (AGUILAR; GALETTO, 2004; KEARNS; INOUE, 1993).

O fluxo de pólen tem um importante papel na manutenção das espécies. Quando diferentes espécies simpátricas compartilham polinizadores e florescem em períodos que se sobrepõem, podem ocorrer contaminações, levando a oclusão do estigma. A oclusão do estigma ocorre quando há fluxo de pólen ilegítimo. Este pólen pode ser proveniente de outras espécies que coexistem no local, ou grãos de pólen inviáveis da própria espécie (SILVA; VIEIRA, 2013).

Tal situação dificulta o reconhecimento e germinação de grãos de pólen legítimos, tendo um papel importante no sucesso reprodutivo das plantas (SILVA; VIEIRA, 2013). Desse modo, estratégias para potencializar o fluxo de pólen, como liberação de pólen em momentos diferentes, estruturas reprodutivas em alturas ou posições diferentes, amadurecimento dos estigmas e anteras em momentos distintos, ou diferenças na oferta de atrativos e recompensas, podem representar ferramentas importantes para evitar a transferência de pólen interespecífico (BORGES, 2017).

1.3 Heterostilia

Por meio das flores, as plantas oferecem atrativos e recompensas aos seus visitantes, como néctar, resinas, pólen e até mesmo abrigo. Os polinizadores por sua vez, quando visitam as flores em busca desses recursos, participam ativamente do fluxo de pólen entre as espécies. Flores hermafroditas oferecem uma vantagem, pois as estruturas reprodutivas, masculina e feminina, estão dispostas na mesma flor, e assim os custos de manutenção das estruturas florais são menores, visto que os visitantes podem tanto depositar como retirar o pólen de uma mesma flor durante uma visita. Por outro lado, as chances de contaminação e um aumento na autopolinização são maiores, o que

pode levar a redução da variabilidade genética (COELHO, 2013; OLIVEIRA; MARUYAMA, 2014; TEIXEIRA; MACHADO, 2004).

Em espécies onde a endogamia não é favorável, como consequências de pressões seletivas, surgiram mecanismos para evitar a autofertilização, que podem ser sistemas de autoincompatibilidade, ou seja, a incapacidade de uma flor ser fertilizada pelo próprio pólen, ou a separação das estruturas reprodutivas, como a heterostilia e a enantiostilia (OLIVEIRA; MARUYAMA, 2014). Encontra-se ainda a separação temporal como a dicogamia onde os estames e as anteras amadurecem em momentos diferentes. Todos estes mecanismos são estratégias para otimização do fluxo de pólen legítimo, ou seja, entre indivíduos diferentes da mesma espécie (OLIVEIRA; MARUYAMA, 2014).

Um importante mecanismo de potencialização do fluxo polínico é a heterostilia, um sistema sexual, que possui como principal característica a separação espacial de estigmas e anteras dentro da mesma flor (MARTÉN-RODRÍGUEZ et al., 2013). Este polimorfismo floral controlado geneticamente surgiu de maneira independente em diversas famílias de Angiospermas, estando hoje presente em 28 delas (FERRERO, 2014).

Populações de plantas heterostílicas apresentam as estruturas reprodutivas em alturas diferentes dentro da mesma flor (FERRERO, 2014). Essa separação espacial dos órgãos reprodutivos é chamada hercogamia, e em espécies heterostílicas ela ocorre de forma recíproca.

A heterostilia pode se manifestar de duas formas, a primeira é a distília, nela as populações possuem dois morfos distintos, um morfo longistílico onde o estigma é alto e as anteras baixas, e um morfo brevistílico, onde as anteras são altas e o estigma baixo. A segunda forma é a tristília, onde as populações apresentam três morfos, um morfo longistílico, com estigma alto e anteras baixas posicionadas em duas alturas diferentes logo abaixo do estigma. Um medioestilo onde o estigma está localizado entre um conjunto de anteras altas e um conjunto de anteras baixas, e um morfo brevistílico onde o estigma é baixo e as anteras estão localizadas em duas alturas diferentes logo acima do estigma (COELHO, 2013; GANDERS, 1979).

Essa hercogamia tem a função de promover a reprodução cruzada, favorecendo a função masculina da flor, por meio de um fluxo simétrico de pólen, assim, quando um visitante tocasse as anteras de uma flor pertencente a um morfo, os grãos de pólen seriam depositados em um local específico do seu corpo, não tocando o estigma, e apenas quando o mesmo polinizador visitasse uma flor de um morfo diferente, os grãos de pólen seriam depositados, evitando contaminações tanto da mesma flor (autopolinização), do mesmo indivíduo (geitonogamia) ou indivíduos do mesmo morfo, gerando dessa forma, maior diversidade genética (DARWIN, 1877; MARTÉN-RODRÍGUEZ et al., 2013).

Espécies heterostílicas também apresentam um sistema de autoincompatibilidade heteromorfo, que favorecem a função feminina, desse modo, a fecundação só ocorre por meio de fluxo de pólen legítimo, ou seja, entre morfos florais diferentes, reduzindo a depressão por endogamia (FERRERO, 2014). Em alguns casos alterações no padrão de transferência de pólen ou redução na reciprocidade das estruturas reprodutivas pode acabar favorecendo um dos morfos, atuando como uma força de seleção natural (MARTÉN-RODRÍGUEZ et al., 2013).

Além das características acima citadas, as espécies heterostílicas apresentam polimorfismos florais secundários, sendo os mais frequentes: diferença entre o tamanho, ornamentação, quantidade e cor dos grãos de pólen, morfologia das papilas estigmáticas, tamanho e morfologia da corola e tamanho do estigma (GANDERS, 1979).

A forma mais comum de heterostilia é a distilia, presente em aproximadamente 26 famílias de angiospermas (COELHO, 2013). Espera-se que as características da distilia favoreçam a polinização cruzada, mantendo as populações equilibradas, com os morfos florais em uma proporção de 1:1, ou seja, praticamente a mesma quantidade de indivíduos de cada morfo, a chamada isoplezia. Entretanto, em ambientes fragmentados ou com perturbações ambientais relacionados a uma baixa densidade populacional, podem ocorrer desequilíbrios no fluxo de pólen, que podem acabar favorecendo um morfo em relação ao outro (MACHADO, 2007).

Em populações distílicas, teoricamente o fluxo de pólen ocorre de forma simétrica, onde ambos os morfos possuem a mesma capacidade de doar e receber pólen. Caso haja desequilíbrios alguns indivíduos podem começar a agir como apenas

doadores (função masculina) ou apenas receptores (função feminina) de pólen, provocando alterações no mecanismo da distília. Nesses casos, os polinizadores podem ter uma função de seleção promovendo uma especialização sexual que pode evoluir para uma dioícia (LOPES, 2016).

Tais situações levam a variações no mecanismo da heterostília, como a redução da reciprocidade das peças reprodutivas e do mecanismo de autoincompatibilidade, gerando homostília, uma condição com indivíduos autocompatíveis e com peças reprodutivas na mesma altura, ou o monomorfismo, situação onde é encontrado apenas um morfo na população (SÁ et al., 2016).

Quando um local sofre modificações, estas podem afetar negativamente a interação entre populações de diferentes espécies que coexistem no local (KEARNS C. A.; INOUE, 1993), como é o caso da polinização legítima que requer fluxo de pólen simétrico, principalmente em espécies autoincompatíveis. Desse modo, identificar estes efeitos negativos é importante para que medidas de conservação ou remediação possam ser tomadas, e assim preservar as interações ecológicas entre as espécies, evitando extinções de espécies individuais.

1.4 Família Rubiaceae

Rubiaceae Juss. possui mais representantes difíceis do que todas as outras famílias juntas (FONSECA et al., 2008), é um importante componente do sub-bosque das florestas neotropicais (FONSECA et al., 2008) e a quarta maior família botânica, com cerca de 15.000 espécies (FERRERO et al., 2012), É considerada uma das principais famílias da flora brasileira, e, no Cerrado a quarta das mais ricas do bioma (STEHMANN; SOBRAL, 2017). Possui distribuição cosmopolita, ocorrendo no Brasil cerca de 1400 espécies (SOUZA e LORENZI, 2012).

Seu hábito varia desde ervas, arbustos, árvores e por vezes lianas, com folhas opostas, simples, frequentemente possuem estípulas. Suas flores estão dispostas em inflorescências, porém em alguns casos estas estão reduzidas a uma única flor. As flores são bissexuadas, actinomorfas, diclamídeas, corola gamopétala, estames epipétalos, ovário ínfero, e em alguns casos apresenta disco nectarífero. Os frutos podem ser cápsulas, bagas, drupas ou esquizocárpicas (SOUZA; LORENZI, 2012).

Rubiaceae possui algumas espécies de importância econômica, destacando-se entre elas o café (*Coffea arabica*), o jenipapo (*Genipa americana*), as espécies ornamentais jasmim-do-cabo (*Gardenia jasminoides*) e ixora (*Ixora* spp.). Dentre as espécies de uso medicinal, as que mais se destacam são a quina (*Cinchona officinalis*), utilizada na fabricação de remédios contra malária e a ipeca (*Carapichea ipecacuanha*) usada na medicina popular. Algumas de suas espécies possuem certa toxicidade e são conhecidas por causar danos ao gado destacando-se aquelas pertencentes aos gêneros *Palicourea* e *Psychotria*, conhecidas popularmente como erva-de-rato (SOUZA, & LORENZI, 2012).

Muitas dessas espécies são sincronopátricas, ou seja, ocorrem no mesmo local e possuem épocas de floração que se sobrepõem e, além disso, compartilham os mesmos visitantes florais (COELHO, 2013), o que aumenta as chances de uma deposição interespecífica de pólen nos estigmas.

Muitos dos trabalhos realizados anteriormente relacionados à biologia floral das espécies distílicas de Rubiaceae são voltados para a presença de hercogamia recíproca e visitantes florais (CONSOLARO et al., 2009; CONSOLARO; SILVA; OLIVEIRA, 2005; PELISSARO, 2012), porém mais recentemente estão sendo realizados estudos voltados a avaliar o fluxo de pólen legítimo e ilegítimo, bem como o sucesso reprodutivo de algumas espécies (BORGES, 2017; GARCÍA-ROBLEDO, 2008; SÁ et al., 2016).

1.5 Os gêneros *Psychotria* e *Palicourea*

Psychotria L. é um gênero tipicamente distílico, possuindo cerca de 1650 espécies das quais 236 ocorrem no Brasil (FLORA DO BRASIL 2020). Possui distribuição pantropical, sendo frequentemente encontrado em florestas úmidas (SOUZA, & LORENZI, 2012), e o maior número de espécies distílicas dentre os gêneros de Angiospermas (CONSOLARO, 2008; KOCH et al., 2010). Suas espécies se apresentam como arbustos ou pequenas árvores, ervas e por vezes epífitas, com flores pequenas geralmente polinizadas por moscas, abelhas ou mariposas (FURTADO, 2015), embora algumas espécies possam ser polinizadas por beija-flores (CASTRO e ARAUJO, 2004)

Psychotria carthagenensis Jacq. uma das espécies utilizadas neste estudo (Figura 1), é uma espécie endêmica do Brasil, de habito arbóreo ou arbustivo, ocorre em todos os estados brasileiros, exceto Rio Grande do Norte. Suas flores são brancas e tubulares, dispostas em inflorescências terminais, normalmente distílicas, porém há algumas descrições de populações monomórficas. Seus frutos vermelhos, quando maduros, são dispersos por aves. A época de floração pode variar dependendo da localidade, podendo ocorrer entre os meses de maio a janeiro, porém pode ocorrer em outros períodos do ano (CONSOLARO et al., 2011; FLORA DO BRASIL 2020).

Palicourea Aubl., é um gênero comum no Novo Mundo, suas espécies são em sua maioria distílicas e apresentam-se como arbustos, subarbustos ou pequenas árvores. O gênero apresenta cerca de 200 espécies das quais 74 ocorrem no Brasil sendo 26 endêmicas. No cerrado, podem ser encontradas 14 espécies distribuídas por todas as suas fitofisionomias. Suas flores de cores fortes são tubulares e polinizadas por beija-flores (CONSOLARO et al., 2009; FLORA DO BRASIL 2020).

Palicourea crocea (Sw.) Roem. & Schult., é um arbusto que ocorre em matas ciliares ou de galeria, nos estados do Acre, Amazonas, Rondônia, Roraima, Goiás, Mato grosso, Minas Gerais e no Distrito Federal (Figura 1). A espécie possui inflorescências terminais localizadas em pedúnculos flexíveis acima da folhagem, se tornando desse modo de fácil acesso para os visitantes. Suas flores são amarelo-avermelhadas o que faz com que se destaquem. Não possuem odor, os ramos da inflorescência são laranja ou vermelho, floresce entre os meses de outubro e dezembro, porém alguns indivíduos podem florescer em momentos diferentes, seus frutos tem coloração violeta-preto quando maduros (MENDONÇA e ANJOS, 2006; FLORA DO BRASIL 2020).



Figura 1: Detalhes de *Psychotriacarthenensis* e *Palicourea crocea*. A) flor brevistílca de *P. carthagenensis*, B) flor longistílca de *P. carthagenensis*, C) frutos de *P. carthagenensis*, D) inflorescência de *P. carthagenensis*. E) Inflorescência de *P. crocea*, F) flor longistílca à esquerda e flor

brevistílica direita. G) frutos imaturos de *P. crocea*, H) frutos maduros de *P. crocea*. (Imagens E a H fonte: Coelho, 2013)

Estudos relacionados à biologia floral e fluxo de pólen contribuem para a compreensão das adaptações presentes em populações de plantas (FONSECA et al., 2008) e fornecem informações sobre a interação das espécies e seus polinizadores, as quais podem ser usadas como base para estratégias de conservação. Desse modo o objetivo deste estudo é avaliar o fluxo de pólen, intra e interespecífico, em populações das espécies distílicas *Palicourea crocea* e *Psychotria carthagenensis*. Para isso, esse trabalho foi dividido em 02 capítulos. O primeiro capítulo intitulado “Distilia Em Rubiaceae: Uma Avaliação Cienciométrica”, realizou-se uma avaliação cienciométrica buscando avaliar os trabalhos já realizados para Rubiaceae relacionados à heterostilia, O segundo capítulo intitulado “Fluxo de pólen em espécies de Rubiaceae em fragmento florestal antropizado” estudou-se o fluxo de pólen entre espécies distílicas com floração sobreposta, além de seus polimorfismos florais secundários.

1.6 Referencias Bibliográficas

AGUILAR, R.; GALETTO, L. Effects of forest fragmentation on male and female reproductive success in *Cestrum parqui* (Solanaceae). **Oecologia**, v. 138, n. 4, p. 513–520, 2004.

BORGES, J. P. R. **Fluxo de pólen heteroespecífico entre espécies sincronopatricas de Psychotria L. (Rubiaceae)**. Universidade Federal de Goiás, 2017.

CARVALHO, A. C. M. **Fluxo de pólen e sementes em populações isoladas de Copaifera langsdorfii Desf. (Leguminosae - Caesalpinioideae) em um fragmento florestal localizado em área urbana**. Universidade Estadual Paulista, 2009.

CASTRO, CIBELE CARDOSO; ARAUJO, A. C. Distyly and sequential pollinators of *Psychotria nuda* (Rubiaceae) in the Atlantic rain forest, Brazil. **Plant Systematics and Evolution**, v. 244, n. 3–4, p. 131–139, 2004.

COELHO, C. P. **Sistema Reprodutivo, Distilia e Graus de Reciprocidade em Rubiaceae Arbustivas do Sub-Bosque de Formações Florestais do Cerrado**. Universidade Federal de Uberlândia, 2013.

CONSOLARO, H. et al. Distilia e homostilia em espécies de *Palicourea* Aubl. (Rubiaceae) do cerrado do Brasil central. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 32, n. 4, p. 677–689, 2009.

CONSOLARO, H. N. **A Distilia em espécies de Rubiaceae do bioma Cerrado**. Universidade de Brasília, 2008.

CONSOLARO, H.; SILVA, E. B. DA; OLIVEIRA, P. E. DE. Variação floral e biologia

reprodutiva de *Manettia cordifolia* Mart. (Rubiaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 28, n. 1, p. 85–94, 2005.

CONSOLARO, H.; SILVA, S. C. S.; OLIVEIRA, P. E. Breakdown of distyly and pin-monomorphism in *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae). **Plant Species Biology**, v. 26, n. 1, p. 24–32, 2011.

COUTINHO, L. M. O conceito de bioma. v. 20, n. 1, p. 13–23, 2006.

DARWIN, C. **The different forms of flowers on plants of the same species**. London: John Murray, 1877.

FERES, J. M. **Diversidade genética, sistema reprodutivo e fluxo de pólen em duas populações de *Tabebuia roseo-alba* (Ridl.) Sand.: Implicações para a conservação**. [s.l: s.n.].

FERRERO, V. et al. Delving into the loss of heterostyly in Rubiaceae: Is there a similar trend in tropical and non-tropical climate zones? **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 14, n. 3, p. 161–167, 2012.

FERRERO, V. Heterostilia, ¿qué sabemos hasta el momento? **Ecosistemas**, v. 23, n. 3, p. 23–30, 2014.

FLORA DO BRASIL 2020. Rubiaceae. In: JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO (Ed.). **Flora do Brasil 2020 em construção**.

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 bot. bras**, v. 22, n. 1, p. 63–69, 2008.

FURTADO, M. T. R. **A funcionalidade da distilia em *Psychotria nitidula* Cham. & Schlttdl. (Rubiaceae): O papel do polinizador na transferência de pólen**. [s.l.] Universidade de Brasília, 2015.

GANDERS, F. R. The biology of heterostyly. **New Zealand Journal of Botany**, v. 17, n. 4, p. 607–635, 1979.

GARCÍA-ROBLEDO, C. Asymmetry in pollen flow promotes gender specialization in morphs of the distylous neotropical herb *Arcytophyllum lavarum* (Rubiaceae). **Evolutionary Ecology**, v. 22, p. 743–755, 2008.

HARRIS, L. F.; JOHNSON, S. D. The consequences of habitat fragmentation for plant–pollinator mutualisms. **International Journal of Tropical Insect Science**, v. 24, n. 01, p. 29–43, 2004.

JANKE, A. **Sucesso reprodutivo, diversidade genética e fluxo de pólen de *Dyckia distachya* Hassler (Bromeliaceae) uma espécie altamente ameaçada de extinção**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2014.

KEARNS C. A.; INOUE, D. W. **Techniques for pollination biologists**. biologists. University Press of Colorado, 1993.

KEARNS, C. A.; INOUE, D. W. **Techniques for pollination biologists**. University Press of Colorado. Nwot, Colorado, 1993.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 147–155, 2005.

KOCH, A. K.; SILVA, P. C. DA; SILVA, C. A. Biologia reprodutiva de *Psychotria carthagenensis* (Rubiaceae), espécie distílica de fragmento florestal de mata ciliar, Centro-Oeste do Brasil. **Rodriguésia**, v. 61, n. 3, p. 551–558, 2010.

LOPES, D. L. **Distilia Em Faramea multiflora (L). A Rich. Em Um Fragmento Florestal No Bioma Cerrado**. Universidade Federal de Goiás., 2016.

MACHADO, A. O. **Variações Florais e Heterostilia em Palicourea rígida (Rubiaceae) nos Cerrados do Brasil Central**. Universidade Federal de Uberlândia, 2007.

MACHADO, R. B. et al. **Estimativas de perda da área do Cerrado brasileiro. Conservação Internacional do Brasil, Brasília** Brasília, 2004.

MARTÉN-RODRÍGUEZ, S. et al. Asymmetric pollen transfer and reproductive success of the hawkmoth-pollinated distylous tree *Palicourea tetragona* (Rubiaceae) at La Selva, Costa Rica. **Journal of Tropical Ecology**, v. 29, p. 501–510, 2013.

MARTINELLI, L. A. et al. A falsa dicotomia entre a preservação da vegetação natural e a produção agropecuária. **Biota Neotropica**, v. 10, n. 4, p. 323–330, 2010.

MAUÉS, M. M. Economia e polinização: custos, ameaças e alternativas. In: RECH, R. A. et al. (Eds.). **Biologia da Polinização**. Projeto Cu ed. Rio de Janeiro. p. 461–481.

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

NOVAES, P. et al. Ecological phytochemistry of Cerrado (Brazilian savanna) plants. **Phytochemistry Reviews**, v. 12, n. 4, p. 839–855, dez. 2013.

OLIVEIRA, P. E.; MARUYAMA, P. K. Sistemas Reprodutivos. In: RECH, R. A. ET AL. (Ed.). **Biologia da Polinização**. 1º ed. Rio de Janeiro. p. 71–92.

PELLISSARO, T. M. Fenologia e biologia floral de três espécies simpátricas de *Psychotria* L. (Rubiaceae) em floresta estacional em Santa Maria, RS, Brasil. p. 76, 2012.

RAMOS, M. C. **Ecologia da polinização de taperebá (*Spondias mombin* L., ANACARDIACEAE) Em área de floresta secundária no município de santo antônio do tauá, Pará, Brasil**. Universidade Federal do Pará, 2009.

RATTER, J. A.; RIBEIRO, J. F.; BRIDGEWATER, S. The Brazilian cerrado vegetation and threats to its biodiversity. **Annals of Botany**, v. 80, n. 3, p. 223–230, 1997.

RICCI, N. A. P. **A influência da morfologia e da biologia Floral no sucesso**

reprodutivo do adubo verde *Crotalaria juncea* L. (LEGUMINOSAE, PAPILIONOIDEAE). [s.l.] Universidade de São Carlos, 2017.

SÁ, T. et al. Floral biology, reciprocal herkogamy and breeding system in four *Psychotria* species (Rubiaceae) in Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 182, n. 3, p. 689–707, 1 nov. 2016.

SANTOS, I. A.; AIZEN, M.; SILVA, C. I. Conservação dos Polinizadores. In: RECH, R. A. et al. (Eds.). . **Biologia da Polinização**. Projeto Cu ed. Rio de Janeiro: [s.n.]. p. 493–524.

SILVA, C. A.; VIEIRA, M. F. Sucesso reprodutivo de espécies distílicas de *Psychotria* (RUBIACEAE) em sub-bosque de floresta atlântica. **Revista Árvore**, v. 37, p. 289–297, 2013.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III**. 3º ed ed. Nova Odessa, SP: [s.n.].

STEHMANN, J. R.; SOBRAL, M. Biodiversidade no Brasil. In: SIMÕES, CMO; SCHENKEL, EP; MELLO, J. (Ed.). . **Farmacognosia: da planta ao medicamento**. p. 1–10.

TEIXEIRA, L. A. G.; MACHADO, I. C. Biologia da polinização e sistema reprodutivo de *Psychotria barbiflora* DC. (Rubiaceae). **Acta bot. bras**, v. 18, n. 4, p. 853–862, 2004.

WHITE, G. M.; BOSCHER, D. H.; POWELL, W. Increased pollen flow counteracts fragmentation in a tropical dry forest: An example from *Swietenia humilis* Zuccarini. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, n. 4, p. 2038–2042, 2002.

WILLMER, P. **Pollination and Floral Ecology**. New Jersey.

2. OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a biologia floral e o fluxo de pólen intra e interespecífico em *Psychotria carthagenensis* e *Palicourea crocea*, espécies sincronopátricas que ocorrem em um fragmento florestal, localizado as margens do Ribeirão Paraíso, no município de Jataí-GO, uma região com forte ação antrópica e fragmentada, visando gerar conhecimento sobre a polinização e fluxo de pólen em espécies distílicas.

2.2 Objetivos específicos:

- Realizar um levantamento dos trabalhos publicados com foco na heterostilia para os gêneros *Palicourea* e *Psychotria*.
- Avaliar a morfometria floral, e as diferenças que as flores apresentam entre os morfos, bem como a presença de hercogamia e se esta ocorre de forma recíproca.
- Avaliar o diâmetro dos grãos de pólen e o dimorfismo polínico, no tamanho destes grãos.

- Avaliar o fluxo de pólen nos estigmas entre os morfos e determinar a porcentagem de fluxo de pólen legítimo e ilegítimo, além de determinar se há contaminação com pólen de outras espécies.
- Avaliar a presença de outros polimorfismos florais secundários, além do dimorfismo polínico, como papilas estigmáticas.
- Realizar a descrição anatômica dos órgãos reprodutivos das duas espécies.

3. CAPÍTULO I

DISTILIA EM RUBIACEAE: UMA AVALIAÇÃO CIENCIOMÉTRICA

Resumo: O Brasil é um país megadiverso, com grande quantidade de espécies animais e vegetais, grande parte delas endêmicas. O Cerrado é um Hotspot de biodiversidade devido seu grande percentual de endemismo e a grande porcentagem de área degradada. Rubiaceae importante família da flora do Cerrado, possui grande quantidade de espécies de importância econômica, além de suas espécies apresentarem a distília como mecanismo para otimização do fluxo de pólen legítimo. Avaliações cienciométricas sobre trabalhos realizados para a família com foco na distília demonstraram que apesar da grande quantidade de espécies poucos estudos foram realizados. Com relação às espécies *P. crocea* e *P. carthagenensis* foi observado que demais trabalhos devem ser incentivados, em especial para *P. crocea* que possui potencial para ser usada como inseticida botânico contra o mofo branco.

Palavras-chave: Cienciométrica, Rubiaceae, Heterostília

Abstract: Brazil is a megadiverse country, with a large number of animal and plant species, most of them endemic. The Cerrado is a biodiversity hotspot due to its large percentage of endemism and the large percentage of degraded area. Rubiaceae, an important family of the Cerrado flora, has a large number of species of economic importance, besides its species presented dysthily as a mechanism for optimizing the flow of pollen. Scientometric evaluations of family studies focusing on dystilia have shown that despite the large number of species, few studies have been conducted. Regarding the species *P. crocea* and *P. carthagenensis* it was observed that further work should be encouraged, especially for *P. crocea* which has the potential to be used as a botanical insecticide against white mold.

Keywords: Sciencimetry, Rubiaceae, Heterostily

3.1 Introdução

A maior parte da biodiversidade mundial é encontrada em uma pequena área no planeta, e alguns destes locais são classificados como *hotspots* de biodiversidade, ou seja, regiões com grande riqueza de espécies sendo a maioria delas endêmicas associadas a grandes índices de destruição do *habitat* (ALEIXO et al., 2010; JENKINS; PIMM, 2006; SANTOS; AIZEN; SILVA, 2014).

O Brasil é um país megadiverso, com uma riqueza de espécies animais e vegetais. Possui cerca de 35 mil espécies de plantas registradas (STEHMANN; SOBRAL, 2017), representando 19% da biodiversidade mundial (GIULIETTI et al., 2005). As Angiospermas é o grupo mais diverso, com 32 mil espécies registradas, das quais 19 mil são endêmicas. (STEHMANN; SOBRAL, 2017). Dos biomas brasileiros, dois são considerados *hotspots* devido ao seu alto índice de degradação e quantidade de espécies endêmicas, sendo eles a Mata Atlântica e o Cerrado (MYERS et al., 2000).

Em locais onde há equilíbrio entre as espécies, todos obtêm alguma vantagem nesta interação. Por outro lado, caso haja algum desequilíbrio e alguma das espécies seja prejudicada tendo sua população reduzida, ou ficando isoladas de seus visitantes, todas as outras serão afetadas negativamente (KEARNS; INOUE, 1993).

O fluxo de pólen é uma das importantes interações, e quando ocorre de maneira legítima contribui para que haja maior diversidade genética na população. Desse modo, caso ocorram mudanças no ambiente existe uma maior chance de que alguns dos indivíduos possuam tolerância a estas alterações, e assim a população permaneça, sem sofrer um declínio, ou até mesmo a extinção (KEARNS; INOUE, 1993).

Uma das famílias botânicas mais importantes para o Cerrado é Rubiaceae Juss. a quarta mais rica do Brasil, sendo representada por mais de 1500 espécies (FERRERO et al., 2012), que ocorrem em todo o território nacional, das quais aproximadamente 376 ocorrem no Cerrado (CONSOLARO, 2008) e 732 são endêmicas para o país (FLORA DO BRASIL 2020). Possui os mais diversos hábitos variando desde árvores, arbustos, subarbustos, ervas ou lianas. Suas flores normalmente bissexuadas ocorrem em inflorescências (SOUZA e LORENZI, 2012).

Uma característica presente na maioria das espécies de Rubiaceae é a heterostilia, polimorfismo floral geneticamente controlado, (MENDONÇA; ANJOS, 2006) que possui como característica principal, a presença de dois (distilia) ou três (tristilia) morfos compostos por indivíduos com peças reprodutivas hercogâmicas, e recíprocas, ou seja, o gineceu e o androceu estão localizados em alturas diferentes dentro da mesma flor. Estas alturas são recíprocas entre os morfos, característica que favorece a polinização cruzada e o fluxo de pólen legítimo, ou seja, entre indivíduos diferentes. A distilia é a forma mais comum de heterostilia (COELHO; RECH; SANTANA, 2014; GANDERS, 1979).

Estudos sobre estas importantes interações entre espécies permitem que se descubra como uma população está respondendo às mudanças ambientais sofridas no local e como estas alterações estão interferindo na relação com as demais espécies coexistentes. A comparação entre estudos com as mesmas espécies em diferentes locais, tanto fragmentados como conservados é fundamental para que se conheça, como cada local e população estão sendo afetados (KEARNS; INOUE, 1993).

As avaliações de estudos preexistentes podem ser feitas por meio de revisões bibliográficas ou cienciométricas, sendo que esta última busca avaliar as características quantitativas a respeito de uma área da ciência, usando como fonte de dados trabalhos já publicados. Com esta ferramenta de avaliação, é possível analisar tendências entre quantidades de trabalhos publicados sobre determinado assunto e uma área específica de

conhecimento, bem como as interações entre autores e instituições, avaliar as citações dos trabalhos, possíveis lacunas existentes, pontos em comum entre os estudos existentes, dentre outros (MACIAS-CHAPULA, 1998).

Estudos relacionados a biologia floral e sistema reprodutivo de espécies botânicas, revelam informações pertinentes sobre o sucesso reprodutivo e a interação que ocorre entre a planta e seus polinizadores. Sendo Rubiaceae a família com mais representantes distílicos e tendo a distilia como uma característica que visa aperfeiçoar essa interação planta-polinizador (CONSOLARO, 2008), o presente estudo tem como objetivo realizar um levantamento e avaliação dos trabalhos publicados relacionados ao tema, que tenham como foco espécies pertencentes a família.

3.2 Metodologia

Foi realizado um levantamento bibliográfico em três bases de dados: Scielo (<https://www.scielo.org/>), Scopus (<https://www.scopus.com/home.uri>) e *Web of Science* (www.isiknowledge.com). A busca por artigos foi realizada a partir dos termos *Distyly+Rubiaceae*, *Distyly+Palicourea* e *Distyly+Psychotria*. Para avaliações dos trabalhos relacionados às espécies utilizadas neste trabalho foram realizadas buscas utilizando-se o nome científico das espécies (*Psychotria carthagenensis* e *Palicourea crocea*) (BENVINDO-SOUZA et al., 2017).

Não houve restrição quanto ao ano de publicação ou país de origem a fim de garantir a identificação do maior número de artigos possíveis. Todos os artigos que continham as palavras chave usadas na busca em qualquer um dos campos foram selecionados para posterior leitura. Trabalhos de revisão não foram utilizados, bem como aqueles em que as análises não tinham relação com a heterostilia e biologia floral ou reprodutiva.

Para os trabalhos selecionados usando as palavras-chave Rubiaceae+Distyly, foram analisadas as variáveis: (i) ano de publicação, (ii) local do estudo, (iii) espécie(s) utilizada(s), e para os trabalhos selecionados usando as palavras chave *Distyly+Palicourea* ou *Distyly+Psychotria* além das variáveis citadas anteriormente foram acrescentadas: (iv) visitantes florais e (v) a presença de monomorfismo.

Foi utilizado o índice de correlação de Pearson ($P < 0,05$) para avaliar a correlação entre o número de artigos publicados e o ano de publicação, nesta avaliação os valores variam entre -1 e 1 sendo $r=1$ uma correlação positiva perfeita, $r=-1$ uma correlação negativa perfeita e $r=0$ uma correlação nula, ou seja não existe correlação.

3.3 Resultados e Discussão

3.3.1 Análise geral sobre a distilia

Foram encontrados 59 trabalhos, publicados entre os anos de 1990 a 2018 que possuíam relação com o objetivo do estudo. As análises foram realizadas em 12 países diferentes, sendo 24 deles realizados no Brasil (Figura 2). Foi observada a presença de uma correlação fraca entre o ano de publicação e o número de artigos publicados tanto avaliando todos os países ($r=0.355876$), como aqueles publicados no Brasil ($r=-0.19435$).

As espécies utilizadas em trabalhos nacionais foram avaliadas quanto ao nível de ameaça por meio de consultas no site do Jardim Botânico - Flora do Brasil 2020 (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br>). Das 30 espécies analisadas, 26 estavam classificadas como NE – não especificado, representando 86% das espécies, 2 estão classificadas como LC – pouco preocupante (7%), e 2 como VU – vulnerável (7%).

Tais resultados demonstram a necessidade da realização de novos estudos para aumentar o conhecimento sobre a flora brasileira. A crescente expansão agrícola e degradação da paisagem natural, pode levar a perda de espécies com potencial econômico e biotecnológico, além de possíveis espécies prioritárias para a conservação. Com a avaliação do nível de ameaça destas espécies, programas ou estratégias de conservação podem ser traçados, para que estas espécies sejam preservadas.

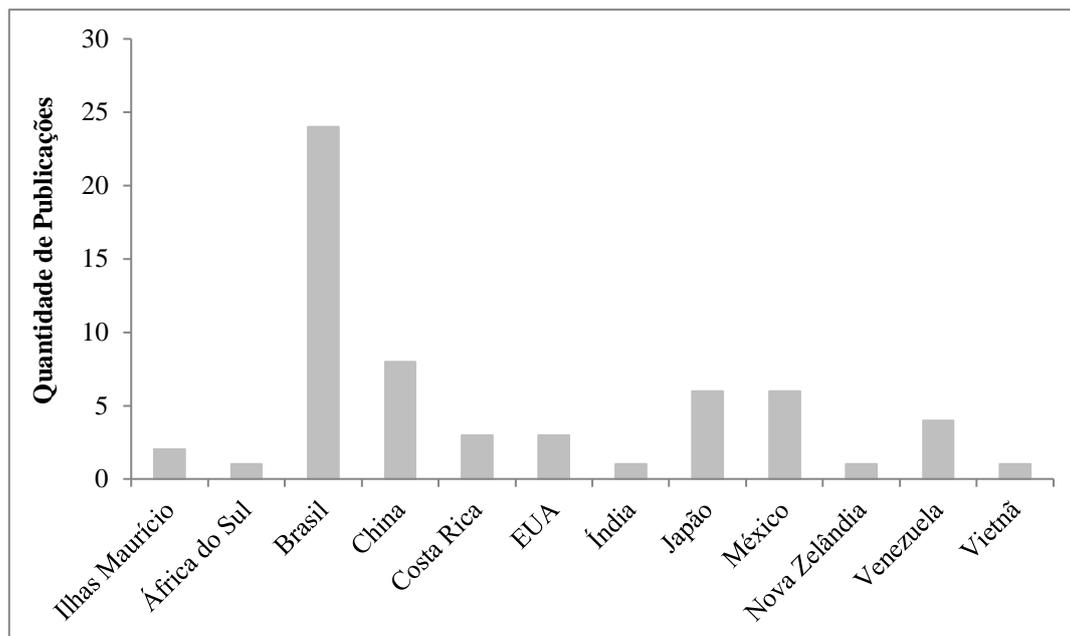


Figura 2: Relação entre quantidade de trabalhos publicados e país onde os estudos foram desenvolvidos. Resultados encontrados nas buscas realizadas nas bases de dados Scielo, Scopus e Web of Science. As palavras-chave utilizadas foram *Rubiaceae+Distyly*, sendo que os resultados estão expostos na forma de números de artigos publicados entre os anos de 1990 e 2018.

Em relação aos visitantes florais dos gêneros *Palicourea* e *Psychotria*, a maior parte deles pertencia a classe Insecta, distribuídos nas ordens Hymenoptera 34%, Lepidoptera 31%, Diptera 8%, Coleoptera 2%, Thysanoptera 2%, Hemiptera 2%. Os demais visitantes pertenciam a classe das Aves, 19% Apodiformes e 2% Passeriformes (Figura 3). Tais resultados são esperados, visto que estudos anteriores relataram que as flores dos gêneros avaliados normalmente são polinizadas por abelhas, mariposas e/ou beija-flores (CASTRO e ARAUJO, 2004; CONSOLARO e colab., 2011; FURTADO, 2015).

Finalmente, para a avaliação da presença de monomorfismo, das populações estudadas, 87% possuíam dois morfos, 9% eram monomórficas e 4% homostílicas, ou seja, anteras e estigma na mesma altura. Tais alterações presentes nestas populações podem estar relacionadas a variações no mecanismo de distilia, consequência de alterações no supergene que controla o polimorfismo (FURTADO, 2015; GANDERS, 1979). A quebra no mecanismo de autoincompatibilidade permite a reprodução entre morfos iguais, o que pode aumentar a frequência de um dos morfos na população. O fluxo de pólen assimétrico também pode influenciar no sucesso reprodutivo de algum dos morfos em relação ao outro, levando, com o tempo, a populações monomórficas

(CONSOLARO et al., 2009). Populações reduzidas ou isoladas, em locais antropizados, e reprodução vegetativa são fatores que podem contribuir para variações nas características da distília (CONSOLARO et al., 2009; GANDERS, 1979).

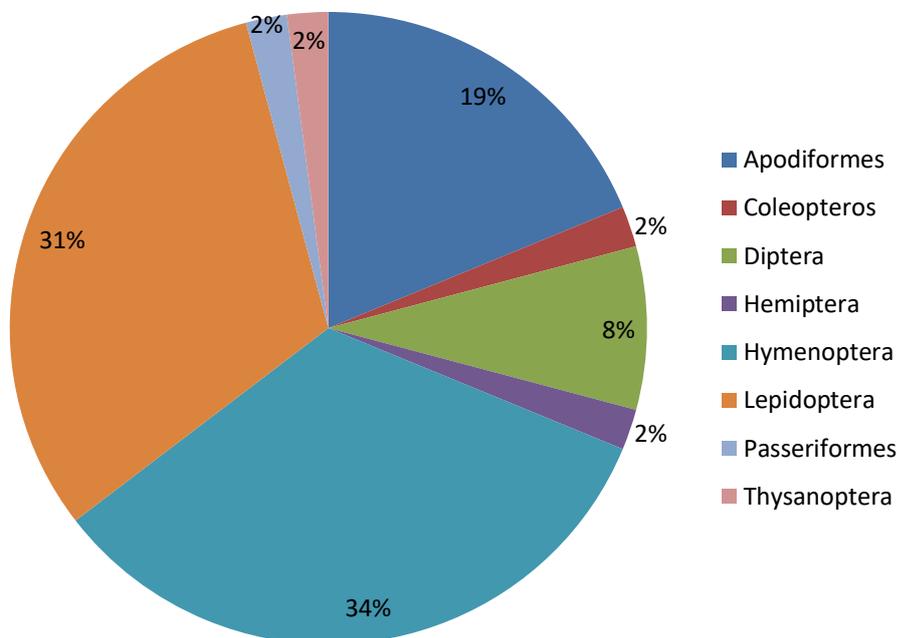


Figura 3: Relação entre os visitantes florais dos gêneros *Palicourea* e *Psychotria*.

3.3.2 *Psychotria carthagenensis* e *Palicourea crocea*

Para *P. carthagenensis* foram encontrados 12 trabalhos realizados entre 1996 e 2016, com foco principalmente na biologia reprodutiva e fenologia da espécie (50%), o segundo tema mais frequente é relacionado à caracterização estrutural da espécie (25%), fitoquímica e fitofarmacologia (17%) e genética (8%). Um trabalho foi realizado na Argentina e os demais no Brasil. Para *P. crocea*, foram encontrados oito trabalhos realizados, entre os anos de 2004 e 2017, a maioria relacionados a fitoquímica (67%), e os demais nas áreas de biologia floral, biologia reprodutiva, e etnofarmacologia, (12,3%). Sete dos trabalhos foram realizados em instituições nacionais, um foi realizado na Áustria e um em Trinidad e Tobago.

Entre os estudos encontrados foi possível observar uma correlação positiva ($r=0.7594$) entre o número de artigos publicados e o ano de publicação para *P. crocea*, porém o mesmo não pode ser dito de *P. carthagenensis* ($r=0,1844$).

3.3.3 Características das espécies

Psychotria carthagenensis é um arbusto com 1 a 3 metros de altura, com folhas simples e opostas que apresentam estípulas apicais lanceoladas, inflorescências terminais e flores brancas, distílicas, gamopétalas com simetria radial, que medem aproximadamente 0,34 cm e apresentam um anel de tricomas no interior do tubo e um disco nectarífero. Seus frutos são drupas de coloração vermelha quando maduros (CONSOLARO; SILVA; OLIVEIRA, 2011; KOCH; SILVA; SILVA, 2010; VITARELLI; SANTOS, 2009).

Palicourea crocea é uma espécie de hábito arbustivo, com flores hermafroditas, distílicas, amarelas avermelhadas, pentâmeras, gamossépalas, com cinco estames epipétalos, estigma bífido e ovário ínfero, bilocular e bicarpelar (COSTA; MACHADO, 2017). A floração ocorre no período de chuva, podendo ocasionalmente ocorrer em outros momentos. Suas flores ocorrem em inflorescências terminais com ramos laranja ou vermelho, dispostas em pedúnculos dispostos acima da folhagem com ± 25 flores por inflorescência. Seus frutos são de cor violeta ou pretos quando maduros (COSTA; MACHADO, 2017; MENDONÇA; ANJOS, 2006). Apesar de ser uma espécie distílica, algumas populações podem ser monomórficas (COSTA; MACHADO, 2017).

Como citado acima, a maioria dos trabalhos encontrados para *Palicourea crocea* foram relacionados a fitoquímica e fitofarmacologia, visto que o gênero *Palicourea* é conhecido por sua ação tóxica em relação aos animais. A espécie conhecida como douradinha, douradão ou douradão-do-campo é usada na medicina popular, por populações ribeirinhas para diversos tratamentos, como para infecções em geral, alterações cardiovasculares, sensação de fraqueza e até mesmo urticária (RIBEIRO et al., 2017).

A espécie possui ação antifúngica como observado por Zanella et al. (2015), onde extratos das folhas de *P. crocea* tiveram ação sobre a germinação carpogênica de *Sclerotinia sclerotiorum*, um fungo de grande importância econômica, visto que causa a patologia conhecida como mofo branco, ou podridão branca que afeta espécies importantes para o agronegócio como a soja, e é de difícil erradicação, visto sua estrutura resistente (GOULART, 1997).

3.4 Conclusão

Considerando a família Rubiaceae como a que possui maior quantidade de espécies distílicas e sua importância como uma das maiores dentre as Angiospermas, poucos artigos relacionados a heterostilia foram encontrados nas bases de dados utilizadas. A quantidade de estudos relacionados à fitoquímica utilizando *P. crocea*, juntamente com o crescimento no número de trabalhos realizados, demonstra que há um possível potencial econômico da espécie. Apesar da correlação positiva, o número de trabalhos encontrados foi baixo, espera-se então que mais estudos sejam realizados. O mesmo pode-se esperar para *P. carthagenensis*, principalmente com estudos relacionados aos possíveis compostos químicos presentes em seus extratos. De um modo geral esta avaliação demonstrou que tanto em nível de espécies como em relação a toda a família Rubiaceae, mais estudos são necessários para que se possa conhecer melhor sobre sua biologia.

Dados os resultados encontrados nos estudos sobre os potenciais químicos e farmacológicos das espécies utilizadas neste trabalho, novos estudos deveriam ser incentivados, para que haja maior investigação sobre o uso de seus extratos na agricultura como inseticida botânico ou como medicamento. Estudos sobre sua biologia reprodutiva tem igual importância, visto que como espécies distílicas, necessitam de fluxo de pólen simétrico para sua reprodução e manutenção de suas populações.

Como citado anteriormente, a maior parte das espécies não estava classificada quanto ao seu nível de ameaça. Tal avaliação é importante tanto para as espécies de Rubiaceae como para outras famílias para que possa se conhecer como estas espécies se distribuem no ambiente.

Baseado nas informações sobre as espécies dos gêneros avaliados neste trabalho, estudos que avaliem sua real ação como inseticidas botânicos, bem como seus efeitos medicinais devem ser incentivados.

3.5 Referências Bibliográficas

ALEIXO, A. et al. Mudanças Climáticas e a Biodiversidade dos Biomas Brasileiros: Passado, Presente e Futuro. **Natureza e Conservação**, v. 8, n. 2, p. 194–196, 2010.

BENVINDO-SOUZA, M. et al. The micronucleus test for the oral mucosa: global trends and new questions. **Environmental Science and Pollution Research**, v. 24, n. 36, p. 27724–27730, 19 dez. 2017.

CASTRO, CIBELE CARDOSO; ARAUJO, A. C. Distyly and sequential pollinators of *Psychotria nuda* (Rubiaceae) in the Atlantic rain forest, Brazil. **Plant Systematics and Evolution**, v. 244, n. 3–4, p. 131–139, 2004.

COELHO, C. P.; RECH, R. A.; SANTANA, V. Biologia floral e visitantes de *Cordia nodosa*: uma espécie com dimorfismo estilar na Amazônia. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi.**, v. 9, n. 3, p. 481–490, 2014.

CONSOLARO, H. et al. Distilia e homostilia em espécies de *Palicourea* Aubl. (Rubiaceae) do cerrado do Brasil central. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 32, n. 4, p. 677–689, 2009.

CONSOLARO, H. N. **A Distilia em espécies de Rubiaceae do bioma Cerrado.** Universidade de Brasília, 2008.

CONSOLARO, H.; SILVA, S. C. S.; OLIVEIRA, P. E. Breakdown of distyly and pin-monomorphism in *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae). **Plant Species Biology**, v. 26, n. 1, p. 24–32, 2011.

COSTA, A. C. G.; MACHADO, I. C. Pin-monomorphism in *Palicourea crocea* (SW.) Roem. & Schult. (Rubiaceae): reproductive traits and role of floral visitors. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 40, n. 4, p. 1063–1070, 2017.

FERRERO, V. et al. Delving into the loss of heterostyly in Rubiaceae: Is there a similar trend in tropical and non-tropical climate zones? **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 14, n. 3, p. 161–167, 2012.

FURTADO, M. T. R. **A funcionalidade da distilia em *Psychotria nitidula* Cham. & Schtdl. (Rubiaceae): O papel do polinizador na transferencia de pólen.** Universidade de Brasília, 2015.

GANDERS, F. R. The biology of heterostyly. **New Zealand Journal of Botany**, v. 17, n. 4, p. 607–635, 1979.

GIULIETTI, A. M. et al. Biodiversidade e conservação das plantas no Brasil. **Megadiversidade**, v. 1, p. 52–61, 2005.

GOULART, A. C. P. Fungos em sementes de soja: detecção e importância. **EMBRAPA-CPAO**, p. 58, 1997.

JENKINS, C. N.; PIMM, S. L. Definindo prioridades de conservação em um *Hotspot* de Biodiversidade Global. In: ROCHA, CF.D .; BERGALLO, HG; VA SLUYS, M. & ALVES, M. (Ed.). . **Biologia da Conservação: Essências**. RiMA ed. São Carlos: p. 41–52.

KEARNS, C. A.; INOUE, D. W. **Techniques for pollination biologists**. University Press of Colorado. Nwot, Colorado, 1993.

KOCH, A. K.; SILVA, P. C. DA; SILVA, C. A. Biologia reprodutiva de *Psychotria carthagenensis* (Rubiaceae), espécie distílica de fragmento florestal de mata ciliar , Centro-Oeste do Brasil. **Rodriguésia**, v. 61, n. 3, p. 551–558, 2010.

MACIAS-CHAPULA, C. A. O papel da informetria e da cienciometria e sua perspectiva nacional e internacional. **Ciência da Informação**, v. 27, n. 2, p. 134–140, 1998.

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

MYERS, N. et al. Biodiversity hotspots for conservation priorities. **Nature**, v. 403, n. 6772, p. 853–858, 2000.

RIBEIRO, R. V. et al. Ethnobotanical study of medicinal plants used by Ribeirinhos in the North Araguaia microregion, Mato Grosso, Brazil. v. 205, p. 69–102, 2017.

SANTOS, I. A.; AIZEN, M.; SILVA, C. I. Conservação dos Polinizadores. In: RECH, R. A. et al. (Eds.). . **Biologia da Polinização**. Projeto Cu ed. Rio de Janeiro: [s.n.]. p. 493–524.

SOUZA, V. C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para**

identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III. 3º ed ed. Nova Odessa, SP: [s.n.].

STEHMANN, J. R.; SOBRAL, M. Biodiversidade no Brasil. In: SIMÕES, CMO; SCHENKEL, EP; MELLO, J. (Ed.). . **Farmacognosia: da planta ao medicamento.** [s.l: s.n.]. p. 1–10.

STRASSBURG, B. B. N. et al. Moment of truth for the Cerrado hotspot. **Nature Ecology and Evolution**, v. 1, n. 4, p. 1–3, 2017.

VITARELLI, N. C.; SANTOS, M. Anatomia de estípulas e coléteres de *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 23, n. 4, p. 923–928, 2009.

ZANELLA, C. DE S. et al. Atividade de óleos e extratos vegetais sobre germinação carpopôgica e crescimento micelial de *Sclerotinia sclerotiorum*. **Arquivos do Instituto Biológico**, v. 82, n. 0, 28 abr. 2015.

4. CAPÍTULO II

FLUXO DE PÓLEN EM ESPÉCIES DE RUBIACEAE EM FRAGMENTO FLORESTAL ANTROPIZADO

Resumo: Rubiaceae é uma importante família da flora brasileira, possui grande quantidade de espécies de importância econômica e ainda a maior quantidade de espécies distílicas dentre as Angiospermas. *P. crocea* e *P. carthagenensis*, espécies que normalmente ocorrem nos mesmos ambientes e possuem época de floração sobrepostas são espécies distílicas pertencentes a Rubiaceae, e foram utilizadas neste estudo. Foram avaliados caracteres distílicos como morfometria floral, hercogamia recíproca e polimorfismos secundários para as duas espécies. Foi observado a presença de dois morfos florais nas duas populações de plantas, porém com grande variação na altura das anteras e estigmas o que pode levar a contaminação com pólen de outros morfos ou espécies, como também foi observado na avaliação dos estigmas. Os grãos de pólen foram maiores para o morfo brevistílico para ambas as espécies. Avaliações anatômicas demonstraram que ambas as espécies possuem estrutura semelhante, com anteras tetrasporangeadas e presença de tricomas nas pétalas.

Palavras-chave: Fluxo de pólen, Distília, Rubiaceae

Abstract: Rubiaceae is an important family of Brazilian flora, has a large number of species of economic importance and still the largest amount of distillery species among the Angiosperms. *P. crocea* and *P. carthagenensis*, species that normally occur in the same environments and have overlapping flowering time, are distillic species belonging to Rubiaceae, and were used in this study. Distillic characteristics such as floral morphometry, reciprocal herkogamy and secondary polymorphisms for both species were evaluated. It was observed the presence of two floral morphs in both plant populations, nevertheless with great variation in the anthers and stigmas height which can lead to pollen contamination of other morphs or species, as was also observed in the evaluation of the stigmas. Pollen grains were larger for brevistilic morphum for both species. Anatomical evaluations showed that both species have similar structure, with tetrasporangated anthers and presence of trichomes in the petals.

Keywords: Pollen flow, Dysthily, Rubiaceae

4.1 Introdução

A heterostilia é um polimorfismo floral geneticamente controlado, onde as estruturas reprodutivas são hercogâmicas, ou seja, estigmas e anteras estão dispostos em alturas diferentes, além disso, essa hercogamia ocorre de forma recíproca entre os morfos, característica que visa otimizar o fluxo de pólen e a reprodução cruzada. A distilia é a forma mais comum de heterostilia, presente em cerca de 26 famílias. Nela as populações apresentam dois morfos florais, um brevistílico e um longistílico (COELHO, 2013; GANDERS, 1979).

As posições diferentes entre os órgãos reprodutivos dentro da mesma flor permitem que os grãos de pólen sejam depositados em locais específicos no corpo dos polinizadores, devido à hercogamia recíproca, a posição de deposição dos grãos de pólen pelas anteras de um morfo é recíproca a altura do estigma do outro morfo, otimizando o fluxo de pólen legítimo, ou seja, entre indivíduos diferentes (GANDERS, 1979; SÁ et al., 2016). Quando a altura das estruturas reprodutivas não é recíproca, podem ocorrer contaminações ou perda dos grãos, pois estes não serão depositados nos estigmas recíprocos.

Espécies distílicas normalmente possuem um sistema de autoincompatibilidade heteromorfo, só ocorrendo produção de frutos por meio de polinização legítima, e polimorfismos secundários como, por exemplo, tamanho e ornamentação dos grãos de pólen, tamanho da corola, morfologia das papilas estigmáticas e tamanho dos estigmas (COELHO; RECH; SANTANA, 2014; CONSOLARO, 2008; GANDERS, 1979).

Psychotria um gênero pantropical da família Rubiaceae, que apresenta hábito arbustivo ou pequenas árvores, com flores pequenas geralmente polinizadas por insetos e em alguns casos por beija-flores (FURTADO, 2015). Esse gênero Possui o maior número de espécies distílicas dentre os gêneros de Angiospermas (CONSOLARO, 2008; KOCH et al., 2010). Além desse, *Palicourea* é um gênero neotropical que pode se apresentar também como arbustos ou pequenas árvores, no qual, praticamente todas as espécies de são distílicas. Comumente é possível observar espécies dos dois gêneros no mesmo ambiente (CONSOLARO et al., 2009).

Estudos sobre as interações que ocorrem entre diferentes espécies é importante para evidenciar possíveis alterações e efeitos negativos que possam estar ocorrendo no local.

4.2 Objetivos

O presente trabalho teve o objetivo de avaliar:

4.2.1 As variações morfológicas das flores de duas espécies de Rubiaceae em um fragmento florestal antropizado, a fim de observar as possíveis variações sobre a hercogamia recíproca.

4.2.2 O fluxo de pólen nos estigmas, com avaliação do fluxo de pólen legítimo (entre morfos diferentes) e ilegítimo (entre morfos iguais), além da presença de contaminação com pólen de outras espécies.

4.2.3 Polimorfismos florais secundários como o dimorfismo polínico entre os morfos, e a morfologia das papilas estigmáticas.

4.2.4 Avaliação dos caracteres anatômicos das flores com foco nas possíveis variações na morfologia dos estigmas e anteras.

4.3 Material e Métodos

4.3.1 *Local do Estudo:*

O estudo foi realizado em um fragmento florestal antropizado, as margens do Ribeirão Paraíso, na BR 158, no município de Jataí-GO, próximo ao perímetro urbano. Na região está instalada uma olaria, e a atividade de retirada do barro para a produção de tijolos que provoca grande impacto, formando grandes buracos que dividem partes das populações vegetais existentes.

4.3.2 *Espécies Estudadas:*

Para este trabalho foram estudadas as espécies *Palicourea crocea* Sw. Roem. & Schult e *Psychotria carthagenensis* Jacq., duas espécies pertencentes à família Rubiaceae que ocorrem no fragmento e tem a época de floração sobreposta. As coletas das flores foram realizadas entre os meses de setembro e dezembro, época de floração sobreposta das duas espécies.

4.3.3 *Morfometria floral:*

Com o objetivo de avaliar a distília nas espécies estudadas, foram coletadas 50 flores abertas de 10 indivíduos de cada morfo para cada espécie. As flores foram conservadas em álcool 70% e posteriormente, com o auxílio de um paquímetro digital foram aferidas as seguintes medidas: Comprimento da corola, comprimento do estigma, comprimento da antera, altura do estigma e altura das anteras. Os valores foram avaliados com o programa Bioestat (teste T e Teste U de Man-Whitney-Kruskal-Wallis) para avaliar a presença de diferenças significativas entre os morfos.

4.3.4 *Hercogamia Recíproca:*

Para avaliar a presença de hercogamia recíproca nas espécies estudadas foram utilizados os índices de reciprocidade relativa. O primeiro, de Richards e Koptur (1993), avalia a reciprocidade entre as anteras do morfo brevistílico e o estigma do morfo longistílico (estruturas reprodutivas altas), e entre as anteras do morfo longistílico e o estigma do morfo brevistílico (estruturas reprodutivas baixas), onde os valores vão entre 1 e -1, sendo zero a hercogamia perfeita, e valores entre 0,05 e -0,05 é considerado presença de hercogamia recíproca. O segundo, o índice de Sanchez *et al.*(2013) que avalia a reciprocidade da população como um todo, não diferenciando a altura das

peças, onde os resultados iguais ou maiores que 0,95 considera-se hercogamia recíproca.

4.3.5 *Dimorfismo Polínico:*

A fim de identificar as diferenças no tamanho dos grãos de pólen produzidos por cada morfo, foram coletados três botões florais, de 10 indivíduos de cada morfo para cada espécie. Os botões florais foram armazenados em álcool 70%, e deles retiradas as anteras, as quais foram maceradas. Para uma melhor visualização dos grãos de pólen foram confeccionadas lâminas com gel de fucsina. Em seguida, as lâminas foram avaliadas em fotomicroscópio, onde foram realizadas fotomicrografias para posterior avaliação (FURTADO, 2015).

Com o auxílio do programa Image J as fotomicrografias foram avaliadas e delas contados 50 grãos de pólen em cada lâmina, totalizando 1500 grãos de pólen por morfo (FURTADO, 2015). Os resultados foram avaliados estatisticamente usando-se o Teste U de Man-Whitney-Kruskal-Wallis por meio do programa Bioestat versão 5,0. Os grãos de pólen de cada morfo foram separados em classes de acordo com seu diâmetro, e aqueles cujas medidas se sobrepuseram foram excluídos das análises (FURTADO, 2015).

4.3.6 *Fluxo de pólen:*

Ao todo foram coletadas 30 flores abertas de 10 indivíduos de cada morfo para cada espécie. Das flores foram retirados os estigmas e confeccionadas lâminas com gel de fucsina, as quais foram analisadas em microscópio óptico com ferramenta de captura de imagem e realizadas fotomicrografias. Depois de realizada a identificação dos grãos de pólen de cada morfo, novamente com o auxílio do programa Image J os grãos de pólen, presentes no estigma, foram medidos e classificados de acordo com seu diâmetro e possível morfo de origem (FURTADO, 2015).

4.3.7 *Morfologia das papilas estigmáticas:*

Para avaliar as diferenças nas papilas estigmáticas entre os morfos, foram utilizados 10 estigmas retirados de flores previamente coletadas para a confecção de lâminas com duas gotas de água deionizada, tomando cuidado para não pressionar a lâmina a ponto de causar danos a estrutura. As lâminas foram avaliadas em

fotomicroscópio, realizando a descrição das características básicas das papilas estigmáticas. Todas as fotomicrografias foram realizadas no Laboratório de Morfofisiologia da Universidade Federal de Jataí.

4.3.8 Avaliação anatômica dos caracteres florais:

Foram coletadas flores abertas das duas espécies utilizadas no estudo e armazenadas em álcool 70%. Para a montagem das laminas o material foi desidratado e as amostras foram submetidas à solução de infiltração (1:1) 50% de etanol 100% e 50% de resina base ativada (Historesina Leica, seguindo as instruções do fabricante) por uma semana (MEIRA; MARTINS, 2003).

Em seguida as amostras foram emblocadas em moldes de plástico com solução de inclusão (16 ml de resina base ativada + 01 ml de endurecedor). Os blocos foram seccionados com o auxílio de um micrótomo rotativo de avanço automático (RM 2235 – Leica) com navalhas de aço descartáveis (MEIRA; MARTINS, 2003). Os cortes foram corados com azul de toluidina e após a montagem das laminas foram observados em fotomicroscópio.

4.4 Resultados e Discussão

4.4.1 Local do Estudo:

A cidade de Jataí encontra-se na Microrregião do Sudoeste Goiano, e possui clima tropical, classificado como AW, com duas estações bem definidas, apresentando um verão quente e chuvoso com as chuvas iniciando em outubro até maio e um inverno seco e frio, ocorrendo seca nos demais meses do ano (NEIS e colab., 2006; SOUZA e colab., 2007).

O fragmento florestal onde o estudo foi realizado está localizado as margens do Ribeirão Paraíso (17°48'17.9"S 51°47'35.2"W) (Figura 4). No local está instalada uma olaria, e a retirada do barro leva a formação de grandes cavas (buracos) que causam isolamento de pequenos grupos de plantas, além de acumular água durante as chuvas.

Na região há grande fluxo de pessoas, veículos pesados como tratores, além da presença de animais domésticos. O local também é frequentado por pescadores que jogam lixo as margens do rio e ao longo das trilhas formadas pelos trabalhadores. A recente construção de residências agravou a situação do lixo devido ao descarte de materiais, realizado sem nenhum cuidado (Figura 5).

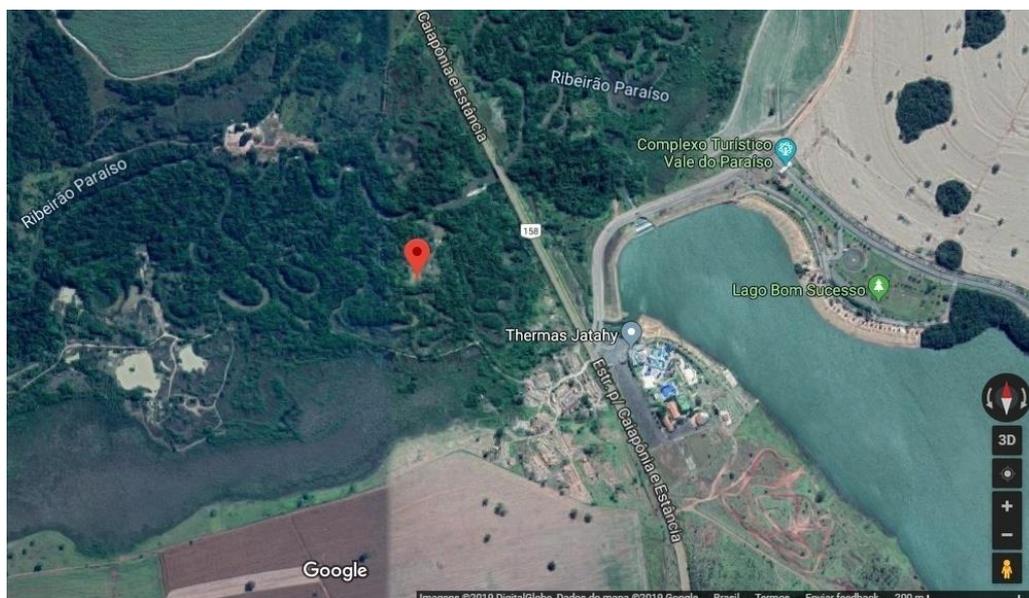


Figura 4: Vista de satélite do local onde foi realizado o estudo. Fragmento florestal próximo ao Ribeirão Paraiso, (17°48'17.9"S 51°47'35.2"W). Fonte: Google Earth.

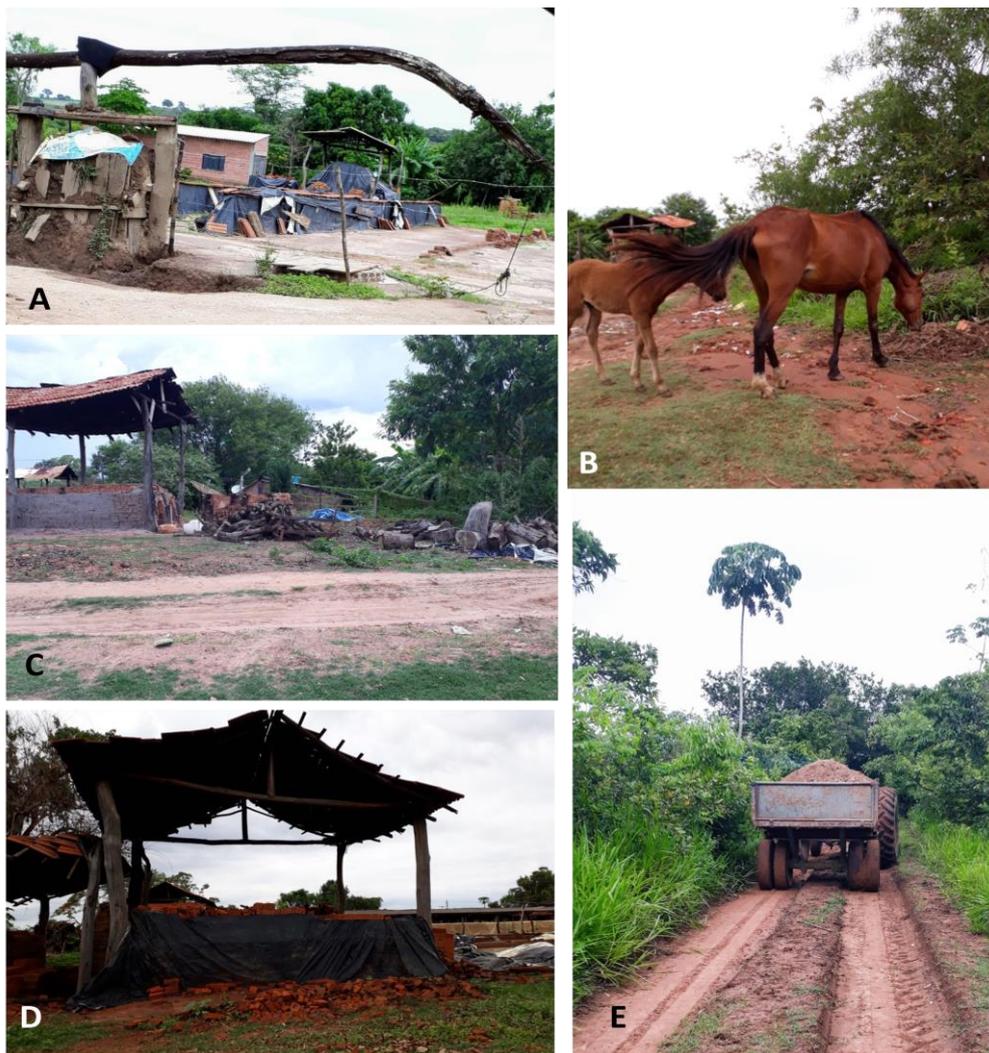


Figura 5: Visão do local onde foram realizadas as coletas. Instalações pertencentes à olaria (A, C, D), fluxo de animais (B) e veículos pesados (E).

4.2 Morfometria floral

P. carthagenensis é um arbusto de até 3 metros de altura, suas folhas são simples e opostas. Suas flores estão dispostas em inflorescências terminais, gamopétalas e normalmente distílicas. Possui corola campanulada de coloração branca, com um anel de tricomas no seu interior, estigma bifido, ovário ínfero e cinco estames epipétalos. *P. crocea* também com habito arbustivo possui flores amarelo-avermelhadas sem odor, dispostas em inflorescências em ramos laranjas, também possui estigma bifido, ovário ínfero e cinco estames epipétalos.

O tamanho médio das flores longistilas de *P. carthagenensis* foi de $5,25 \pm 0,52$ mm, valor que diferiu estatisticamente do tamanho das flores brevistilas que

foi de $4,82\pm 0,43$ mm. Já o tamanho do pistilo para as flores longistilas foi de $7,60\pm 0,64$ mm, enquanto para as flores brevistilas foi de $4,57\pm 0,96$ mm valores que também são estatisticamente diferentes, o que se repetiu para os valores de altura das anteras que para as flores longistilas foi de $4,83\pm 0,46$ mm e para as flores brevistilas de $6,57\pm 0,49$ mm. Além disso, foram observadas diferenças significativas entre o comprimento do estigma dos dois morfos, porém, o comprimento das anteras não apresentaram diferenças estatísticas significativas.

Foi observada que existe uma correlação entre a altura dos estigmas e o comprimento da corola ($r=0,6521$), o que também ocorre de uma maneira mais forte entre a altura das anteras e o comprimento da corola ($r=0,7178$). Tais resultados indicam a presença de dois morfos florais na população estudada. A correlação mais forte existente entre anteras e a corola se dá pelo fato de que a espécie apresenta estames epipétalos.

Para as flores de *P. crocea*, o tamanho médio das flores longistilas foi de $13,65\pm 0,95$ mm e para as flores brevistilas $14,52\pm 1,26$ mm valores que apresentaram diferenças significativas, os pistilos das flores longistilas apresentou tamanho médio de $14,49\pm 1,96$ mm e as flores brevistilas foi de $11,09\pm 1,34$ mm, valores que também são diferentes estatisticamente.

Os valores da altura das anteras que para as flores longistilas foi de $10,49\pm 1,00$ mm e para as flores brevistilas $15,51\pm 1,89$ mm, os quais diferiram estatisticamente, assim como os valores de comprimento de estigma e comprimento das anteras, estes resultados confirmam a presença de dois morfos florais nas populações de plantas estudadas. A correlação entre a altura das anteras e o comprimento da corola é considerada forte ($r=0,7003$), porém para a altura dos estigmas e comprimento da corola, apesar de existir, é uma correlação considerada fraca ($r=0,4425$) (Tabela 1).

Tabela 1 – Morfometria floral de *P. carthagenensis* e *P. crocea*.

	<i>P. carthagenensis</i>			<i>P. crocea</i>		
	Longistilo	Brevistilo	P	Longistilo	Brevistilo	
Comprimento da corola	$5,25\pm 0,52$ mm	$4,82\pm 0,43$ mm	$<0,0001$	$13,65\pm 0,95$ mm	$14,52\pm 1,26$ mm	$0,0005$

Altura do Estigma	7,60±0,64 mm	4,57±0,96 mm	<0,0001	14,49±1,96 mm	11,09±1,34 mm	<0,0001
Comprimento do Estigma	1,08±0,14 mm	0,95±0,65 mm	<0,0001	1,91±0,46 mm	3,07±0,85 mm	<0,0001
Altura da Antera	4,83±0,46 mm	6,57±0,49 mm	<0,0001	10,49±1,00 mm	15,51±1,89 mm	<0,0001
Comprimento da Antera	1,26±0,16 mm	1,23±0,18 mm	2420	3,33±0,67 mm	3,87±0,43 mm	0,0001

A morfologia da corola pode atuar diretamente na eficiência da polinização. Em certos casos as corolas restringem o acesso de alguns visitantes para evitar o desperdício de pólen com aqueles que não atuariam como polinizadores efetivos (RICCI, 2017). Neste caso, além da restrição de visitantes, como os estames são epipétalos, variações na morfologia e tamanho da corola afetam diretamente a altura em que as anteras estão dispostas.

A doação de pólen entre as estruturas reprodutivas baixas também pode sofrer ação direta da morfologia da corola. A maior exposição de anteras e estigmas altos facilitaria a transferência de pólen, porém como ponto negativo, o estigma também ficaria mais suscetível a contaminações (COELHO, 2013).

A avaliação anatômica das estruturas florais demonstrou que as pétalas de *P. carthagenensis* apresentam epiderme adaxial simples, justaposta, cuticulada, com numerosos tricomas tectores unicelulares, e a epiderme abaxial é simples, também com a presença de cutícula. O mesofilo é composto de parênquima fundamental, os feixes vasculares observados têm ausência de esclerênquima. Tais feixes são comuns visto que as pétalas são estruturas delicadas que não necessitam de alta capacidade de sustentação e condução, ao longo do tecido parenquimático são observados idioblastos (cristais).

A espécie apresenta ainda um anel de tricomas no interior do tubo da corola (SOUZA et al., 2003) (Figura 6). As papilas nas pétalas possuem função ainda controversa para alguns autores, sendo sugerido que sua importância seja apenas

taxonômica, entretanto para outros estas estruturas possuiriam funções como reflexão da luz solar, além de conferir aspecto aveludado as pétalas (ALQUINI et al., 2006).

Já as pétalas de *P. crocea* apresentam mesofilo homogêneo, a epiderme da face adaxial é simples, justaposta, com tricomas tectores unicelulares e uniseriados, ocorrendo ocasionalmente, e a epiderme abaxial é papilosa, nas duas faces é possível observar a presença de cutícula. No mesofilo é possível observar feixes vasculares compostos apenas por xilema e floema, situação comum em angiospermas (SOUZA et al., 2003). Este ainda é composto parênquima fundamental, com várias camadas de células de tamanhos variáveis, além de apresentar idioblastos (cristais).

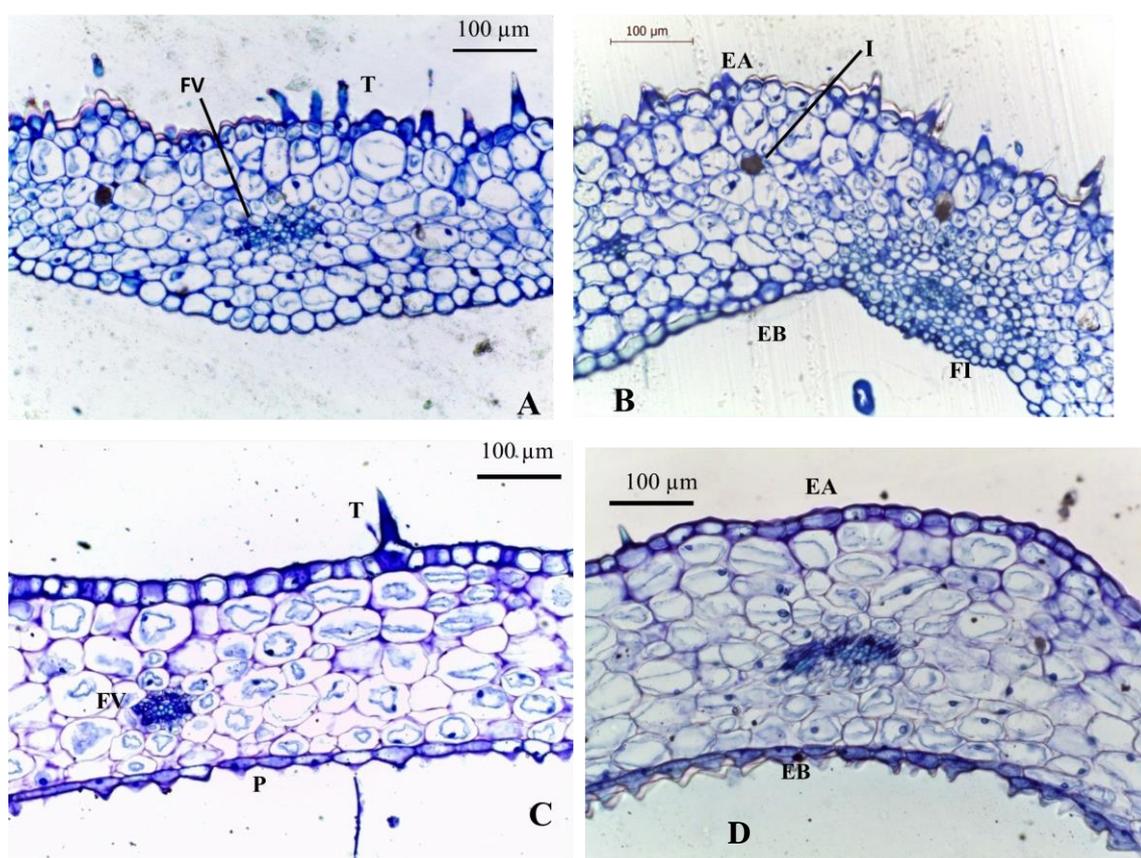


Figura 6: Fotomicrografias das pétalas de *P. carthagenensis* e *P. crocea*. A) Corte transversal da pétala de flor brevistílica de *P. carthagenensis* B) Corte transversal da pétala de flor longistílica de *P. carthagenensis*, C) Corte transversal da pétala de flor brevistílica de *P. crocea*, D) Corte transversal da pétala de flor longistílica de *P. crocea*. T- tricoma, FV- feixe vascular, I – idioblasto, FI – filete, EA – epiderme adaxial, EB- epiderme abaxial, P – papilas.

4.4.3 *Hercogamia recíproca*

Os valores para hercogamia recíproca encontrados com o teste de Richards & Koptur (1993) para as estruturas reprodutivas altas de *P. carthagenensis* foi de $-0,07 \pm 0,15$ mm, e para as estruturas reprodutivas baixas de $0,03 \pm 0,10$ mm. Os resultados indicam que há certa reciprocidade entre as estruturas reprodutivas altas, porém com alguma variação. No caso das estruturas reprodutivas baixas o valor menor que 0,05 indica que segundo o teste as alturas são recíprocas.

Já para *P. crocea* os valores obtidos com o teste de Richards & Koptur (1993) para as estruturas reprodutivas altas foi de $0,03 \pm 0,09$ mm, e para as estruturas reprodutivas baixas de $-0,03 \pm 0,07$ mm. Estes resultados indicam que existe hercogamia recíproca entre as estruturas, tanto para as altas como para as baixas. O desvio padrão maior que a média indica que os valores variam, apesar da presença de hercogamia. Esta variação na altura de estigmas e anteras pode levar a certa vantagem, pois, permitirá a deposição de pólen em uma região mais ampla do corpo do polinizador. Entretanto tal variação poderia levar a contaminações com pólen ilegítimo, causando a oclusão do estigma e prejudicando a germinação de pólen legítimo.

Os resultados encontrados no teste de Sánchez *et al.* (2013 v. 2.0) para *P. carthagenensis* foi de 0,184 mm, e a distância média de separação entre estigma e antera foi de $0,46 \pm 0,13$ mm e para *P. crocea* de 0,229 mm, com a distância média de $0,31 \pm 0,16$ mm. Tais valores indicam que não há reciprocidade, confrontando com os valores encontrados no teste anterior, apesar de destacar a presença de uma separação entre as estruturas reprodutivas (Figuras 7 e 8).

As diferenças encontradas são resultado das diferentes formas de avaliação dos testes utilizados. Os resultados diferentes encontrados entre os testes de hercogamia devem-se provavelmente a presença de variação entre o tamanho das estruturas dentro do mesmo morfo. Desse modo outras características devem ser levadas em consideração para determinar se uma espécie é ou não distílica, como por exemplo, se a espécie é isopletica, e a presença de um sistema de autoincompatibilidade (COELHO, 2013).

Mesmo em espécies que apresente certo grau de reciprocidade, porém seja observada grande variação na altura das estruturas dentro da população, tal variação

pode levar a contaminações. Quando não há hercogamia recíproca, os estigmas podem apresentar reciprocidade com o local de deposição de outras espécies presentes no local.

Existe certa controversa em relação a importância da hercogamia recíproca dentro de uma população. Descrita inicialmente como a peça chave no sucesso reprodutivo, a presença de dois morfos bem definidos com alturas recíprocas permitiria a deposição de pólen numa parte específica do corpo do polinizador, que quando visitasse flores de um morfo diferente depositaria os grãos exatamente sobre o estigma, garantindo uma maior eficiência reprodutiva. A variação na hercogamia recíproca poderia levar a um aumento da contaminação, ou seja, fluxo de pólen ilegítimo (DARWIN, 1877).

Estudos posteriores evidenciaram a importância da hercogamia recíproca para uma deposição de pólen específica, que reduziria o desperdício de pólen e garantiria maiores chances de que ocorresse fertilização cruzada (BAKER, 1964; WEBB; LLOYD, 1986).

Entretanto em algumas populações, variações na reciprocidade entre estigmas e anteras podem contribuir para que mais pólen chegue aos estigmas, pois o pólen seria depositado em um local mais amplo do corpo do polinizador. Tal situação permitiria que o pólen tivesse mais chances de ser depositado sobre o estigma, visto que a hercogamia perfeita não existe na natureza, havendo sempre certa variação entre a altura das estruturas reprodutivas (COELHO, 2013).

Além disso, a maioria das espécies distílicas apresenta um sistema de autoincompatibilidade heteromorfo, que evitariam a germinação dos grãos de pólen da própria flor, bem como a fertilização dos óvulos, o que manteria a isopleia da população (FURTADO, 2015; MARUYAMA; AMORIM; OLIVEIRA, 2010).

A contaminação por pólen ilegítimo também causa a oclusão do estigma o que impede que grãos de pólen viáveis cheguem ao estigma e germinem, impedindo a fertilização (BORGES, 2017).

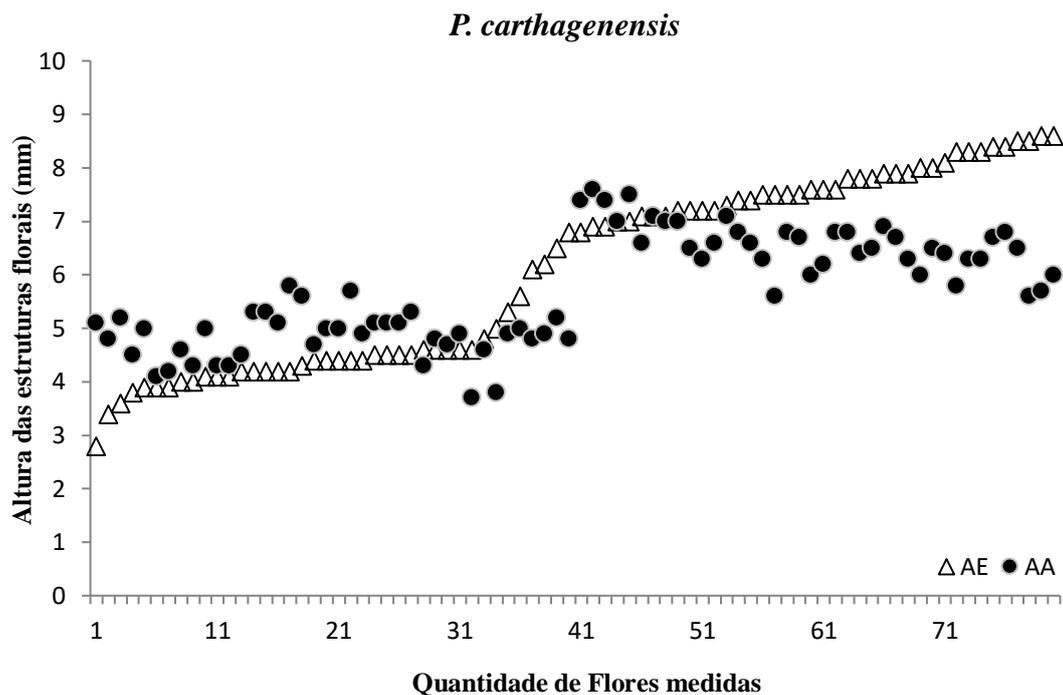


Figura 7: Comparação da variação de tamanho das estruturas reprodutivas em flores de *P. carthagenensis* coletadas em Jataí-GO. Triângulos representam a altura dos estigmas e círculos altura das anteras.

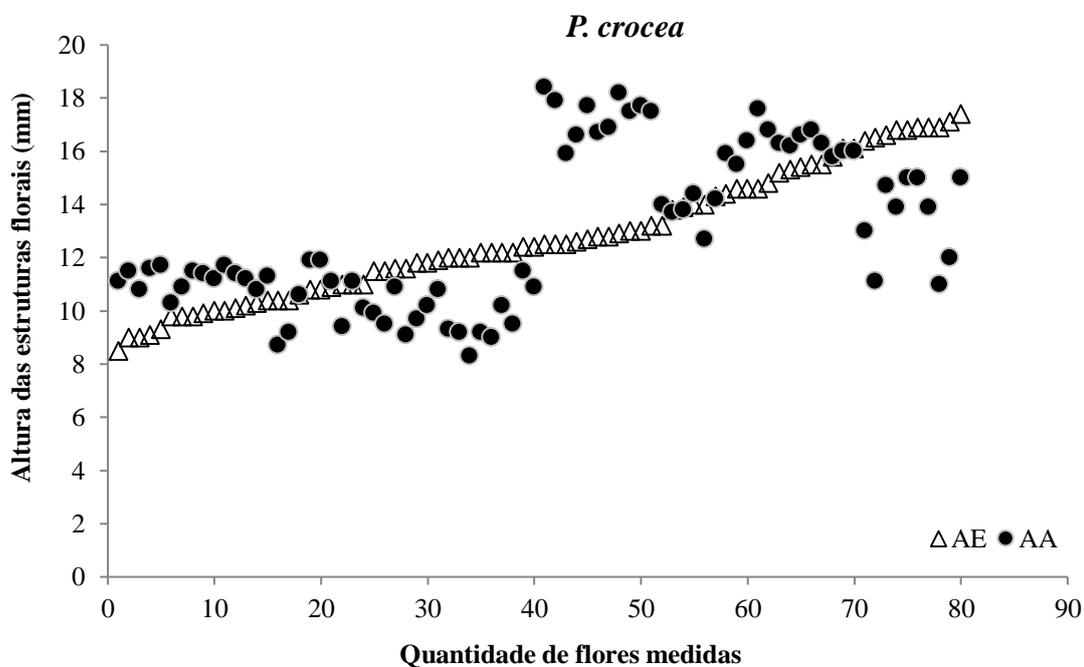


Figura 8: Comparação da variação de tamanho das estruturas reprodutivas em flores de *P. crocea* em Jataí-GO. Triângulos representam a altura dos estigmas e círculos altura das anteras

A variação encontrada nos testes de hercogamia pode ser observada nos gráficos acima. Em uma situação de hercogamia perfeita espera-se que os estigmas e anteras se apresentem no gráfico em blocos bem definidos, entretanto o que é observado é uma grande variação entre as alturas das anteras, apesar da presença de dois morfos bem definidos dentro da população.

4.4.4 Dimorfismo polínico

Os grãos de pólen das duas espécies foram examinados a partir do seu diâmetro. O tamanho médio dos grãos de pólen para *P. carthagenensis* para o morfo longistilo foi de $37,54 \pm 4,78 \mu\text{m}$, enquanto para o morfo brevistilo $39,57 \pm 4,64 \mu\text{m}$. Já os valores para *P. crocea* para o morfo longistilo foi de $65,18 \pm 18,17 \mu\text{m}$ e para o morfo brevistilo foi de $88,49 \pm 5,32 \mu\text{m}$. Por meio de avaliações estatísticas foi constatado que os grãos de pólen entre os morfos são estatisticamente diferentes para as duas espécies (Tabela 2).

Para as duas espécies os grãos de pólen do morfo brevistilo foram maiores, resultados semelhantes aos encontrados por Furtado (2015), Barrett *et al.* (1992) e Coelho e Barbosa (2004).

Tabela 2 – Dimorfismo polínico observado em *P. carthagenensis* e *P. crocea*.

	Longistilo	Brevistilo	U	P
<i>P. carthagenensis</i>	$37,54 \pm 4,78 \mu\text{m}$	$39,57 \pm 4,64 \mu\text{m}$	872083,00	<0,0001
<i>P. crocea</i>	$65,18 \pm 18,17 \mu\text{m}$	$88,49 \pm 5,32 \mu\text{m}$	212519,50	<0,0001

Os grãos de pólen maiores no morfo brevistilo podem estar relacionados ao fato destes necessitarem de uma maior reserva energética para percorrer o estilete longo do morfo longistilo. Outra provável razão para o maior diâmetro dos grãos pode estar relacionado ao tamanho das anteras também maiores neste morfo, visto que assim teriam maior espaço para se desenvolverem (BORGES, 2017; PEREIRA; VIEIRA; CARVALHO-OKANO, 2006).

As avaliações anatômicas das anteras de *P. carthagenensis* demonstraram que as anteras são tetrasporangeas com deiscência longitudinal, possuem epiderme composta por células piramidais cuticuladas, endotécio com células colunares onde é

possível observar espessamentos parietais lignificados, o conectivo é composto por parênquima fundamental, é possível observar no filete um feixe vascular composto por xilema e floema apenas (Figura 9).

As anteras de *P. crocea* também são tetrasporangeas, e apresentam deiscência longitudinal. O filete apresenta feixe vascular composto por xilema e floema e o conectivo é formado por parênquima fundamental, a epiderme das anteras é composta por células piramidais cuticulada, o endotécio apresenta espessamentos parietais lignificados, tais espessamentos tem importante função na deiscência das anteras (ALQUINI et al., 2006).

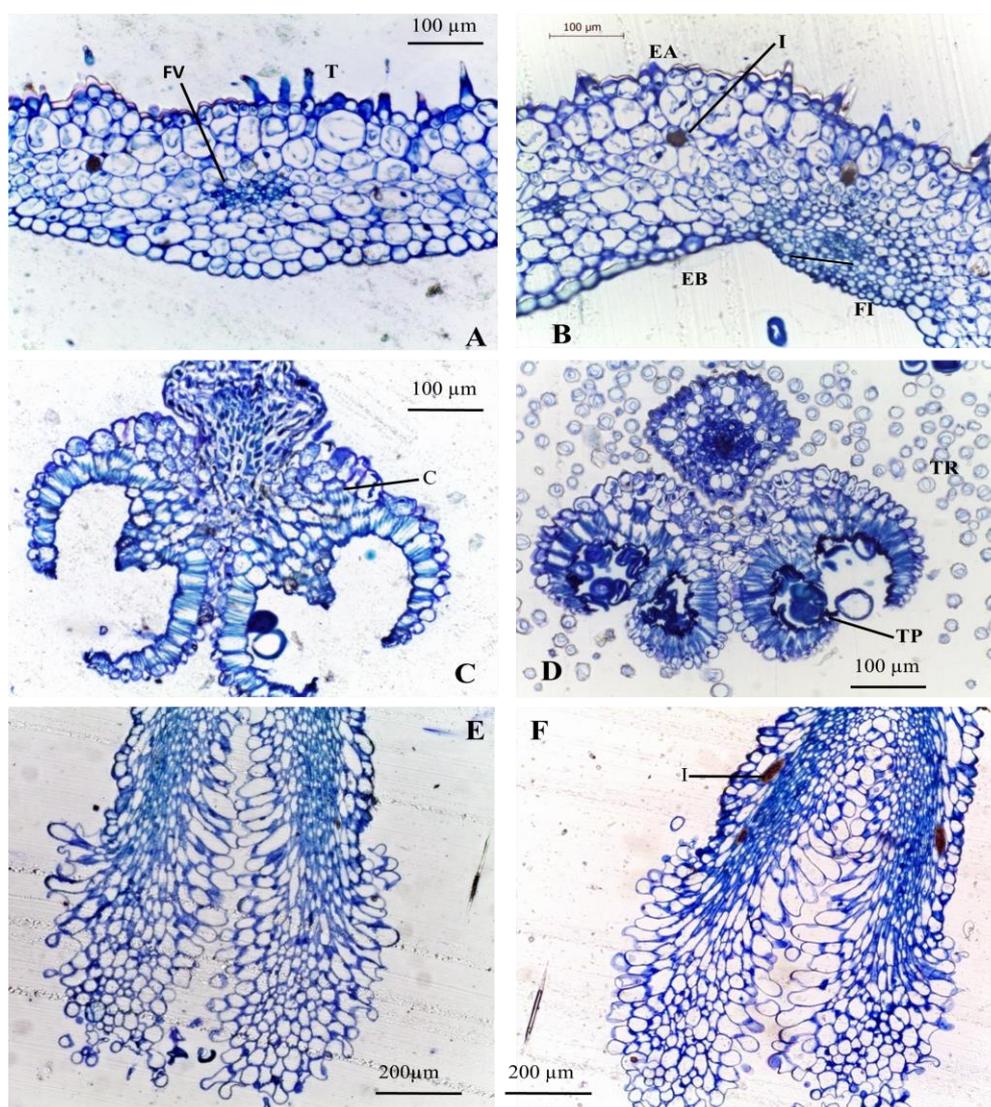


Figura 9 - Fotomicrografias das estruturas reprodutivas de *P. carthagenensis* e *P. crocea* A) Corte transversal da antera brevistílica de *P. carthagenensis*, B) Corte transversal da antera longistílica de *P. carthagenensis*. C) Corte transversal da antera brevistílica de *P. crocea*, aumento de 10x, D) Corte transversal da antera longistílica de *P. crocea*, aumento de 10x, E) Corte transversal da antera brevistílica

de *P. crocea*, aumento de 20x, F) Corte transversal da antera brevistílica de *P. crocea*, aumento de 20x. C – conectivo, TP – tapetum, TR – tricomas, GP – Grãos de Pólen.

4.4.5 Fluxo de pólen

Depois de medidos, os grãos de pólen foram divididos em classes de tamanho, sendo 08 classes para *P. carthagenensis* e 21 para *P. crocea*. Os tamanhos dos grãos de cada morfo se sobrepuseram em algumas classes, por isso para *P. carthagenensis* grãos com tamanho entre 35,01 e 40 μ m não foram considerados para a avaliação, visto que não foi possível determinar a qual morfo os grãos pertenciam. Já para *P. crocea* os grãos com tamanho entre 80,01 e 85 μ m não foram utilizados (Figura 10 e 11).

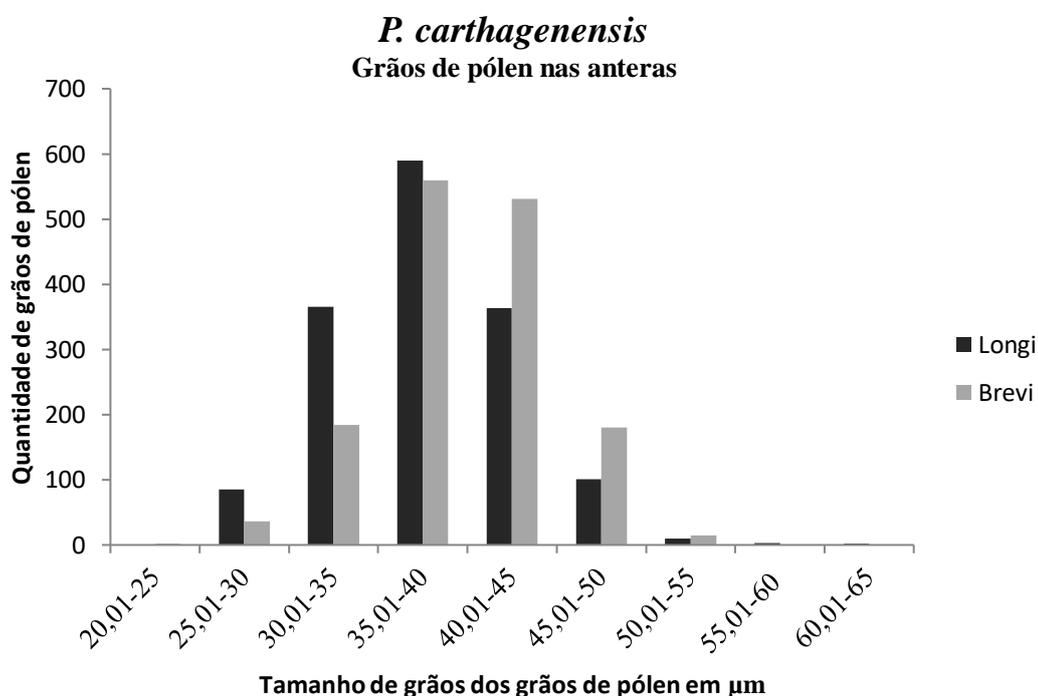


Figura 10: Tamanho dos grãos de pólen medidos em anteras de dois morfos distintos em botões florais empré-antese de *P. carthagenensis*.

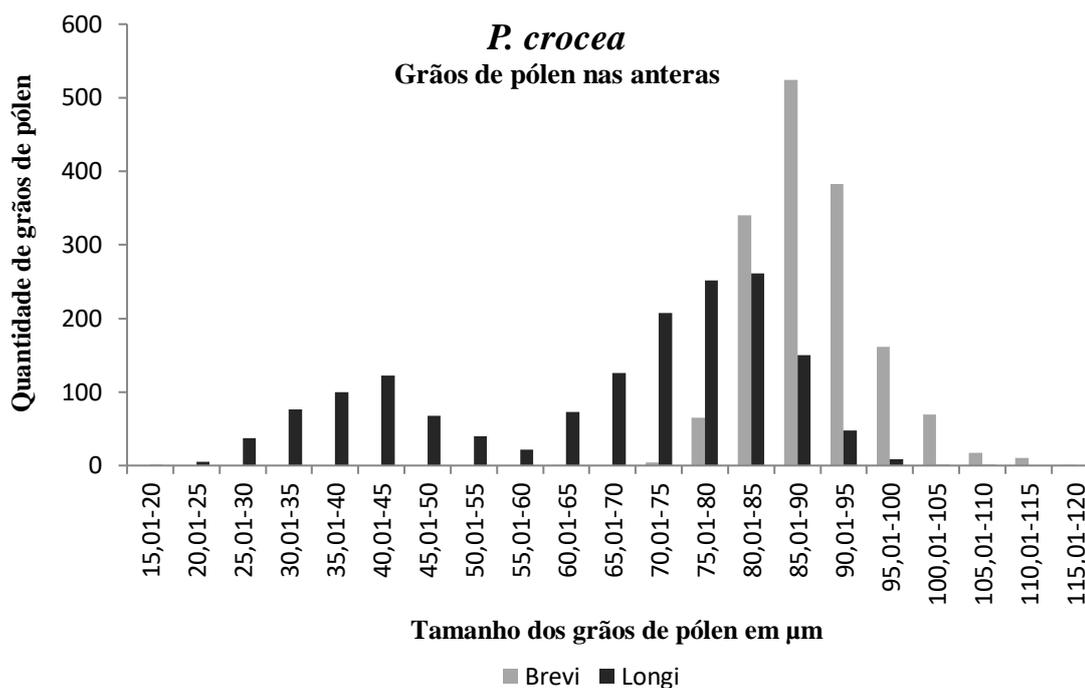


Figura 11: Tamanho dos grãos de pólen medidos em anteras de dois morfos distintos em botões florais em pré-antese de *P. crocea*.

Apenas 100 grãos de pólen foram encontrados nos estigmas das flores longistílicas, o que demonstra certa ineficiência nas vias de doação e recepção de pólen. Dos grãos de pólen encontrados nos estigmas das flores brevistílicas de *P. carthagenensis* 26% eram possivelmente do morfo longistílico, ou seja, fluxo legítimo, 38% pode ser considerado fluxo ilegítimo e 36% dos grãos encontrados estavam na faixa de tamanho em que havia sobreposição, não sendo possível identificar o morfo de origem. Para os estigmas longistílicos, 33% dos grãos eram provenientes de fluxo legítimo, 19% de fluxo ilegítimo e 48% encontravam-se na faixa de sobreposição (Tabela 3).

Já para os estigmas das flores brevistílicas de *P. crocea* 26% dos grãos de pólen foram de fluxo legítimo, 32% de fluxo ilegítimo e 42% estavam na faixa de sobreposição. Nos estigmas longistílicos 20% do fluxo de pólen foi legítimo, 44% ilegítimo e 36% estava na faixa de sobreposição (Tabela 3).

Tais resultados indicam uma possível eficiência maior no morfo brevistílico para *P. crocea* resultados semelhantes aos encontrados por Consolaro(2008), e maior eficiência do morfo longistílico para *P. carthagenensis*, resultados semelhantes aos observados por Furtado (2015). A falta de hercogamia recíproca apresentada pelas

estruturas reprodutivas altas de *P. carthagenensis* poderia ser um dos motivos pelos quais os estigmas longistilos ficaram mais suscetíveis a receber pólen ilegítimo. Além disso, a maior exposição do estigma longistílico, acima das pétalas é outro fator que pode contribuir para que haja contaminação, visto que desse modo, os grãos de pólen podem chegar até ele de forma mais fácil.

Tabela 3 – Porcentagem de Fluxo de pólen encontrado nos estigmas de *P. carthagenensis* e *P. crocea*.

	<i>P. carthagenensis</i>		<i>P. crocea</i>	
	Longistilo	Brevistilo	Longistilo	Brevistilo
Legítimo	33%	26%	20%	26%
Ilegítimo	19%	38%	44%	32%
Sobreposição	48%	36%	36%	42%

Em populações onde há desequilíbrio na isopleia, podem ser observadas variações na hercogamia recíproca. A redução da reciprocidade pode favorecer a contaminação com pólen ilegítimo, que quando ocorre em grande quantidade pode levar ao entupimento do estigma, impedindo a germinação dos grãos de pólen legítimos, interferindo negativamente no sucesso reprodutivo da população (COELHO, 2013).

Durante as análises das fotomicrografias foi observado que houve deposição de pólen de outras espécies sobre os estigmas tanto de *P. carthagenensis* como de *P. crocea*. Na figura 12 é possível observar os grãos de pólen provenientes de outra espécie (setas vermelhas) que são maiores do que os de *P. carthagenensis* (setas azuis) (Figura 17).

Na imagem seguinte (Figura 13) é possível observar a situação inversa, onde os grãos de pólen de *P. crocea* (setas azuis) são visivelmente maiores do que aqueles indicados pelas setas vermelhas. É possível observar também que os grãos de pólen provenientes de contaminação apresentam formatos visualmente diferentes, sendo alguns esféricos e outros alongados, indicando que provavelmente se originaram de espécies doadoras diferentes.

Apesar de o estigma do morfolongistílico estar mais exposto, para *P. carthagenensis* a maioria das contaminações que puderam ser identificadas foi observada nos estigmas brevistílicos. A situação inversa pode ser observada em *P. crocea*. Tal situação pode estar relacionada à grande variação da altura das estruturas reprodutivas dentro da população, o que leva a deposição de pólen em um local mais amplo do corpo do polinizador. Sendo assim, grãos de pólen de um morfo podem ser depositados em locais recíprocos com estigmas de outros indivíduos do mesmo morfo.

A presença de contaminação indica ainda que *P. carthagenensis* e *P. crocea* compartilham polinizadores com outras espécies existentes no local. Segundo Darwin (1877) a heterostilia deveria agir de maneira a evitar tal tipo de contaminação, tanto ente morfos da mesma espécie, como em espécies diferentes. Entretanto, foi possível observar em alguns casos, uma maior concentração de grãos de polens oriundos de outras espécies do que aqueles provenientes da mesma espécie. Visto que possuíam tamanhos visivelmente diferentes sendo possível a diferenciação entre eles, entretanto não foi possível avaliar a qual espécie os grãos de pólen pertenciam.

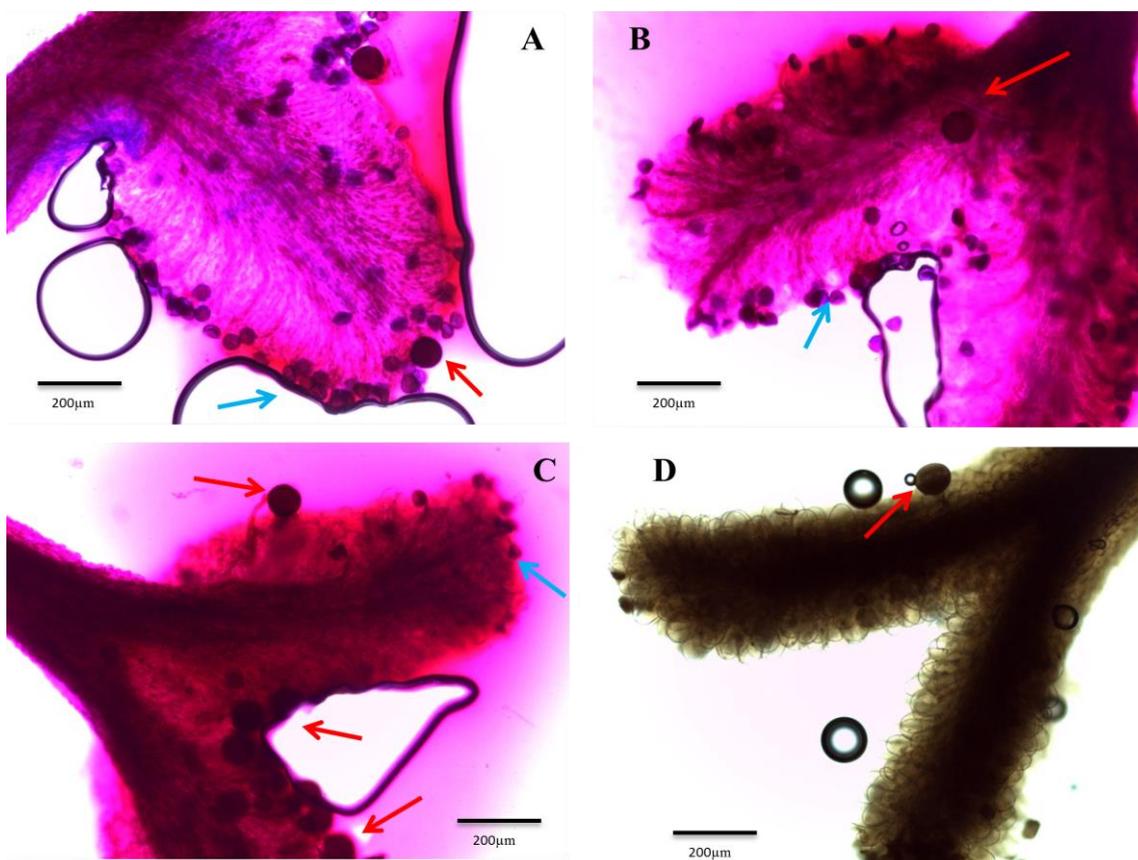


Figura 12: Fotomicrografias dos estigmas de *P. carthagenensis*. A a C) Evidência de fluxo de deposição de pólen de outras espécies sobre estigma brevistilos. D) Evidência de fluxo de deposição de pólen de outras espécies sobre estigma longistilo.

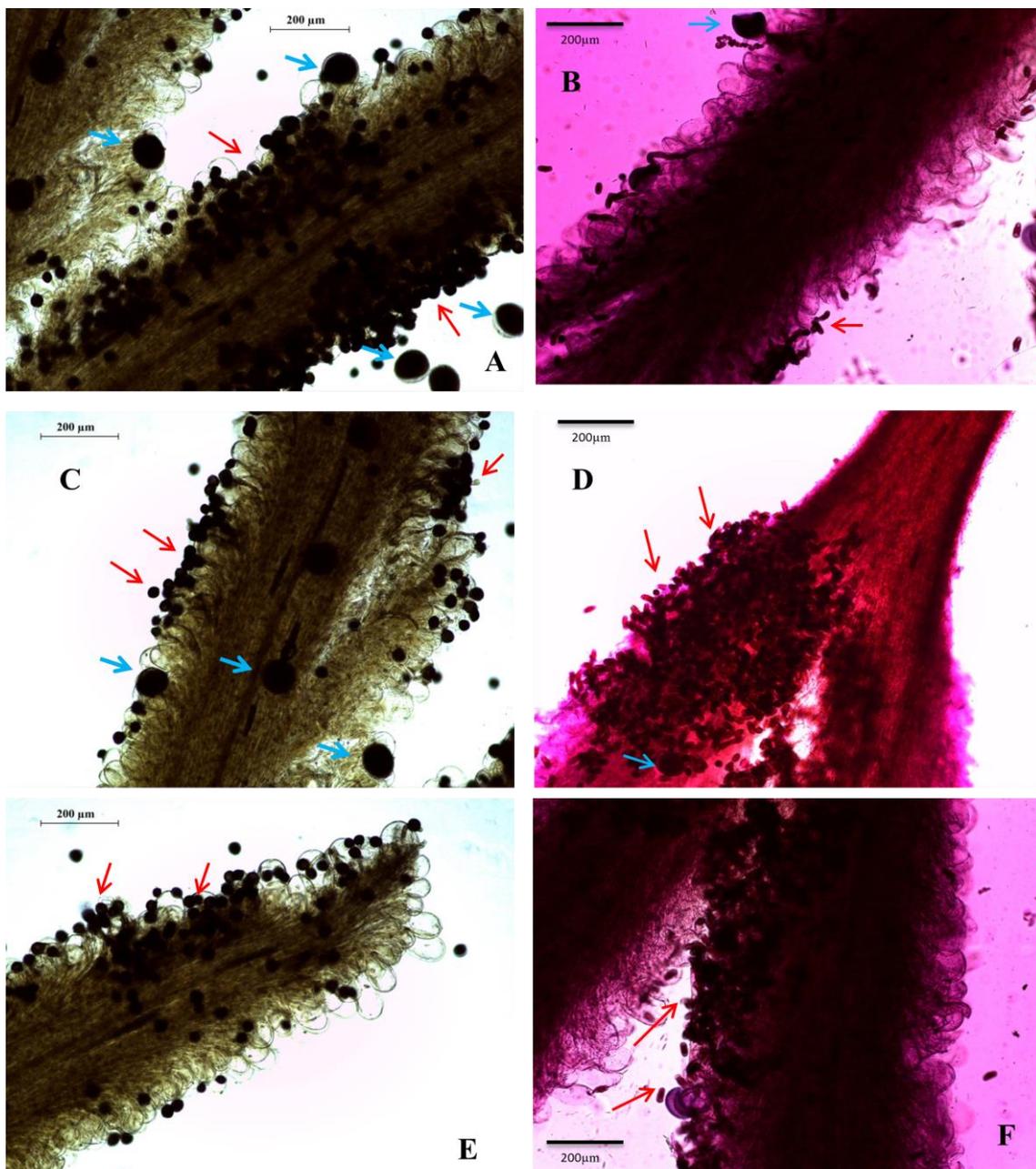


Figura 13: Fotomicrografias dos estigmas brevistilos de *P. crocea*. A a F) Evidência de fluxo de deposição de pólen de outras espécies sobre estigma de *P. crocea*.

4.4.6 Análise das Papilas Estigmáticas

Na análise das papilas estigmáticas de *P. carthagenensis* é possível observar que ambos os morfos apresentam papilas alongadas, entretanto o morfo longistilo apresenta papilas um pouco mais alongadas (Figura 14). Para avaliar diferenças significativas foram realizadas medidas da largura das papilas próximas a região apical. As papilas do morfo brevistilo possuíam largura média de $31,71 \pm 5,04 \mu\text{m}$, enquanto os valores médios para o morfo longistilo foram $27,05 \pm 5,74 \mu\text{m}$, valores estatisticamente diferentes ($t = -4,3761$, $P < 0,0001$). As papilas mais alongadas no morfo longistílico e mais arredondadas no brevistilico são resultados que se assemelham aos encontrados por Teixeira e Machado (2004).

As papilas estigmáticas de *P. crocea* do morfo brevistilo aparentavam ter formato arredondado, tendo uma largura média de $76,86 \pm 11,77 \mu\text{m}$. Já as papilas do morfo longistilo apresentavam formato alongado, aparentemente mais finas do que o morfo brevistilo com tamanho médio de $68,34 \pm 13,02 \mu\text{m}$. Após análises estatísticas ficou confirmado que os valores são estatisticamente diferentes ($t = -3.4988$, $P = 0,0003$) (Figura 15).

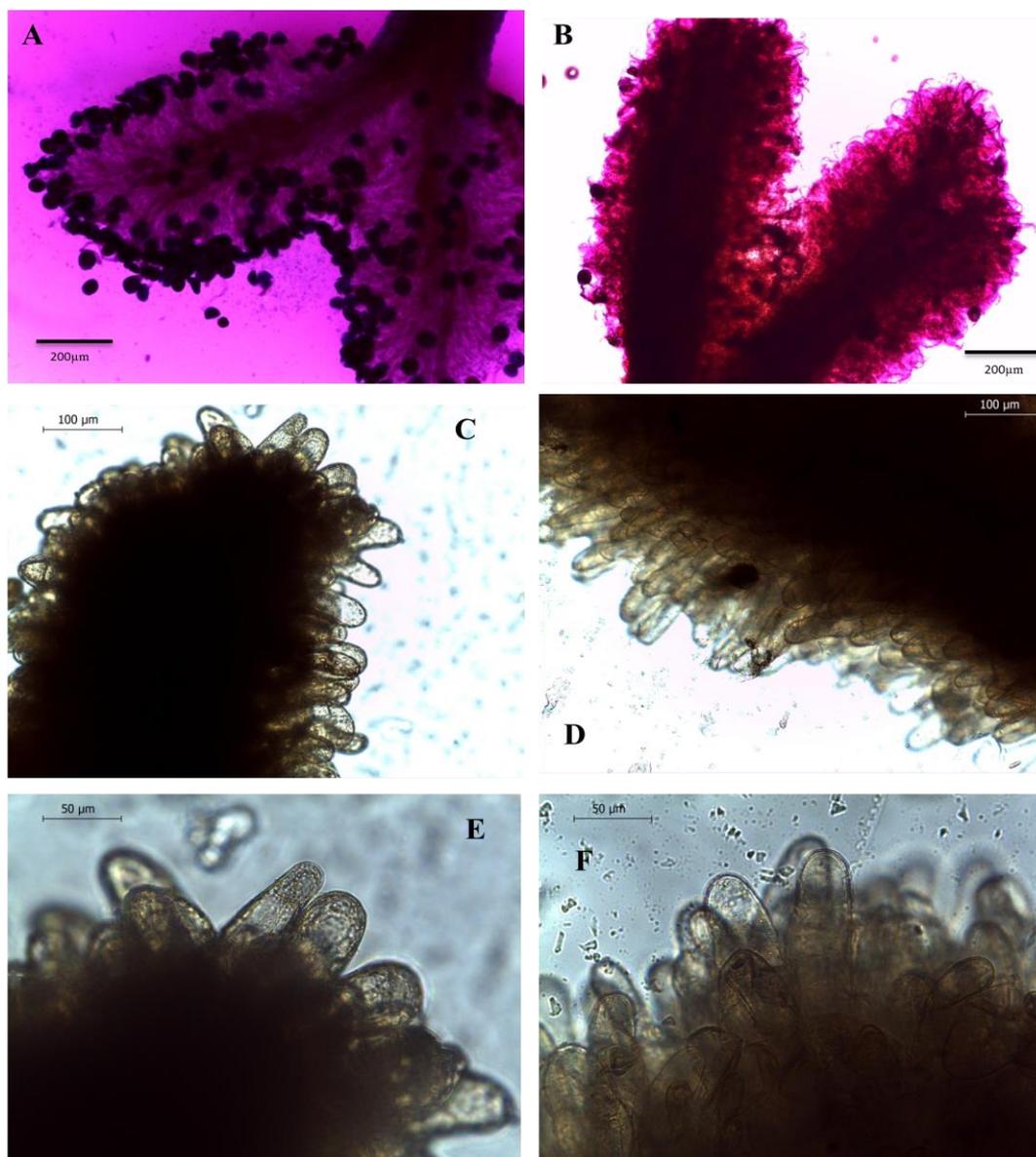


Figura 14: Fotomicrografias das papilas estigmáticas de *P. carthagenensis*. A) Estigma brevistílico com aumento de 10x, C e E) Papilas estigmáticas do morfo brevistílico com aumento de 20x e 40X respectivamente. B) Estigma brevistílico com aumento de 20x, D e F) Papilas estigmáticas do morfo longistílico com aumento de 20x e 40X respectivamente.

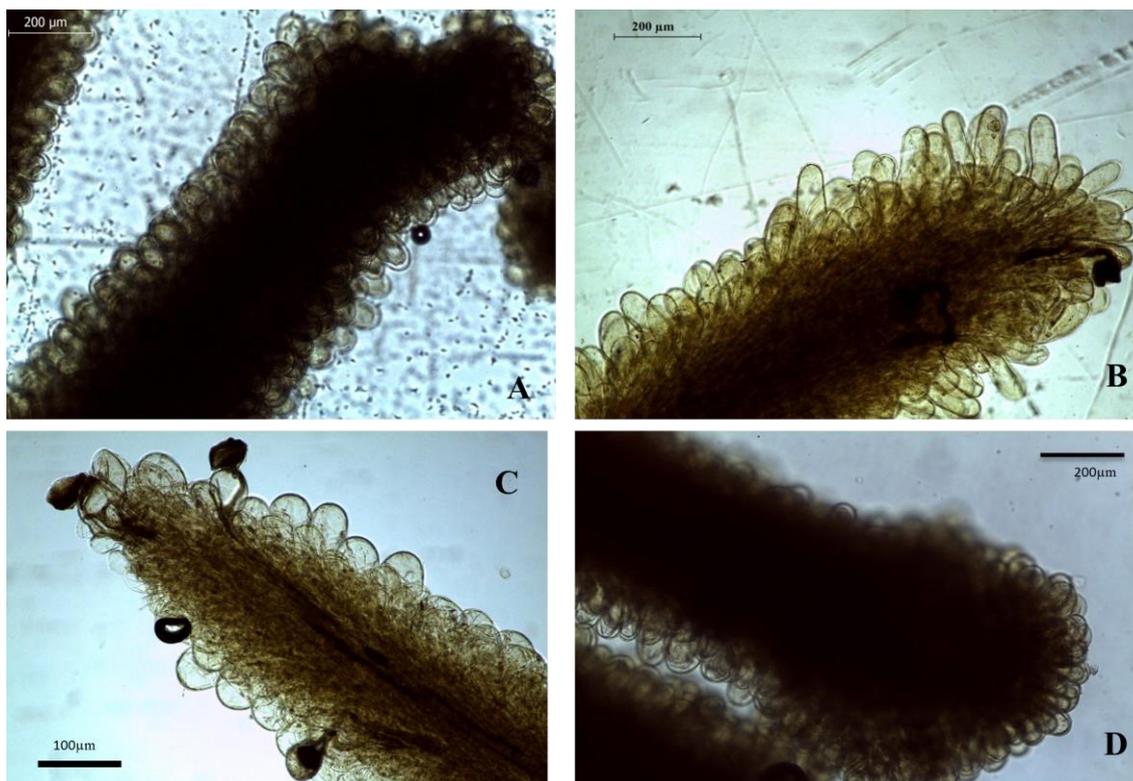


Figura 15: Fotomicrografias das papilas estigmáticas de *P. crocea*. A) Estigma brevistílico com aumento de 10x, B) Estigma longistílico com aumento de 10x, C) Estigma brevistílico com aumento de 20x, D) Papilas estigmáticas do morfo longistílico com aumento de 20x.

Os estiletos de *P. carthagenensis* são compostos por tecido parenquimático que cerca um feixe vascular. Na extremidade se bifurca para formar um estigma bífido, o qual é composto por papilas alongadas nos dois morfos, ocasionalmente podem ser vistos células com cristais ao longo do estilete, o qual possui epiderme composta por células piramidais. Tais características são semelhantes às observadas em *P. crocea* (Figura 16).

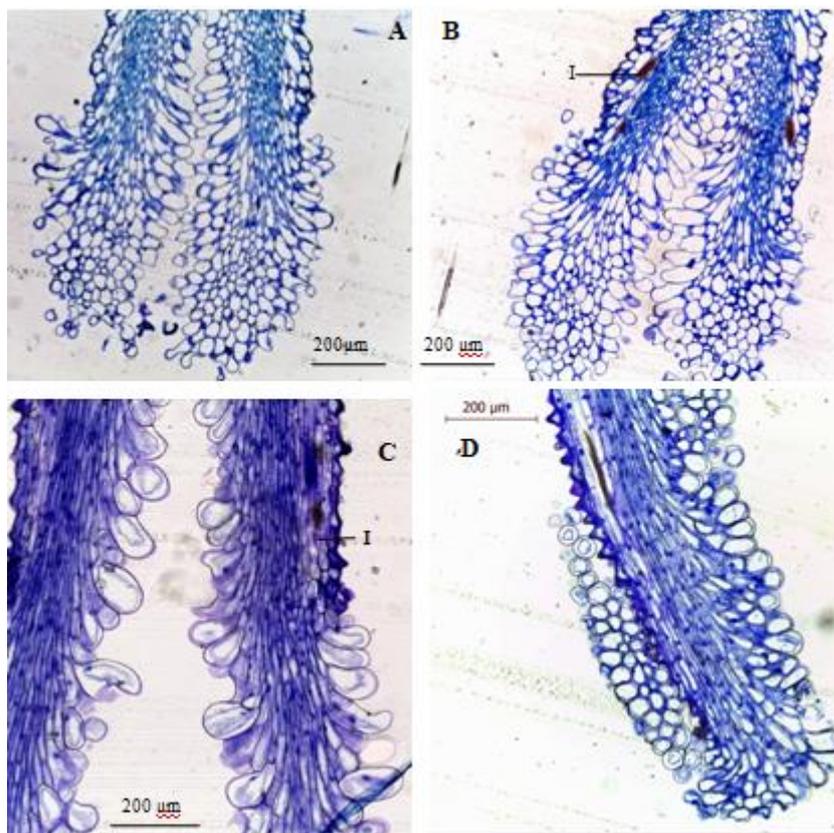


Figura 16: Fotomicrografias das papilas estigmáticas de *P. carthagenensis* e *P. crocea*. (A) corte paradermico do estigma brevistílico de *P. carthagenensis*, (B) Corte paradermico do estigma longistílico de *P. carthagenensis*, (C) Corte paradermico dos estigmas brevistílico de *P. crocea*, (D) Corte paradermico dos estigmas longistílico de *P. crocea*. I- Idioblastos.

As papilas estigmáticas possuem importante papel no reconhecimento dos grãos de pólen. De acordo com as proteínas oriundas das células do tapetum nas anteras encontradas nos grãos de pólen as papilas podem reconhecer ou não os grãos, permitindo ou não o crescimento dos tubos polínicos (BRAUM, 2008).

A deposição dos grãos de pólen sobre os estigmas é influenciada por alguns fatores, como a presença de um exsudado encontrado em estigmas do tipo úmido, ou pelo contato da superfície dos grãos com as células do estigma (BRAUM, 2008). A partir deste momento pode ocorrer ou não o reconhecimento dos grãos.

São nas papilas estigmáticas que ocorre a inibição do crescimento dos tubos polínicos de polens oriundos do mesmo morfo, mesmo indivíduo ou de outras espécies, mesmo que ocorram contaminações e fluxo ilegítimo. Tal função é especialmente

importante nas espécies distílicas que possuem um sistema de autoincompatibilidade heteromorfo.

4.5 Conclusão

As avaliações da morfometria floral demonstraram a presença de dois morfos florais distintos para as duas espécies estudadas. Entretanto as avaliações de reciprocidade demonstraram que havia grande variação entre as alturas das estruturas reprodutivas dentro da população (Richards & Koptur, 1993). Já o teste de Sánchez *et al.* 2013 demonstrou a ausência de reciprocidade entre anteras e estigmas.

A avaliação do fluxo de pólen nos estigmas demonstrou que *P. carthagenensis* apresentou maior eficiência do morfo longistílico, visto que houve maior porcentagem de fluxo legítimo, já para *P. crocea* houve maior eficiência para o morfo brevistílico. Além disso, foi observada contaminação com grãos de pólen de espécies diferentes para as duas espécies estudadas. Tal contaminação pode ser resultado da falta de reciprocidade entre as estruturas reprodutivas, associado ao fato das espécies apresentarem floração sobreposta com demais espécies do local, com as quais provavelmente compartilham polinizadores.

A avaliação de demais polimorfismos demonstrou que a produção de grãos de pólen entre os morfos não apresentou diferenças significativas. A avaliação das papilas estigmáticas demonstrou que para *P. carthagenensis* ambos os morfos apresentaram papilas alongadas, sendo um pouco mais finas no morfo longistílico. Já *P. crocea* apresentou papilas arredondadas para o morfo brevistílico e alongadas para o morfo longistílico, demonstrando a existência de demais polimorfismos florais secundários comumente associados a espécies distílicas.

As estruturas das flores das duas espécies apresentam diversas semelhanças, dentre elas a presença de feixes vasculares compostos apenas por xilema e floema e a ocorrência de idioblastos ao longo das pétalas e estigmas. A principal diferença entre as espécies é a presença de papilas na face abaxial das pétalas de *P. crocea*, as quais estão ausentes em *P. carthagenensis*. Tais papilas podem estar relacionadas com funções de

proteção, e também serem consideradas caracteres taxonômicos usados para classificação da espécie.

Os estigmas de ambas as espécies são bífidos e apresentam papilas alongadas, com exceção do morfo brevistílico de *P. crocea* que apresenta papilas arredondadas. As papilas estigmáticas possuem função muito importante na germinação dos grãos de pólen, visto que nelas pode ocorrer a inibição ou o crescimento do tubo polínico, caso esses grãos de polens sejam ou não reconhecidos (BRAUM, 2008).

4.6 REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

ALQUINI, Y. et al. Epiderme. In: APPEZZATO-DA-GLÓRIA, B.; CARMELLO-GUERREIRO, S. M. (Eds.). . **Anatomia Vegetal**. 2º edição ed. Viçosa: Editora UFV, 2006. p. 438.

BAKER, H. G. Variation in style length in relation to outbreeding in *Mirabilis* (Nyctaginaceae). **Evolution**, v. 18, n. 3, p. 507–509, 1964.

BALDUINO, A. P. DO C. et al. Fitossociologia e análise comparativa da composição florística do cerrado da flora de Paraopeba-MG. **Revista Árvore**, v. 29, n. 1, p. 25–34, 2005.

BORGES, J. P. R. **Fluxo de pólen heteroespecífico entre espécies sincronopatricas de Psychotria L. (Rubiaceae)**. Universidade Federal de Goiás, 2017.

BRAUM, A. F. **Morfologia, Anatomia e Imunocitoquímica da Interação entre Pólen e Estigma em duas espécies de Passiflora (Passifloraceae)**. Universidade Federal do Rio Grande do Sul, 2008.

CARVALHO, A. C. M. **Fluxo de pólen e sementes em populações isoladas de Copaifera langsdorfii Desf. (Leguminosae - Caesalpinioideae) em um fragmento florestal localizado em área urbana**. Universidade Estadual Paulista, 2009.

COELHO, C. P. **Sistema Reprodutivo, Distilia e Graus de Reciprocidade em Rubiaceae Arbustivas do Sub-Bosque de Formações Florestais do Cerrado**. Universidade Federal de Uberlândia, 2013.

COELHO, C. P.; BARBOSA, A. A. A. B. Biologia reprodutiva de *Psychotia poeppigiana* Mull.Arg. (Rubiaceae) em mata de galeria. **Acta Botanica Brasilica**, v. 71, n. 2, p. 17–19, 2004.

COELHO, C. P.; RECH, R. A.; SANTANA, V. Biologia floral e visitantes de *Cordia nodosa*: uma espécie com dimorfismo estilar na Amazônia. **Boletim do Museu Paraense Emílio Goeldi.**, v. 9, n. 3, p. 481–490, 2014.

CONSOLARO, H. et al. Distilia e homostilia em espécies de *Palicourea* Aubl. (Rubiaceae) do cerrado do Brasil central. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 32, n. 4, p. 677–689, 2009.

CONSOLARO, H. N. **A Distilia em espécies de Rubiaceae do bioma Cerrado.** Universidade de Brasília, 2008.

CONSOLARO, H.; SILVA, S. C. S.; OLIVEIRA, P. E. Breakdown of distily and pin-monomorphism in *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae). **Plant Species Biology**, v. 26, n. 1, p. 24–32, 2011.

DARWIN, C. **The different forms of flowers on plants of the same species.** London: John Murray, 1877.

FERES, J. M. **Diversidade genética, sistema reprodutivo e fluxo de pólen em duas populações de *Tabebuia roseo-alba* (Ridl.) Sand.: Implicações para a conservação.**

FERRERO, V. et al. Delving into the loss of heterostyly in Rubiaceae: Is there a similar trend in tropical and non-tropical climate zones? **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v. 14, n. 3, p. 161–167, 2012.

FLORA DO BRASIL 2020. Rubiaceae. In: JARDIM BOTÂNICO DO RIO DE JANEIRO (Ed.). **Flora do Brasil 2020 em construção.**

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 bot. bras**, v. 22, n. 1, p. 63–69, 2008.

FURTADO, M. T. R. **A funcionalidade da distilia em *Psychotria nitidula* Cham.**

&Schltdl. (Rubiaceae): O papel do polinizador na transferencia de pólen. Universidade de Brasília, 2015.

GANDERS, F. R. The biology of heterostyly. **New Zealand Journal of Botany**, v. 17, n. 4, p. 607–635, 1979.

KEARNS, C. A.; INOUE, D. W. **Techniques for pollination biologists.** University Press of Colorado. Nwot, Colorado, 1993.

KLINK, C. A.; MACHADO, R. B. A conservação do Cerrado brasileiro. **Megadiversidade**, v. 1, n. 1, p. 147–155, 2005.

KOCH, A. K.; SILVA, P. C. DA; SILVA, C. A. Biologia reprodutiva de *Psychotria carthagenensis* (Rubiaceae), espécie distílica de fragmento florestal de mata ciliar , Centro-Oeste do Brasil. **Rodriguésia**, v. 61, n. 3, p. 551–558, 2010.

MARUYAMA, P. K.; AMORIM, F. W.; OLIVEIRA, P. E. Night and day service: Distyly and mixed pollination system in *Faramea cyanea* (Rubiaceae). **Flora**, v. 205, p. 818–824, 2010.

MEIRA, R. M. S. A.; MARTINS, F. M. Inclusão de material herborizado em metacrilato para estudos de anatomia vegetal. **Revista Árvore**, v. 27, p. 109–112, 2003.

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

NASCIMENTO, S. M. **Efeitos da fragmentação de habitats em populações vegetais.** Universidade Estadual de Campinas, 2017.

NEIS, S. et al. Caracterização morfológica e avaliação de cultivares de bananeira resistentes à sigatoka-negra (*Mycosphaerella fijiensis* Morelet) no Sudoeste Goiano. **Revista Brasileira de Fruticultura**, v. 28, n. 3, p. 449–453, 2006.

PEREIRA, Z. V.; VIEIRA, M. F.; CARVALHO-OKANO, R. M. DE C. Fenologia da floração, morfologia floral e sistema de incompatibilidade em espécies distílicas de Rubiaceae em fragmento florestal do sudeste brasileiro. **Revista Brasileira de**

Botânica, v. 29, n. 3, p. 471–480, 2006.

RICCI, N. A. P. **A influência da morfologia e da biologia floral no sucesso reprodutivo do adubo verde *Crotalaria juncea* L. (LEGUMINOSAE, PAPILIONOIDEAE)**. Universidade de São Carlos, 2017.

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

SÁ, T. et al. Floral biology, reciprocal herkogamy and breeding system in four *Psychotria* species (Rubiaceae) in Brazil. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 182, n. 3, p. 689–707, 1 nov. 2016.

SANCHEZ, L.; FERRERO, V.; NAVARRO, L. Quantifying reciprocity in distylous and tristylous plant populations. **Plant Biology**, v. 15, p. Plant Biol., 2013.

SANTOS, I. A.; AIZEN, M.; SILVA, C. I. Conservação dos Polinizadores. In: RECH, R. A. et al. (Eds.). **Biologia da Polinização**. Projeto Cu ed. Rio de Janeiro. p. 493–524.

SOUZA, L. A. et al. Morfologia e anatomia da flor de *Pilocarpus pennatifolius* Lem. (Rutaceae). **Revista Brasileira de Botânica**, v. 26, n. 2, p. 175–184, 2003.

SOUZA, S. J.; MARIANO, Z. DE F.; SCOPEL, I. A Influência do clima urbano na proliferação do mosquito *Aedes aegypti* em Jataí (GO) na perspectiva da geografia médica. **Hygeia**, v. 2, n. 5, p. 33–49, 2007.

TEIXEIRA, L. A. G.; MACHADO, I. C. Biologia da polinização e sistema reprodutivo de *Psychotria barbiflora* DC. (Rubiaceae). **Acta bot. bras**, v. 18, n. 4, p. 853–862, 2004.

WEBB, C. J.; LLOYD, D. G. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms II. Herkogamy. **New Zealand Journal of Botany**, v. 24, n. 1, p. 135–162, 1986.

WHITE, G. M.; BOSCHER, D. H.; POWELL, W. Increased pollen flow counteracts fragmentation in a tropical dry forest: An example from *Swietenia humilis* Zuccarini. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 99, n. 4, p. 2038–2042, 2002.

5. CONCLUSÃO GERAL

Grande parte dos trabalhos encontrados, referente à família Rubiaceae, foi relacionada ao sistema reprodutivo e sua morfologia floral. Visto a distília como um polimorfismo que visa aprimorar o fluxo de pólen e, tendo o mesmo como um importante fator na reprodução das plantas, espera-se que o número de trabalhos realizados com as espécies da família cresça em especial aqueles relacionados ao fluxo de pólen.

Os resultados encontrados para a avaliação da morfometria floral demonstraram a presença de dois morfos florais, entretanto, a avaliação da hercogamia recíproca demonstrou que há muita variação na altura de estigmas e anteras dentro da

população. Tal fato pode ter contribuído para a contaminação observada nos estigmas de ambas as espécies. A avaliação dos polimorfismos secundários demonstrou que os grãos de pólen são maiores para o morfo brevistílico, tanto para *P. crocea* e *P. carthagenensis*, fator que supõe-se ser devido a maior reserva energética necessária para que os grãos percorram o estilete longistílico. As papilas estigmáticas também foram diferentes entre os morfos, sendo *P. crocea* quem demonstrou maior variação, tendo papilas alongadas no morfo longistílico e arredondadas no brevistílico.

Com relação à avaliação anatômica as flores de ambas as espécies se mostraram semelhantes, sendo a maior diferença entre elas a presença de papilas na epiderme abaxial de *P. crocea*. Esta característica pode auxiliar na classificação da espécie com relação à taxonomia.

A presença de contaminação encontrada, bem como a porcentagem de fluxo ilegítimo nos estigmas das flores, demonstra que ambas compartilham polinizadores com demais espécies presentes no local.