

POLINIZAÇÃO DE QUATRO ESPÉCIES DE RUBIACEAE ORNITÓFILAS NA SERRA DE MARACAJU

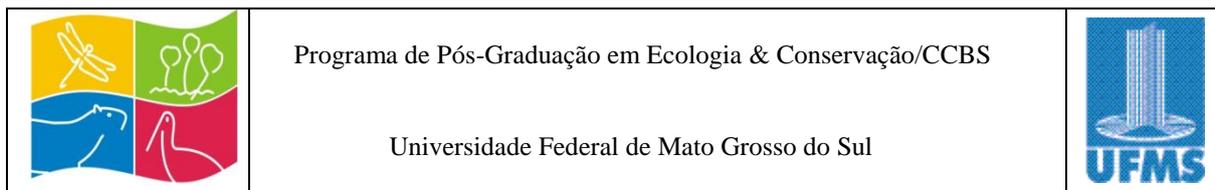
Fabiane Fileto Dias

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, como parte das exigências para obtenção do título de Mestre em Ecologia e Conservação.

Orientadora: Profa. Dra. Andréa Cardoso de Araujo

Campo Grande/MS

2011



**POLINIZAÇÃO DE QUATRO ESPÉCIES DE RUBIACEAE ORNITÓFILAS NA
SERRA DE MARACAJU**

Fabiane Fileto Dias

Orientadora: Profa. Dra. Andréa Cardoso de Araujo

Data de apresentação do seminário público: 08 de fevereiro de 2011

Banca Examinadora:

Dra. Edivani Villaron Franceschinelli - Universidade Federal de Goiás

Dr. Erich Fischer - Universidade Federal de Mato Grosso do Sul

Dr. Luciano Elsinor Lopes - Universidade Federal de São Carlos

Dra. Márcia Alexandra Rocca - Universidade Estadual de Santa Cruz

Dra. Milene Faria Vieira - Universidade Federal de Viçosa

Campo Grande/MS

2011

O vosso tanque general é um carro forte
Derruba uma floresta esmaga cem
Homens,
Mas tem um defeito
- Precisa de um motorista

O vosso bombardeio, general
É poderoso:
Voa mais depressa que a tempestade
E transporta mais carga que um elefante
Mas tem um defeito
- Precisa de um piloto

O homem, meu general, é muito útil:
Sabe voar, e sabe matar
Mas tem um defeito
- Sabe pensar

Bertold Brecht

Dedico este trabalho ao que tenho de mais precioso,

minha família!

Agradecimentos

Primeiramente quero agradecer as pessoas mais importantes da minha vida, minha família. Muito obrigada por todo apoio e incentivo que vocês deram mesmo antes de entrar para o mestrado. Pai, mãe, irmã e Gabriel, vocês foram essenciais ao longo destes dois anos, durante os momentos de incertezas, dificuldades e logicamente os de alegrias. Mãe e irmã obrigada por acreditarem em mim, mesmo de longe o apoio, carinho e conselhos de vocês foram indispensáveis para alcançar meus objetivos. Pai, obrigado por estar ao meu lado em todas as fases do meu campo tornando-o sempre mais alegre. Afinal, o que seria de mim sem você durante as três madrugadas inteiras de trabalho? Obrigada também por estar presente e cuidar de mim durante a redação da dissertação. Você é um pai maravilhoso.

Obrigada ao meu amor, Gabriel, por ser tão compreensivo, por compartilhar dos micuins e pelos ensinamentos alligatores, sem os quais eu jamais seria uma bióloga de campo.

A Andréa Araujo, querida orientadora, por estar sempre disponível a ensinar, auxiliar, aconselhar.

Ao Rogério Faria pelos ensinamentos em campo e por email.

Ao Maurício Silveira e Nicolay Cunha pelo auxílio nas análises estatísticas.

Ao Geraldinho Damasceno pela confirmação das espécies estudadas.

Aos membros da banca examinadora Erich Fischer, Márcia Rocca, Edivani Franceschinelli e Luciano Lopes pelas críticas e sugestões.

Ao Eder Afonso Doná e Waldemar Guimarães Barbosa Filho, parceiros de coleta.

Aos calouros Laise Magalhães, Lais Miranda, Renan Oliver, César Caceres, Dani Ajala e Adailton todty, que por tantas vezes ajudaram em campo.

A Fer (Fernanda Bueno) por sempre me socorrer nas coletas de última hora.

Ao Ruivão (Paulo Bogiani) e Zé da lanterna (José Morante) pelo focal noturno divertidíssimo.

As minhas parceiras super fiéis, Laika, Tininha e Suri, cadelas que tantas vezes me acompanharam e me “protegeram” em campo.

Aos queridos Jamil, Lúcia, dona Marucha e seu Zé, caseiros dos locais de coletas em Piraputanga e Camisão, pela hospitalidade.

Ao Acampamento Batista de Piraputanga, pelo apoio.

Ao Programa de Pós-Graduação em Ecologia e Conservação, docentes e servidores pelo excelente trabalho. A Rose, secretária do PPGEC, pela eficiência e paciência ao auxiliar os discentes.

A toda turma do mestrado 2009, a qual rendeu momentos inesquecíveis.

Aos motoristas da UFMS, Isabelino e Jorge pela camaradagem e disponibilidade.

A Fundect pelo apoio financeiro ao projeto “Carga de pólen e eficiência de beija-flores na polinização de espécies ornitófilas na Serra de Maracaju, Mato Grosso do Sul”.

A Capes pela bolsa concedida.

Foram dois anos muito gratificantes.

Obrigada!

Índice

Resumo.....	8
Abstract.....	9
Introdução.....	10
Métodos.....	12
Resultados.....	20
Discussão.....	41
Conclusões.....	52
Referências Bibliográficas.....	53

Resumo

A família Rubiaceae apresenta uma variedade de estratégias reprodutivas, dentre as quais a dicogamia e a heterostilia, que podem minimizar as chances de autofecundação e maximizar as chances de fecundação cruzada. O objetivo deste estudo foi descrever a fenologia de floração, a morfologia e a biologia floral, a produção de néctar, os visitantes florais e o sistema reprodutivo de espécies ornitófilas de Rubiaceae na Serra de Maracaju, Mato Grosso do Sul, bem como avaliar o potencial dos beija-flores como polinizadores destas espécies através de teste de intensidade de polinização. As coletas de dados foram realizadas na Serra de Maracaju, de maio de 2008 a maio de 2010. As espécies encontradas, *Palicourea crocea*, *Palicourea macrobotrys*, *Palicourea rigida* e *Pogonopus tubulosus*, floresceram durante a estação chuvosa e início da seca. *Palicourea crocea* e *Pa. rigida* são distílicas e *Pa. macrobotrys* e *Po. tubulosus* são homostílicas e autocompatíveis. As características do néctar dessas espécies são semelhantes às encontradas em outras espécies ornitófilas. *Thalurania furcata* foi o visitante mais frequente das espécies ornitófilas. Não houve diferenças na formação de frutos e de sementes em relação ao número de visitas realizadas por um dado polinizador. Outros fatores, além da quantidade de pólen depositado no estigma da flor receptora, podem estar relacionados à eficiência de polinização destas espécies.

Palavras-chave: dicogamia, distília, eficiência de polinização, teste de intensidade de polinização, Trochilinae

Abstract

The family Rubiaceae comprises a variety of reproductive strategies, among which are dichogamy and heterostyly, which can minimize the chances of inbreeding and maximize the chances of cross-fertilization. The aim of this study was to describe the flowering phenology, floral morphology and biology, nectar production, floral visitors and breeding system of ornithophilous species of Rubiaceae in Serra de Maracaju, Mato Grosso do Sul, as well as to evaluate the potential of hummingbirds as pollinators of these species through pollination intensity tests. Data collection was conducted in Serra de Maracaju, from May 2008 to May 2010. The species found, *Palicourea crocea*, *Palicourea macrobotrys*, *Palicourea rigida* and *Pogonopus tubulosus*, bloomed during the rainy season and early dry season. *Palicourea crocea* and *Pa. rigida* are distylous and *Pa. macrobotrys* and *Po. tubulosus* are homostylous and self-compatible. Nectar characteristics of these species are similar to those of other ornithophilous species. *Thalurania furcata* was the most frequent visitor of ornithophilous species. There were no differences in fruit and of seed set in relation to the number of visits by a particular pollinator. Factors other than the amount of pollen deposited on stigma of receiving flowers, may be related to pollination efficiency of these species.

Keywords: dichogamy, distyly, pollination efficiency, pollination intensity test, Trochilinae

Introdução

As flores apresentam adaptações morfológicas que convergiram para promover sua localização e o acesso aos recursos florais pelos visitantes, e conseqüentemente o transporte de pólen entre flores de indivíduos por esses vetores (Stebbins 1970; Fenster *et al.* 2004). O desempenho dos visitantes, que pode influenciar no sucesso reprodutivo das plantas, depende de sua eficiência na polinização (Gómez 2002). A eficiência de um dado polinizador pode ser avaliada por diferentes métodos (*sensu* Inouye *et al.* 1994) como a remoção e a deposição de pólen (Herrera 1987; Young & Stanton 1990), a frequência de visitas (Utelli & Roy 2000) ou o sucesso na fertilização dos óvulos no ovário (Gross 2005). Além disso, a fecundação dos óvulos pode estar diretamente relacionada à carga de pólen depositada no estigma, afetando a quantidade e a qualidade das sementes produzidas (Mitchell 1997).

A família Rubiaceae apresenta grande variedade de sistemas reprodutivos (Bawa & Beach 1983), dentre os quais a dicogamia e a heterostilia, que podem minimizar as chances de autofecundação e maximizar as chances de fecundação cruzada (Lloyd & Webb 1986; Ganders 1979). Dicogamia é a maturação assincrônica das funções masculina e feminina dentro de uma mesma flor, o que reduz as chances de contato entre as anteras e o estigma (Lloyd & Webb 1986). A dicogamia pode ocorrer de duas formas: protoginia, quando o estigma torna-se receptivo antes da deiscência das anteras, ou protandria, quando anteras tornam-se deiscentes antes do estigma estar receptivo (Lloyd & Webb 1986). Heterostilia é um tipo de polimorfismo floral controlado geneticamente que é definido por duas características: hercogamia recíproca, quando há reciprocidade no posicionamento do estigma e das anteras entre os diferentes morfos florais, e um sistema de autoincompatibilidade e incompatibilidade intramorfo, cujos grãos de pólen em anteras posicionadas no mesmo nível do estigma do morfo floral

antagônico são compatíveis (Ganders 1979). A heterostilia pode ser encontrada em plantas caracterizadas pela distilia, quando há flores com dois morfos florais diferentes ou tristilia, com três morfos florais diferentes (Ganders 1979). Em populações distílicas, os indivíduos apresentam os morfos florais brevistilos (flores com estilete mais curto que estames) e longistilos (flores com estilete mais longo que estames) e o equilíbrio nas frequências dos morfos em uma população é chamado isopletia (Ganders 1979).

Plantas que possuem flores polinizadas por beija-flores constituem parte importante de comunidades vegetais, pois podem representar até 15% das espécies de angiospermas em um dado local (Machado & Lopes 2004). Estas espécies geralmente possuem flores tubulares, cores fortes e de ornitofilia (Faegri & van der Pijl 1979; Stiles 1981; Wilson *et al.* 2004). Além disso, podem apresentar brácteas protetoras e coloridas contrastantes, antese diurna, ausência de odor, néctar abundante e relativamente diluído e separação espacial da câmara nectarífera em relação aos estigmas e anteras, características associadas à síndrome, flores orientadas de forma horizontal ou pendente e ausência de superfície de pouso (Luteyn 2002).

Rubiaceae está entre as principais famílias que são polinizadas por beija-flores (Buzato *et al.* 2000). Dentre as espécies de Rubiaceae ornitófilas, *Palicourea* possui aproximadamente 200 espécies restritas aos neotrópicos (Taylor 1997). Suas flores são inodoras e possuem corola tubular com cores brilhantes (Taylor 1997). Por outro lado, o gênero *Pogonopus* é composto por apenas três espécies (Mabberley 1987) as quais possuem flores com corola tubular e cores que variam entre rosa, vermelho e roxo (Delprete & Cortés-B 2006).

Os beija-flores (Trochilidae) são aves dependentes de néctar e estudos sobre sua eficiência de polinização vêm sendo realizados demonstrando a importância destes vetores de pólen para a reprodução de espécies vegetais (*e.g.* Engel & Irwin 2003;

Ornelas *et al.* 2004; Rocca-de-Andrade 2006; Fumero-Cabán & Meléndez-Ackerman 2007).

Os objetivos do presente estudo são descrever a fenologia de floração, a morfologia e a biologia floral, a produção de néctar e o sistema reprodutivo de *Palicourea crocea*, *Palicourea macrobotrys*, *Palicourea rigida* e *Pogonopus tubulosus* presentes na Serra de Maracaju; além de descrever a frequência e o comportamento de visitas de beija-flores às flores dessas espécies e avaliar seu potencial como polinizadores de *Pa. crocea* e *Po. tubulosus*, através do estudo do efeito do número de visitas na frutificação, na massa dos frutos e sementes e no número de sementes produzidas. A hipótese central do trabalho é que ocorre um aumento na frutificação em função do aumento no número de visitas de uma dada espécie de beija-flor.

Métodos

Local de estudo

O estudo foi conduzido na Serra de Maracaju a qual é constituída por planaltos rampeados com altitudes entre 300 e 700 m (Brasil 1997). O clima da região é tropical quente Aw de Köppen (1948) com verão chuvoso e inverno seco (Fig. 1), de acordo com o Centro de e Monitoramento de Tempo, do Clima e dos Recursos Hídricos de MS/Agência de Desenvolvimento Agrário e Extensão Rural/Instituto Nacional de Meteorologia (2010). A vegetação predominante é de cerrado sentido restrito ocorrendo contato com floresta estacional (Ribeiro & Walter 1998).

A coleta de dados foi realizada em floresta semidecídua (20°27'17.9" S, 55°29'52.8" W) e cerrado rupestre (20°26'32" S, 55°38'10" W) situados, respectivamente, nos distritos de Piraputanga e Camisão, município de Aquidauana,

Mato Grosso do Sul. A floresta semidecídua está inserida ao longo do córrego das Bruxas que deságua no rio Aquidauana, possui vegetação semidecidual com afloramentos rochosos sendo limitada por paredões (Ramos 2009). O cerrado rupestre situa-se em altitudes elevadas, apresenta solos rasos, afloramentos rochosos e predominância da vegetação de cerrado sentido restrito cuja cobertura arbórea pode variar de 5% a 70% (Ribeiro & Walter 1998).

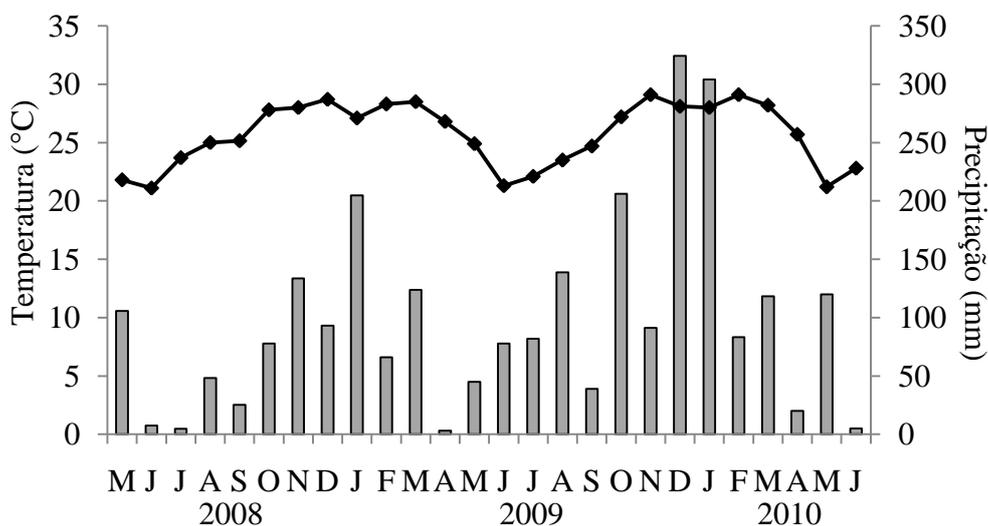


Figura 1 - Médias de temperatura (linha) e pluviosidade (barras) registradas no período de estudo para o município de Aquidauana, Mato Grosso do Sul. Fonte: Cemtec-MS/Agraer/INMET.

Espécies estudadas

Foram registradas quatro espécies ornitófilas de Rubiaceae nos locais estudados, sendo *Palicourea crocea* (Sw.) Roem. & Schult., *Palicourea macrobotrys* (Ruiz & Pav.) DC. e *Pogonopus tubulosus* (A. Rich.) K. Schum. na floresta semidecídua e *Palicourea rigida* Kunth no cerrado rupestre, não ocorrendo outras além dessas.

As três espécies de *Palicourea* possuem hábito arbustivo e *Po. tubulosus* hábito arbóreo. As flores possuem o androceu dialistêmone e epipétalo, o gineceu é do tipo simples e o estigma é bifido quando receptivo. Nas espécies de *Palicourea*, o ovário é ínfero, bilocular com um óvulo em cada lóculo e em *Po. tubulosus* o ovário é súpero, bilocular com muitos óvulos por lóculo (acima de 1.000 óvulos/lóculo).

Fenologia de floração

O estudo da fenologia de floração das espécies ornitófilas de Rubiaceae foi realizado mensalmente no período de maio de 2008 a abril de 2010 na floresta semidecídua e de junho de 2008 a maio de 2010 no cerrado rupestre. Foi demarcada uma parcela de 1.000 x 20 m (2 ha) em floresta semidecídua e uma parcela de 1.000 x 6 m (0,6 ha) em cerrado rupestre. O número de indivíduos acompanhados variou entre as espécies de acordo com a disponibilidade encontrada nos ambientes, como segue: *Pa. crocea* (n=7), *Pa. macrobotrys* (n=10), *Pa. rigida* (n=15) e *Po. tubulosus* (n=30).

Todos os indivíduos pertencentes às espécies ornitófilas de Rubiaceae encontrados nas parcelas foram marcados e tiveram registrados a altura, o número de botões, flores, frutos imaturos e maduros mensalmente. Os dados de frutificação de *Pa. rigida* foram obtidos somente para o primeiro ano de estudo (2008/2009), e em *Pa. crocea* os dados de frutificação foram obtidos nos meses de novembro e dezembro de 2009.

Morfologia e biologia floral

Registros sobre a morfologia foram tomados a partir de flores retiradas ao acaso de indivíduos diferentes, sendo que cada indivíduo contribuiu com uma única flor para a amostragem. As flores de *Pa. crocea* (n=6) foram amostradas durante os meses novembro e dezembro de 2009, *Pa. macrobotrys* (n=7) durante meses de março e abril de 2009 e abril de 2010, *Pa. rigida* (n=15) em novembro de 2009 e *Po. tubulosus* (n=30) durante meses de fevereiro e março de 2009/2010 e abril de 2010.

As flores foram analisadas em campo e em laboratório (flores fixadas em álcool a 70%). Com o auxílio de um paquímetro, foram tomadas medidas de comprimento e diâmetro de abertura da corola, e comprimento do estilete e dos filetes (Fig. 2) e as diferenças morfológicas foram testadas com auxílio da Anova (Zar 1984).

Para descrever a biologia floral, foram feitas observações em intervalos de duas horas ao longo da antese das flores a fim de registrar dados como o horário de abertura da flor, o início da receptividade estigmática e a viabilidade polínica. A receptividade do estigma foi testada com o uso de peróxido de hidrogênio 5% (Dafni *et al.* 2005) ao longo do período de antese de *Pa. macrobotrys* e *Po. tubulosus*. Para averiguar a viabilidade dos grãos de pólen foi coletado pólen em flores de *Pa. macrobotrys* às 06:00 h, 11:00 h, 16:00 h. Em *Po. tubulosus*, o pólen foi coletado às 06:00 h, 11:00 h, 16:00 h no período diurno e às 23:30 h e 03:30 h no período noturno. A viabilidade dos grãos de pólen foi determinada pela coloração resultante do contato com carmim acético (Dafni *et al.* 2005) em lâminas confeccionadas em campo e observadas em laboratório. Para duas espécies, *Pa. crocea* e *Pa. rigida*, foram registrados o comprimento da corola, o período e a duração da antese devido ao número limitado de flores para manipulação.

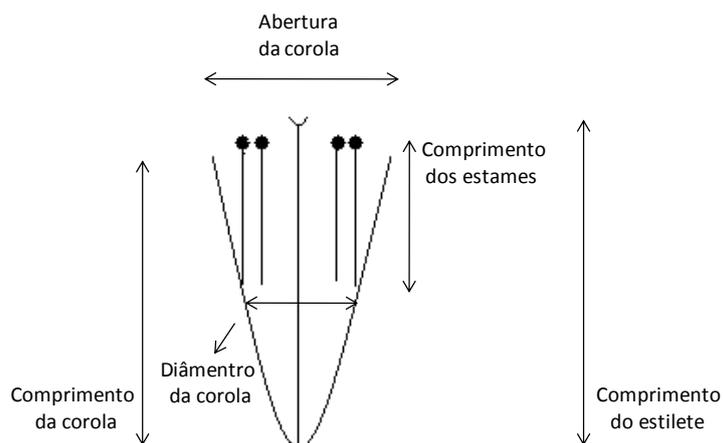


Figura 2 - Figura esquemática indicando como foram tomadas as medidas do comprimento, diâmetro e abertura da corola, comprimento dos estames e do estilete das espécies ornitófilas de Rubiaceae presentes na Serra de Maracaju, Mato Grosso do Sul.

Néctar

A produção de néctar foi acompanhada para *Pa. macrobotrys* e *Po. tubulosus*, por meio de medidas tomadas ao longo de todo o período de antese. Uma flor de cada indivíduo foi selecionada ao acaso e ensacada em pré-antese, desensacada por ocasião da antese e monitorada ao longo de um mesmo dia em *Pa. macrobotrys* (n=7) ou ao longo dos dias de antese em *Po. tubulosus*, a qual obteve variação em seu número amostral diário devido a sua longevidade. Nas medidas de néctar noturno e diurno foram utilizados dois grupos diferentes de flores. Para cada flor amostrada, foram tomadas as medidas de volume e de concentração de açúcares no néctar em intervalos de duas horas. A fim de manter o mesmo tempo de amostragem em cada flor, as medidas foram realizadas na mesma sequência. Após cada retirada, o néctar foi descartado e as flores foram ensacadas novamente para evitar o acesso aos visitantes florais.

Em outras flores ensacadas, medidas de néctar acumulado foram tomadas às 12:00 h para *Pa. crocea* (n=6), *Pa. macrobotrys* (n=7), *Pa. rigida* (n=15) e *Po.*

tubulosus (n=10), sendo que cada flor utilizada foi retirada de indivíduos diferentes. O volume e a concentração de açúcares no néctar foram avaliados separadamente para as flores de ambos os morfos das espécies distílicas, *Pa. crocea* e *Pa. rigida*. Em *Po. tubulosus*, as flores do primeiro período de antese foram as consideradas para as medidas de néctar acumulado, devido à ausência de manipulação anterior.

O volume do néctar foi medido com o auxílio de microseringa (precisão $\pm 2 \mu\text{L}$) em flores ensacadas na pré-antese. A concentração de açúcares no néctar foi medida com auxílio de refratômetro de bolso (0-32%). Para verificar se o volume e a concentração de açúcares no néctar diferem ao longo do dia foi utilizada Anova para Medidas Repetidas, e para verificar diferenças nos valores de néctar nas diferentes espécies foi realizado Teste de Kruskal-Wallis (Zar 1984).

Frequência de visitas

Os beija-flores foram registrados por meio de observações focais, num total de 15.197 minutos, durante todo o período de antese das flores, das 06:00 às 17:00 h. Os beija-flores foram identificados com o auxílio de guias de campo (Ruschi 1982; Grantsau 1988) e fotografias tomadas durante as visitas, sendo que a ordem taxonômica e a nomenclatura científica das espécies citadas seguiu o Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos (CBRO 2011). Foram registrados o horário, a frequência relativa de visitas e as taxas de visitas (número de visitas por número de flores observadas por minuto) distinguindo-as em: legítimas (polinização), quando houve contato do beija-flor com as estruturas reprodutivas das flores ou visitas ilegítimas (pilhagem), quando não ocorreu o contato (Pellmyr 2002). As flores de *Po. tubulosus* duram mais de um dia, devido a isso foi realizado uma noite de observação focal noturna em dois indivíduos

por 584 minutos (das 19:44 h às 05:30 h), a fim de verificar a presença de possíveis visitantes noturnos.

Sistema reprodutivo

Para o estudo do sistema reprodutivo foram realizados experimentos de polinização manual, com os seguintes tratamentos: autopolinização espontânea (flores ensacadas em pré-antese e deixadas intactas), autopolinização manual (pólen transferido para o estigma da mesma flor), geitonogamia (pólen transferido para outra flor do mesmo indivíduo), polinização cruzada (pólen transferido para flor de outro indivíduo), apomixia (flores emasculadas em pré-antese) e controle convencional (flores não manipuladas com livre acesso dos visitantes).

Em *Po. tubulosus* foi realizado tratamento adicional de controle (controle emasculado), cujas flores foram emasculadas e deixadas desensacadas, com livre acesso aos visitantes. Além disso, para esta mesma espécie, foram realizados dois tratamentos de polinização cruzada a fim de avaliar diferenças na carga de pólen: cruzada 1:1, cujo pólen de uma flor doadora foi transferido para uma flor receptora e cruzada 1:10, cujo pólen de uma flor doadora foi transferido para dez flores receptoras (Faria & Araujo 2009).

Para a espécie distílica *Pa. crocea* foram realizados dois tratamentos de polinização cruzada: polinização cruzada intramorfo (ilegítima) no qual foi transferido pólen para flor de outro indivíduo do mesmo morfo floral e polinização cruzada intermorfo (legítima) no qual foi transferido pólen para flor de um indivíduo de outro morfo floral.

Em todos os tratamentos, as flores foram selecionadas ao acaso, ensacadas na pré-antese e os experimentos efetuados durante a antese. As flores foram ensacadas

novamente para verificação da formação de frutos. Os resultados desses tratamentos foram comparados aos obtidos para as flores marcadas com livre acesso dos visitantes. O número de indivíduos das espécies estudadas que receberam os tratamentos variou de acordo com o tamanho da população encontrada e a quantidade de flores disponíveis. O sistema reprodutivo de *Pa. rigida* não foi avaliado, pois existe estudo que trata desse aspecto (Machado *et al.* 2010). Para verificar se a formação de frutos difere entre os tratamentos, foi utilizado o Teste Exato de Fisher. Em *Po. tubulosus*, a formação de frutos nos tratamentos de polinização cruzada 1:1 e 1:10 foi comparada através da Anova (Zar 1984).

Intensidade de polinização

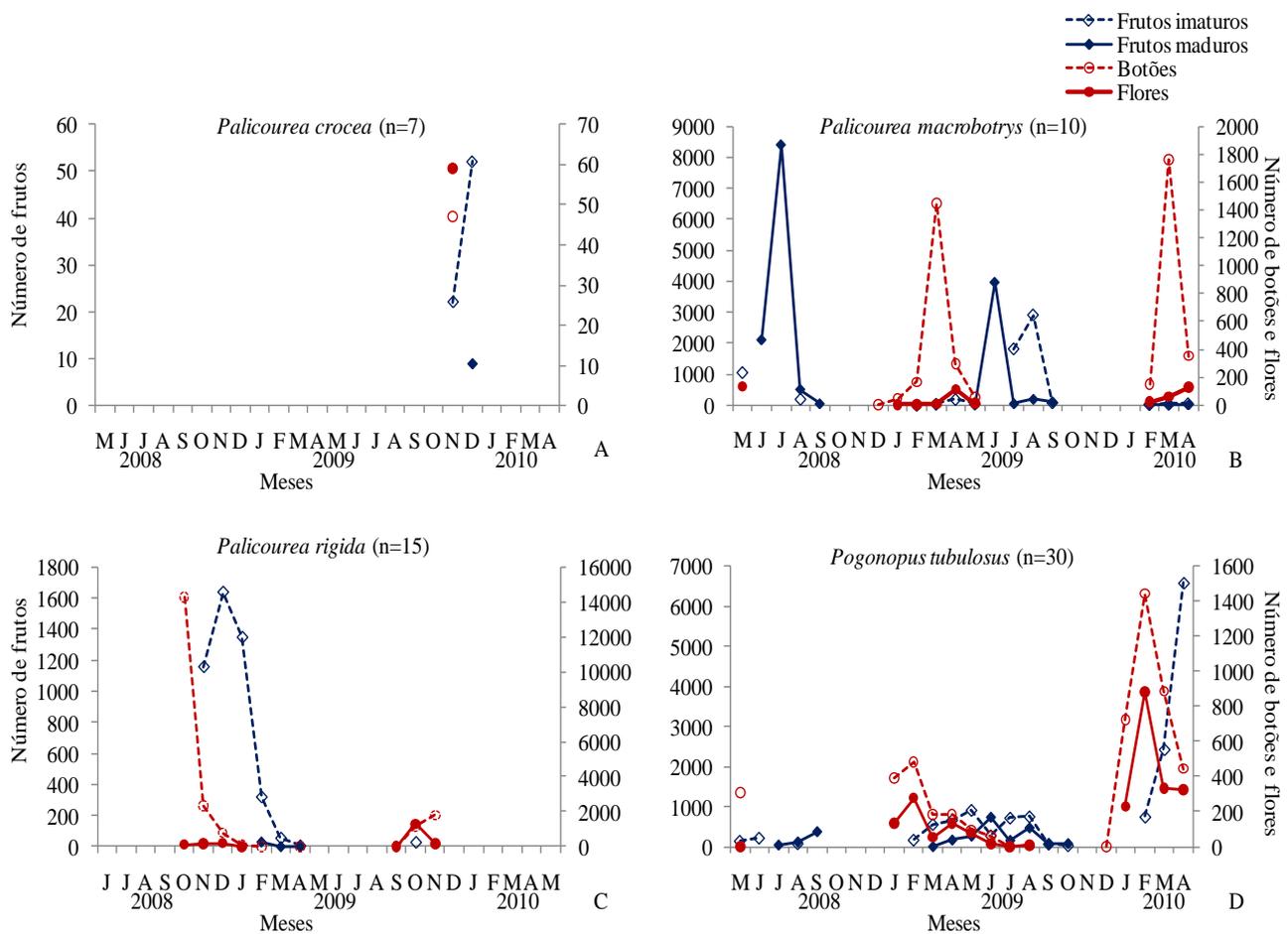
Para verificar o efeito do número de visitas de beija-flores sobre o sucesso de formação de frutos e sobre o número de sementes por fruto de *Pa. crocea* e *Po. tubulosus*, flores em pré-antese foram emasculadas e ensacadas, e por ocasião da antese foram desensacadas para a realização dos experimentos. Neste experimento foram considerados três tratamentos para avaliar a intensidade de polinização: flores que receberam uma visita, flores que receberam duas visitas e flores que receberam três visitas de beija-flor da mesma espécie de maneira legítima. Após receberem o número desejado de visitas, as flores foram novamente ensacadas e monitoradas durante dois meses em *Pa. crocea* e seis meses em *Po. tubulosus* para registrar a formação de frutos e de sementes. Para este experimento, foi considerado um indivíduo de planta para cada um dos tratamentos descritos acima. O efeito do número de visitas sobre a formação de frutos foi avaliado através do Teste Exato de Fisher. A massa dos frutos e das sementes, bem como o número de sementes produzidas entre os tratamentos foram comparados

utilizando Kruskal-Wallis e Wilcoxon a posteriori ou Anova e Tukey a posteriori (Zar 1984).

Resultados

Fenologia de floração

Palicourea macrobotrys, *Pa. rigida* e *Po. tubulosus* floresceram duas vezes, e *Pa. crocea* floresceu uma vez durante os dois anos de estudo (Fig 3). No local de estudo, estas espécies floresceram durante a estação chuvosa ou início da seca (Fig. 1). Para *Po. tubulosus*, a floração em 2010 foi mais intensa que em 2009, coincidindo com o pico das chuvas (Fig. 1), e para as demais espécies a intensidade foi semelhante nos dois anos de estudo. A frutificação de todas as espécies ocorreu logo após o pico de floração, durando em média dois meses nas espécies *Pa. macrobotrys* e *Pa. rigida* e oito meses em *Po. tubulosus* (Fig. 3).



Morfologia e biologia floral

As quatro espécies apresentam flores hermafroditas e tubulares com coloração entre amarelo e alaranjado em *Pa. crocea*, amarelo em *Pa. macrobotrys* e *Pa. rigida* ou rosa em *Po. tubulosus* (Fig. 4).

Palicourea crocea

As flores são dispostas em inflorescências do tipo panícula cimosa pedunculada terminal. São heterostílicas, pentâmeras e a corola apresentou o menor comprimento dentre as *Palicourea* estudadas (Tab. 1). Suas flores apresentam antese diurna e duração de um dia.

Palicourea macrobotrys

As flores são dispostas em inflorescências do tipo panícula cimosa piramidal terminal. São homostílicas, pentâmeras e a espécie apresentou o menor número de flores em antese por indivíduo por dia (Tab. 1). Esta espécie apresenta antese diurna, sendo que o início do processo de abertura ocorreu por volta das 05:30 h e às 08:00 h todas as flores estavam totalmente abertas. Os lobos estigmáticos iniciaram sua abertura logo após a antese (06:00 h) e estavam receptivos a partir das 06:30 h. Por volta das 15:00 h o estigma começou a escurecer, entretanto permaneceu receptivo até fim da tarde, por volta 17:00 h. A corola permaneceu vistosa até 13:00 h, quando começou a murchar, entretanto, as flores permaneceram na planta, caindo no segundo dia após a antese.

Palicourea rigida

As flores são dispostas em inflorescências cimosas pedunculadas terminais. São heterostílicas, pentâmeras e a corola apresentou o maior comprimento dentre as

Palicourea estudadas (Tab. 1). As flores possuem antese diurna sendo que às 05:00 h estavam completamente abertas e permaneceram vistosas até às 14:00 h. No segundo dia após a antese, todas as flores estavam caídas.

Pogonopus tubulosus

As flores são dispostas em inflorescências pedunculadas terminais e possuem brácteas em suas axilas. São homostílicas, pentâmeras, algumas vezes tetrâmeras e apresentam duração de três dias. O comprimento da corola não variou ($F=0,7$; $p=0,47$) entre as flores de diferentes idades (Tab. 1). De modo semelhante, o diâmetro da corola não diferiu ($F=0,44$; $p=0,65$) entre flores de diferentes idades (Tab. 1). Por outro lado, a abertura da corola foi maior ($F=5,41$; $p=0,006$) em flores de terceiro dia (Tab. 1) do que em flores de primeiro dia ($p=0,005$; Teste de Tukey a posteriori). O comprimento do estilete (Tab. 1) também diferiu ($F=21,3$; $p<0,001$) entre flores de primeiro e segundo dia ($p<0,001$). Os estames não apresentaram variação ($F=0,83$; $p=0,44$) ao longo do período de antese (Tab. 1)

A maior parte das flores de *Po. tubulosus* abre no período noturno, principalmente entre 20:00 h e 23:00 h. Entretanto, foram observadas algumas flores abrindo às 15:00 h e outras às 01:30 h.

Durante o primeiro período noturno, em que as flores estavam abertas, os filetes estavam eretos e as anteras voltadas para a parte central da flor, com as tecas fechadas. O estilete estava localizado abaixo da abertura da corola e o estigma fechado. Na manhã seguinte, por volta das 06:00 h, as tecas encontravam-se abertas e 86% dos grãos de pólen estavam viáveis. O estilete estava localizado abaixo da abertura da corola, com o estigma fechado (Fig. 5 A).

No segundo período noturno, os filetes apresentavam-se eretos, as anteras voltadas para cima com as tecas abertas e 88% do pólen viável. O estilete estava alongado, posicionado na altura da abertura floral. No segundo período diurno da antese, os filetes estavam curvados, as anteras continuavam abertas e voltadas para cima, a viabilidade dos grãos de pólen permanecia em 88% (Fig. 5 B). Os lobos estigmáticos da maioria das flores observadas começaram a abrir ao longo do dia, sem um horário padrão e após o início de sua abertura, os estigmas tornando-se bífidos e receptivos em duas horas. Aproximadamente às 17:00 h as anteras começavam a fechar e murchar.

No terceiro período noturno, a corola permanecia vistosa e as flores que ainda não estavam receptivas iniciavam o processo ao longo da noite (Fig. 5 C). Ao final do terceiro período diurno de antese, mesmo que a corola caísse, o estigma permanecia receptivo e 73% dos grãos de pólen estavam viáveis.



Figura 4 - Flores de (A) *Palicourea crocea*, (B) *Palicourea macrobotrys*, (C) *Palicourea rigida* e (D) *Pogonopus tubulosus*, espécies ornitófilas de Rubiaceae presentes na Serra de Maracaju, Mato Grosso do Sul. Fotos: (A) Eder Afonso Doná; (C) Waldemar Guimarães Barbosa Filho.

Tabela 1 - Altura (m), número de flores em antese por indivíduo por dia e características morfológicas das flores de quatro espécies ornitófilas de Rubiaceae na Serra de Maracaju, Mato Grosso do Sul. Em *Pogonopus tubulosus*, f.e. refere-se a fase estaminada (primeiro dia), f.i. refere-se a fase intermediária (segundo dia) e f.p. refere-se a fase pistilada (terceiro dia).

Espécie	Altura $x \pm dp$ (n)	Flores $x \pm dp$ (n)	Comprimento da corola $x \pm dp$ (n)			Diâmetro da corola $x \pm dp$ (n)			Abertura da corola $x \pm dp$ (n)			Comprimento do estilete $x \pm dp$ (n)			Comprimento dos estames $x \pm dp$ (n)		
			(f.e.)	(f.i.)	(f.p.)	(f.e.)	(f.i.)	(f.p.)	(f.e.)	(f.i.)	(f.p.)	(f.e.)	(f.i.)	(f.p.)	(f.e.)	(f.i.)	(f.p.)
<i>Palicourea crocea</i>	1,5 ± 0,4 (7)	11,8 ± 10,8 (5)	12,8 ± 1,4 (6)			/			/			/			/		
<i>Palicourea macrobotrys</i>	2,2 ± 0,7 (10)	1,6 ± 17,1 (10)	15,9 ± 0,7 (7)			3,7 ± 0,1 (7)			6,0 ± 1,0 (7)			11,9 ± 0,9 (7)			5,4 ± 0,3 (7)		
<i>Palicourea rigida</i>	1,7 ± 0,7 (15)	8,6 ± 11,6 (15)	16,8 ± 1,2 (15)			/			/			/			/		
<i>Pogonopus tubulosus</i>	3,5 ± 1,5 (30)	13 ± 21,9 (21)	(f.e.) 2,8 ± 3,3 (27)	(f.i.) 32,9 ± 2,6 (30)	(f.p.) 33,7 ± 3,2 (29)	(f.e.) 4,9 ± 0,6 (27)	(f.i.) 4,8 ± 0,6 (30)	(f.p.) 4,9 ± 0,55 (29)	(f.e.) 10,5 ± 2,6 (27)	(f.i.) 11,6 ± 1,6 (30)	(f.p.) 12,2 ± 1,3 (29)	(f.e.) 29,6 ± 3,6 (27)	(f.i.) 34,0 ± 4,0 (30)	(f.p.) 36,1 ± 3,9 (29)	(f.e.) 35,2 ± 3,7 (27)	(f.i.) 35,9 ± 2,8 (30)	(f.p.) 36,2 ± 2,4 (29)



Figura 5 - Flores representativas de *Pogonopus tubulosus* durante (A) primeiro período de antese (noturno e diurno), (B) segundo período de antese (noturno e diurno) e (C) terceiro período de antese (noturno e diurno).

Néctar

Palicourea macrobotrys

O volume e a concentração de açúcares no néctar de *Pa. macrobotrys* tiveram os valores mais altos no período inicial da antese, com subsequente redução no volume ($F=6,7$; $p=0,04$) e na concentração ($F=7,7$; $p=0,01$), de modo que após as 13:30 h a produção de néctar cessou (Fig. 6).

Pogonopus tubulosus

Néctar noturno - No primeiro período noturno, não houve variação no volume ($F=43,0$; $p=0,11$) e na concentração de açúcares ($F=22,2$; $p=0,08$) entre os horários de retirada de néctar (Fig. 7). No segundo período noturno somente o volume sofreu queda ($F=1551,4$; $p=0,02$) após a primeira retirada e a concentração não variou ($F=3,3$; $p=0,38$) ao longo das horas (Fig. 7). No terceiro período noturno, não houve variação no volume ($F=5,5$; $p=0,14$) e na concentração ($F=5,5$; $p=0,08$) ao longo da noite (Fig. 7).

Néctar diurno - Ao longo do primeiro período diurno de antese houve diminuição do volume ($F=10,7$; $p=0,001$) e da concentração de açúcares ($F=10,3$; $p=0,001$), que permaneceram com baixos valores ao longo do dia (Fig. 7). No segundo período diurno, tanto o volume quanto a concentração apresentaram valores iniciais semelhantes aos do primeiro dia de antese, entretanto não houve variação no volume ($F=2,6$; $p=0,19$) e na concentração de açúcares ($F=3,8$; $p=0,11$) entre os horários (Fig. 7). No terceiro período diurno, o volume ($F=2,9$; $p=0,19$) e a concentração de açúcares no néctar ($F=2,3$; $p=0,17$) não diferiram ao longo do dia (Fig. 7).

Quando comparado o somatório do volume e da concentração de néctar em flores de primeiro, segundo e terceiro período diurno, cujo néctar foi retirado a cada duas horas, houve diminuição no volume ($F=3,9$; $p=0,04$) e na concentração de açúcares ($F=5,2$; $p=0,01$) em flores no terceiro período de antese (Fig 7).

Néctar acumulado das espécies ornitófilas

Quando comparados os volumes e as concentrações de açúcares no néctar acumulado das espécies estudadas, observa-se que *Pa. macrobotrys* apresentou o menor volume ($K=12,6$; $p=0,005$) e concentração de açúcares ($F=13,7$; $p<0,001$) quando comparado ao volume ($p=0,042$; Teste de Wilcoxon a posteriori) e concentração de açúcares de *Pa. rigida* ($p=0,0003$; Teste de Tukey a posteriori) (Fig 8). *Palicourea macrobotrys* também apresentou menor volume ($p=0,01$; Teste de Wilcoxon a posteriori) e concentração de néctar acumulado ($p=0,00008$; Teste de Tukey a posteriori) quando comparado a *Po. tubulosus* (Fig 8). O volume do néctar de *Po. tubulosus* foi marginalmente superior ao de *Pa. crocea* ($p=0,058$; Teste de Wilcoxon a posteriori) (Fig. 8). *Palicourea crocea* apresentou maior concentração de açúcares no néctar acumulado que *Pa. macrobotrys* ($p=0,00001$; Tukey a posteriori) e marginalmente maior concentração também em

relação a *Pa. rigida* ($p=0,066$) (Fig. 8). O volume e a concentração de açúcares no néctar foram verificados separadamente para as espécies distílicas, *Pa. crocea* e *Pa. rigida*, entretanto foram apresentados sem distinção por não haver diferenças no volumes ($F=0,24$; $p=0,65$ e $F=0,19$; $p=0,67$) e na concentração ($F= 0,10$; $p=0,77$ e $F=0,47$; $p=0,50$) entre os morfos florais das respectivas espécies.

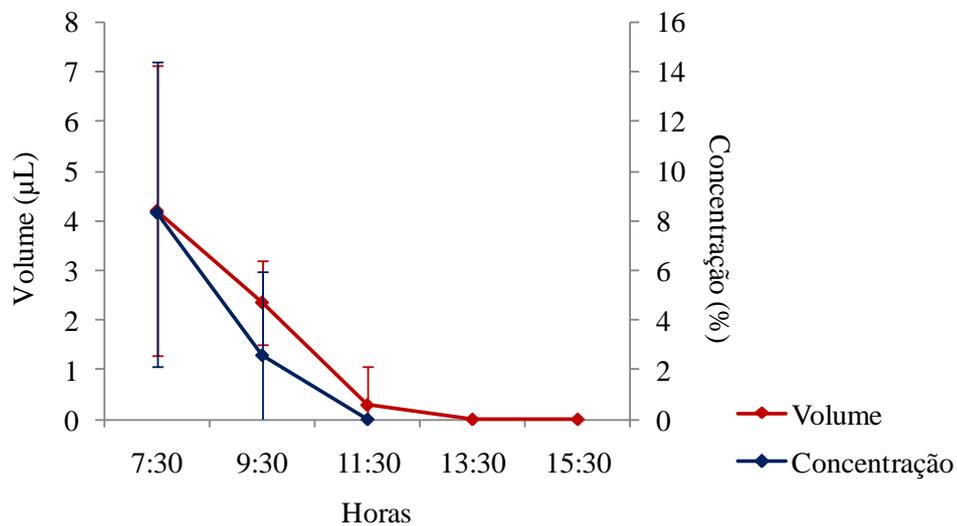


Figura 6 - Média e desvio padrão do volume e concentração de açúcares no néctar de *Palicourea macrobotrys* ($n=7$) em intervalos de duas horas na Serra de Maracaju, Mato Grosso do Sul.

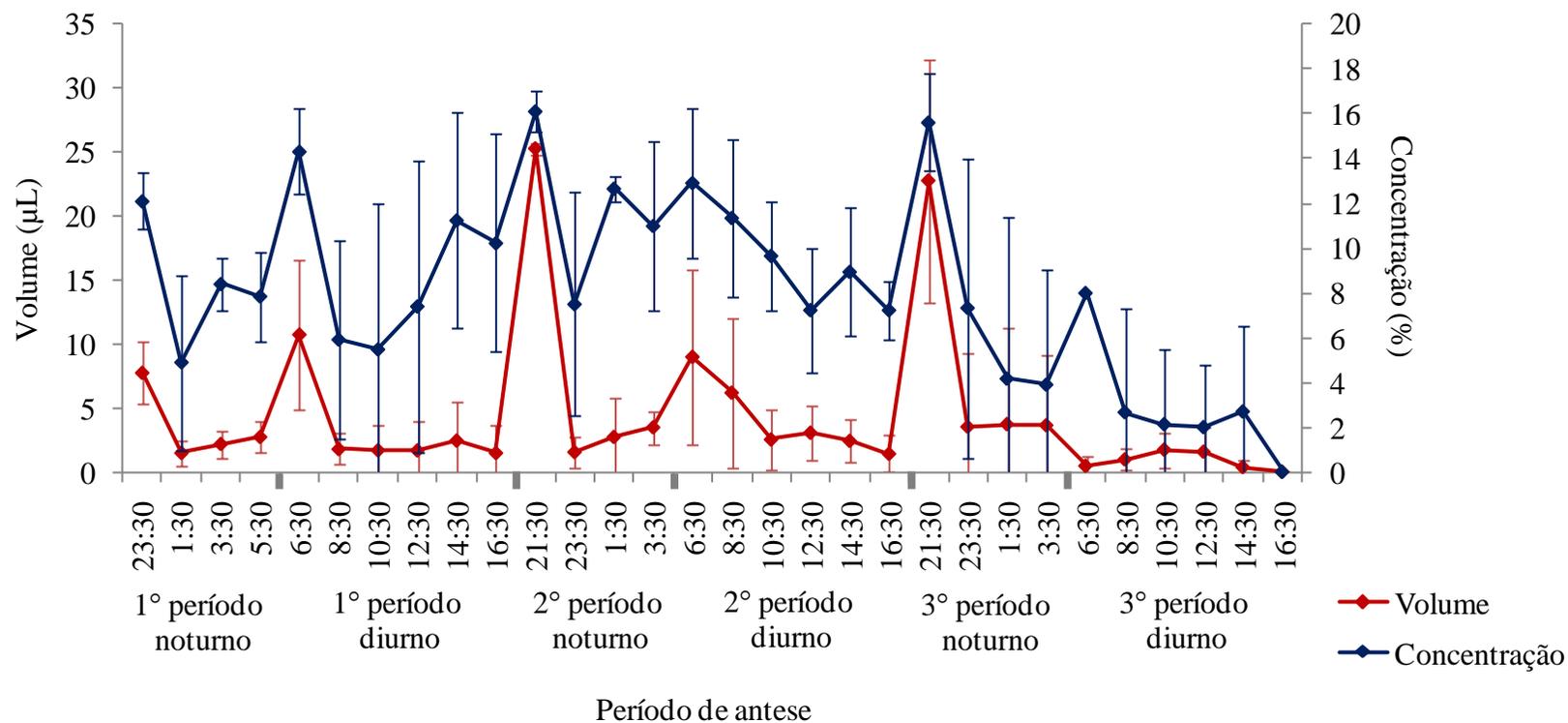


Figura 7 - Média e desvio padrão do volume e da concentração de açúcares no néctar retirado durante os períodos noturno e diurno, em intervalos de duas horas ao longo dos três dias de duração das flores de *Pogonopus tubulosus* na Serra de Maracaju, Mato Grosso do Sul. Néctar em flores de 1º período noturno (n=4), 1º período diurno (n=14), 2º período noturno (n=4), 2º período diurno (n=9), 3º período noturno (n=3) e 3º período diurno (n=3).

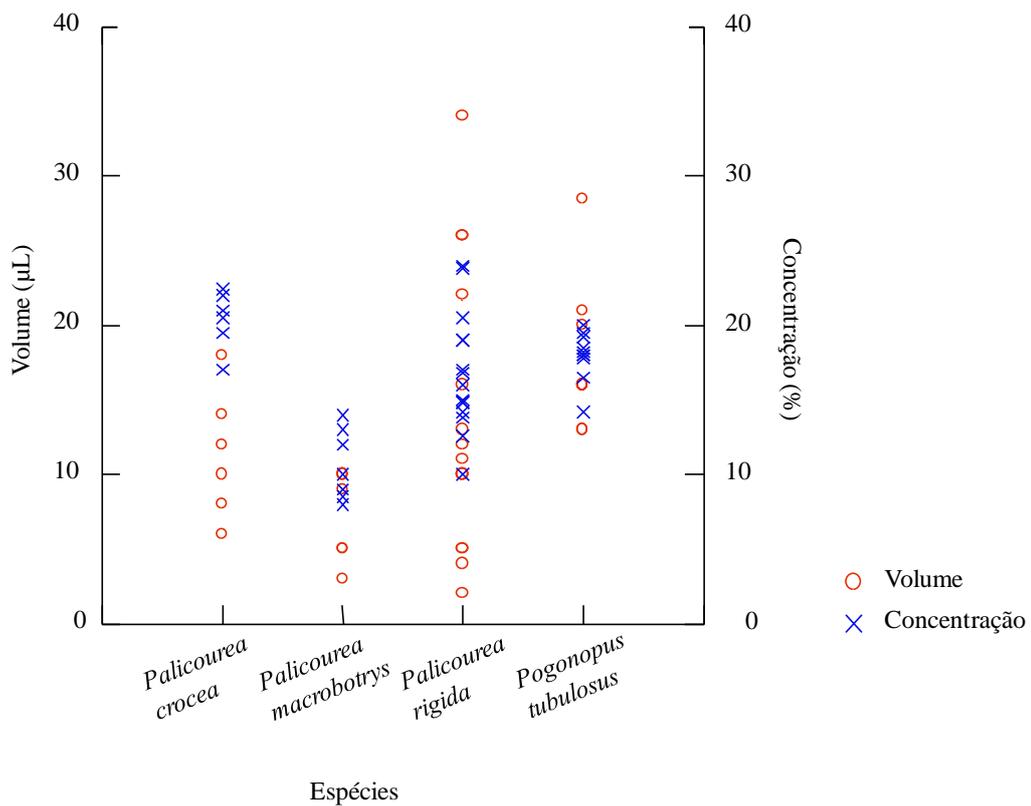


Figura 8 - Volume e concentração de açúcares no néctar acumulado em flores de único dia de *Palicourea crocea* (n=6), *Palicourea macrobotrys* (n=7) e *Palicourea rigida* (n=15) e flores de primeiro período diurno de *Pogonopus tubulosus* (n=10) na Serra de Maracaju, Mato Grosso do Sul.

Frequência de visitas

Cinco espécies de beija-flores visitaram as flores das Rubiaceae estudadas, *Phaethornis pretrei* (Lesson & Delattre), *Chrysolampis mosquitus* (Linnaeus), *Chlorostilbon lucidus* (Shaw), *Thalurania furcata* (Gmelin) e *Hylocharis chrysura* (Shaw). Machos e fêmeas de *C. lucidus* foram os visitantes mais frequentes de *Pa. rigida*, tendo realizado somente visitas legítimas (Tab. 2). Em *Pa. macrobotrys* foram registradas visitas de *P. pretrei* e de fêmeas de *T. furcata*. Embora as fêmeas de *T. furcata* tenham realizado também algumas visitas ilegítimas, foram os visitantes mais frequentes de *Pa. macrobotrys* (Tab. 2; Fig. 9). As flores de *Po. tubulosus* foram visitadas legitimamente por *P. pretrei* e por fêmeas de *T. furcata*, o visitante mais frequente dessa espécie. Machos de *T. furcata* pilharam as flores de *Po. tubulosus* (Tab. 2). Os únicos visitantes de *Pa. crocea* foram as fêmeas de *T. furcata* (Fig. 9). Foram observadas visitas ocasionais de mariposas e borboletas em flores de *Pa. rigida* e *Po. tubulosus*, e algumas flores pilhadas por abelhas em *Po. tubulosus*. Não foi observado nenhum visitante floral noturno nas flores desta espécie.

Tabela 2 - Taxa de visitas [(número de visitas por número de flores observadas por minuto) * 10.000] legítimas (l) e ilegítimas (i) de beija-flores às espécies ornitófilas na Serra de Maracaju, Mato Grosso do Sul.

Espécies de plantas				
Espécies de beija-flor	<i>Palicourea crocea</i>	<i>Palicourea macrobotrys</i>	<i>Palicourea rigida</i>	<i>Pogonopus tubulosus</i>
<i>Phaethornis pretrei</i>	/	0,19 (l)	/	0,12 (l)
<i>Chrysolampis mosquitus</i> ♂	/	/	0,12 (l)	/
<i>Chrysolampis mosquitus</i> ♀	/	/	0,04 (l)	/
<i>Chlorostilbon lucidus</i> ♂	/	/	0,63 (l)	/
<i>Chlorostilbon lucidus</i> ♀	/	/	0,64 (l)	/
<i>Thalurania furcata</i> ♂	/	/	0,51 (l)	0,37 (l) 0,11 (i)
<i>Thalurania furcata</i> ♀	0,63 (l)	8,47 (l) 0,09 (i)	0,15 (l) 0,05 (i)	0,96 (l)
<i>Hylocharis chrysur</i>	/	/	0,09 (l)	/
Tempo (minutos)	1100	793	2452	11572

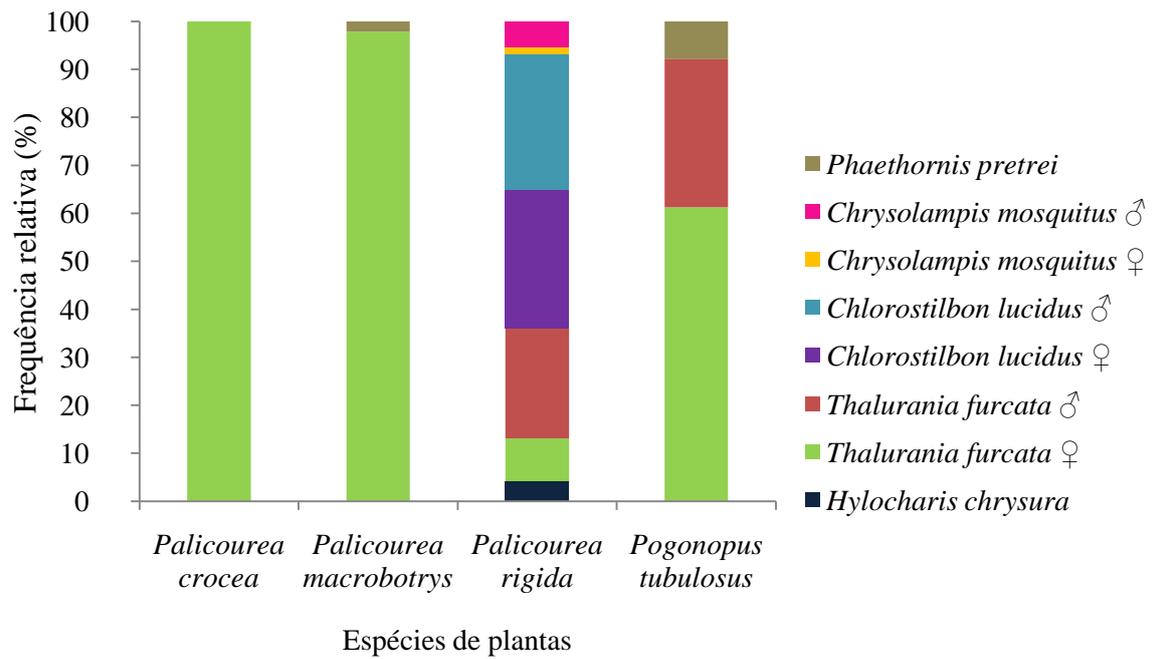


Figura 9 - Frequência relativa de visitas das espécies de beija-flores às flores de quatro espécies de Rubiaceae na Serra de Maracaju, Mato Grosso do Sul.

Sistema reprodutivo

Palicourea crocea

Os tratamentos de autopolinização espontânea e de apomixia não formaram frutos (Tab. 3). De acordo com o Teste Exato de Fisher, a formação de frutos no tratamento de controle convencional não diferiu significativamente ($p > 0,05$) em relação aos tratamentos de cruzada intramorfo, cruzada intermorfo, autopolinização manual e autopolinização espontânea (Tab. 3).

Palicourea macrobotrys

A autopolinização espontânea apresentou maior formação de frutos quando comparada ao controle convencional (Tab.4). Não houve formação de frutos somente no tratamento de apomixia (Tab. 4).

Pogonopus tubulosus

Os tratamentos de geitonogamia e de polinização cruzada 1:10 obtiveram maior sucesso na formação de frutos quando comparados ao controle convencional (Tab. 5). O controle emasculado obteve maior sucesso reprodutivo comparado à autopolinização espontânea e o único tratamento em que não houve formação de frutos foi apomixia (Tab. 5). Não houve diferença quanto à massa dos frutos ($F=0,15$; $p=0,69$), massa das sementes ($F=0,22$; $p=0,65$) ou número de sementes formadas ($F=1,28$; $p=0,27$) entre os tratamentos cruzada 1:1 e 1:10 (Tab. 5).

Tabela 3 - Formação de frutos a partir de testes de polinização artificial em flores de *Palicourea crocea* na Serra de Maracaju, Mato Grosso do Sul.

	Frutos (flores tratadas)	Frutos (%)
Cruzada intramorfo	3 (4)	75
Cruzada intermorfo	5 (6)	83
Autopolinização manual	3 (4)	75
Autopolinização espontânea	0 (7)	0
Controle convencional	2 (7)	29
Apomixia	0 (4)	0

Tabela 4 - Formação de frutos a partir de testes de polinização artificial em flores de *Palicourea macrobotrys* na Serra de Maracaju, Mato Grosso do Sul. Letras sobre-escritas diferentes indicam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$; Teste Exato de Fisher).

	Frutos (flores tratadas)	Frutos (%)
Cruzada 1:1	3 (6)	50 ^{a,b}
Autopolinização manual	5 (6)	83 ^{a,b}
Autopolinização espontânea	6 (6)	100 ^a
Controle convencional	1 (5)	20 ^b
Apomixia	0 (4)	0

Tabela 5 - Formação de frutos, massa dos frutos (g), massa das sementes (g), número total de sementes e número de sementes por fruto a partir de testes de polinização artificial em flores de *Pogonopus tubulosus* na Serra de Maracaju, Mato Grosso do Sul. Letras sobre-escritas diferentes indicam valores significativamente diferentes ($p < 0,05$; Teste Exato de Fisher).

	Frutos (flores tratadas)	Frutos (%)	Massa dos frutos $x \pm dp$ (n)	Massa das sementes $x \pm dp$ *	Nº total de sementes *	Sementes/fruto *
Cruzada 1:1	16 (20)	80 ^{a,b,c,d,e,f}	0,138 \pm 0,051 (15)	0,053 \pm 0,026	18776	1251,7 \pm 607,7
Cruzada 1:10	16 (18)	89 ^{a,c,d,e,f}	0,129 \pm 0,077 (13)	0,0469 \pm 0,034	12392	953,2 \pm 789,5
Geitonogamia	17 (19)	90 ^{a,b,c,e,f}	/	/	/	/
Autopolinização espontânea	06 (20)	30 ^{a,b,c,d,e}	/	/	/	/
Controle convencional	14 (26)	54 ^{b,d,e,f}	/	/	/	/
Controle emasculado	16 (24)	67 ^{a,b,c,d,f}	/	/	/	/
Apomixia	0 (21)	0	/	/	/	/

* Massa das sementes, Número total de sementes e Sementes/fruto possuem mesmo número amostral de Massa dos frutos.

Intensidade de polinização

Palicourea crocea

Não houve diferença na formação de frutos após uma, duas ou três visitas ($p > 0,05$; Teste Exato de Fisher) de fêmeas de *T. furcata* às flores desta espécie (Tab. 6). Não foi possível testar diferenças quanto à massa dos frutos, das sementes e o número de sementes devido ao número de frutos formados ter sido baixo.

Pogonopus tubulosus

O sucesso de formação de frutos é o mesmo quando *P. pretrei* realiza uma, duas ou três visitas na mesma flor (Tab. 7). Uma única visita de machos de *T. furcata* resultou em sucesso de frutificação semelhante ao encontrado em duas ou três visitas (Tab. 7). O mesmo ocorreu para as fêmeas, cujo percentual de frutos formados não diferiu entre uma, duas ou três visitas (Tab. 7). De acordo com Teste Exato de Fisher, não há diferença entre o número de visitas (uma, duas ou três) e a formação de frutos para um dado visitante floral ($p > 0,05$).

Não houve diferença para massa dos frutos ($F=0,6$; $p=0,5$ e $K=3,4$; $p=0,18$), massa das sementes ($F=1,1$; $p=0,43$ e $K=5,0$; $p=0,08$) e número de sementes ($F=1,9$; $p=0,30$ e $K=2,6$; $p=0,26$) em resposta ao número de visitas de, respectivamente, machos e fêmeas de *T. furcata* (Tab. 7). Entretanto a massa das sementes produzidas após três visitas de fêmeas de *T. furcata* tende a ser maior quando comparada aquela obtida após duas visitas ($p=0,067$; Teste de Wilcoxon a posteriori).

Não foi possível testar diferenças quanto à massa dos frutos, das sementes e o número de sementes em resposta a visitas de *P. pretrei* devido ao número de frutos formados ter sido baixo.

Tabela 6 - Formação de frutos, massa dos frutos (g), massa das sementes (g), número total de sementes e número de sementes por fruto a partir do teste de intensidade de polinização em flores de *Palicourea crocea* na Serra de Maracaju, Mato Grosso do Sul.

Espécie	Nº de visitas	Frutos (flores tratadas)	Frutos (%)	Massa dos frutos $\bar{x} \pm dp$ (n)	Massa das sementes $\bar{x} \pm dp$ *	Nº total de sementes *	Sementes/fruto *
	1	0 (4)	0	/	/	/	/
<i>Thalurania furcata</i> ♀	2	2 (3)	66	0,051 ± 0,002 (2)	0,029 ± 0,002	3	1,5
	3	1 (3)	33	0,042 (1)	0,022	1	1

* Massa das sementes, Número total de sementes e Sementes/fruto possuem mesmo número amostral de Massa dos frutos.

Tabela 7 - Formação de frutos, massa dos frutos (g), massa das sementes (g), número total de sementes e número de sementes por fruto a partir do teste de intensidade de polinização em flores de *Pogonopus tubulosus* na Serra de Maracaju, Mato Grosso do Sul.

Espécie	Nº de Visitas	Frutos (flores tratadas)	Frutos (%)	Massa dos frutos $x \pm dp$ (n)	Massa das sementes $x \pm dp$ *	Nº total de sementes *	Sementes/fruto *
<i>Phaethornis pretrei</i>	1	1(5)	20	/ (1)	0,016	200	200
	2	2 (5)	40	0,090 (1)	0,026	294	294
	3	2 (5)	40	0,050 (1)	0,024	668	668
<i>Thalurania furcata</i> ♂	1	3 (5)	60	0,089 ± 0,037 (3)	0,030 ± 0,019	1.905	635 ± 325
	2	2 (4)	50	0,125 ± 0,043 (2)	0,045 ± 0,017	2.018	1.009 ± 362
	3	1 (3)	33	0,082 (1)	0,011	226	226
<i>Thalurania furcata</i> ♀	1	6 (13)	46	0,135 ± 0,055 (4)	0,040 ± 0,027	3.322	830 ± 613
	2	7 (12)	58	0,090 ± 0,063 (5)	0,017 ± 0,015	2.135	427 ± 477
	3	5 (10)	50	0,196 ± 0,028 (4)	0,062 ± 0,030	5.266	1.317 ± 903

* Massa das sementes, Número total de sementes e Sementes/fruto possuem mesmo número amostral de Massa dos frutos.

Discussão

Fenologia de floração

A floração de *Pa. macrobotrys*, *Pa. rigida* e *Po. tubulosus* ao longo do estudo, indicaram que estas são anuais com floração de duração intermediária em *Pa. macrobotrys* e *Pa. rigida*, e com duração prolongada em *Po. tubulosus* (*sensu* Newstrom *et al.* 1994). O período de floração de *Pa. crocea* ao longo de dois anos sugere um padrão de floração bianual com duração breve (*sensu* Newstrom *et al.* 1994). O padrão de floração de espécies ornitófilas é, em sua maioria, anual (Buzato *et al.* 2000), com duração intermediária (Cruz *et al.* 1996; Araujo & Sazima 2003) ou prolongada (Sazima *et al.* 1995; Coelho & Barbosa 2003), o que pode permitir uma constância na disponibilidade de recursos aos polinizadores (Araujo *et al.* 1994). As espécies de Rubiaceae presentes na floresta semidecídua, juntas, disponibilizaram flores ao longo de oito meses (novembro a junho), sendo importante recurso principalmente para os beija-flores residentes (Araujo & Sazima 2003), *T. furcata* e *P. pretrei*.

Palicourea macrobotrys e *Po. tubulosus* apresentaram sobreposição no período de floração e partilharam o mesmo polinizador principal (fêmeas de *T. furcata*). A partilha de polinizadores pode ocasionar mistura de pólen e prejudicar a polinização, mesmo que as flores visitadas possuam comprimentos diferentes de corola (Murcia & Feinsinger 1996). Embora *Pa. crocea* e *Pa. macrobotrys* partilhassem o mesmo polinizador, a ausência na sobreposição em seu período de floração evitou uma possível mistura de pólen e conseqüentemente a ineficiência na polinização.

Palicourea rigida, a única espécie ornitófila registrada no cerrado rupestre, teve período de floração curto, aproximadamente três meses (outubro a dezembro), diferindo do registrado em estudo realizado no Brasil Central, onde floresceu por sete meses (Machado *et al.* 2010). No entanto, podem ocorrer mudanças na duração da floração de

espécies tropicais com ampla distribuição (Machado *et al.* 2010) devido à exposição de diferentes pressões ambientais. A floração de espécies ornitófilas possui alto custo (Rocca & Sazima 2010) devido à presença de flores grandes e recursos mais energéticos, e pode ser limitante em ambientes frios, com baixa produtividade de plantas e em solos pobres em nutrientes (Cronk & Ojeda 2008).

A floração das espécies do presente estudo concentrou-se durante toda a estação chuvosa e início da seca, como em outros estudos realizados na Floresta Atlântica (Martin-Gajardo & Morellato 2003; Pereira *et al.* 2006). A floração em períodos chuvosos pode estar associada ao fato que os primórdios florais, estagnados durante seca, desenvolvem-se no início da estação chuvosa, devido ao aumento da umidade no ambiente (Pereira *et al.* 2008). Em florestas tropicais a precipitação favorece o aumento de nutrientes no solo devido à decomposição da serrapilheira (Morellato 1992), o que pode induzir a floração de diversas espécies ornitófilas, como sugerido em estudos cujo pico de floração ocorreu na estação chuvosa (Sazima *et al.* 1995; Cruz *et al.* 1996; Buzato *et al.* 2000; Araujo & Sazima 2003).

Morfologia e biologia floral

As características florais das espécies de Rubiaceae estudadas, como corola tubular de coloração vistosa (amarelo, vermelho ou rosa), ausência de odor, antese diurna bem como a posição terminal das flores na inflorescência, estão de acordo com os atributos florais descritos para síndrome de ornitofilia (Faegri & van der Pijl 1979; Rocca & Sazima 2010).

Em *Po. tubulosus*, as flores estão abertas e funcionais também durante o período noturno, características associadas às síndromes de quiropterofilia e esfingofilia (Faegri & van der Pijl 1979). Apesar de oferecer recursos para polinizadores alternativos, não

foi observado visitantes noturnos nas flores de *Po. tubulosus* possivelmente devido a ausência de odor. O fato de suas flores possuírem antese assincrônica, com produção de néctar em todas as fases da antese, permite a oferta de recursos aos polinizadores durante todo o período de antese das flores, de modo semelhante ao registrado para *Manettia luteorubra* que também possui flores com antese assincrônica e produção de néctar ao longo de quatro dias de duração da flor (Passos & Sazima 1995).

A protandria é uma característica comumente observada em espécies de Rubiaceae ornitófilas como *Pentagonia macrophylla* (McDade 1986) e *Ferdinandusa speciosa* (Castro & Oliveira 2001). As flores de *Po. tubulosus* são protândricas e, mesmo após o segundo dia de antese, quando se inicia a fase feminina, não foi observada a retração dos estames ou inviabilidade dos grãos de pólen, demonstrando que a separação das estruturas sexuais é classificada como incompleta, devido à sobreposição das fases masculina e feminina (Lloyd & Webb 1986).

As flores do gênero *Palicourea* estudadas apresentaram antese sincrônica o que, juntamente com a presença de cores contrastantes, podem ampliar a atração visual para os beija-flores (Coelho & Barbosa 2003). Além disso, a similaridade no período de floração e na morfologia floral entre os morfos de *Pa. crocea* e *Pa. rigida* também podem favorecer a localização das flores pelos polinizadores, como registrado em *Palicourea longepedunculata* (Silva *et al.* 2010), sugerindo facilitação nos serviços de polinização entre as espécies.

Facilitação e competição entre espécies de plantas pelos serviços de polinização constituem dois extremos de um contínuo que varia em função da densidade populacional (Rathcke 1983). Espécies que compartilham características florais podem coexistir e, ao invés de competirem pelos serviços do polinizador, podem ter sua polinização facilitada (Rathcke 1983; Callaway 1995), caso a atração do polinizador

seja maior em plantas com características florais menos diversificadas (Schemske 1981).

Embora a distilia seja considerada comum às espécies de *Palicourea* (Taylor 1997), alguns estudos vêm demonstrando a presença da homostilia no gênero. A população de *Pa. macrobotrys* estudada possuiu flores homostílicas, assim como o registrado em algumas populações no Cerrado (Coelho & Barbosa 2003; Consolaro *et al.* 2009). É possível que *Pa. macrobotrys* tenha passado por uma quebra da distila tornando-se homostílica (Consolaro *et al.* 2009). A ausência de reciprocidade no posicionamento do estigma e anteras e o fluxo de pólen em desequilíbrio são fatores que podem levar a essa quebra (Consolaro *et al.* 2009). A quebra da distila é um processo que pode ocorrer em populações isoladas, ou pode se tornar característico da espécie (Ganders 1979; Coelho & Barbosa 2003). Entretanto, ainda não se pode afirmar que *Pa. macrobotrys* seja de fato uma espécie homostílica, sendo necessários estudos em outras populações localizadas em diferentes regiões geográficas para confirmar essa característica (Coelho & Barbosa 2003).

Néctar

Em *Pa. macrobotrys* a oferta máxima de néctar no início da manhã e a ausência deste recurso após as 12:00 h pode ter sido afetada pela remoção de néctar (Freitas e Sazima 2001). A remoção de néctar em intervalos de duas horas, semelhante ao que ocorreria em flores abertas aos visitantes florais, pode diminuir a produção de néctar ao longo da manhã, como encontrado em outras espécies ornitófilas (Freitas & Sazima 2001; McDade & Weeks 2004). A quantidade de néctar disponível pela manhã e ausência da renovação de néctar a tarde sugere que as flores de *Pa. macrobotrys* estimulem mais

visitas de polinizadores no período matutino, e de fato, todas as visitas de beija-flores ocorreram neste período.

Apesar da redução nos valores de volume e concentração de açúcares no néctar em *Po. tubulosus* após as primeiras retiradas de néctar pelo manipulador, suas flores continuaram a produzir este recurso ao longo dos três dias e noites de sua longevidade, demonstrando que *Po. tubulosus* é capaz de repor o néctar possivelmente exaurido pelas visitas dos beija-flores (McDade & Weeks 2004), ao contrário de *Pa. macrobotrys*, que não produz néctar ao longo de toda sua antese. A diminuição na produção de néctar ao longo do tempo em flores com longa duração também é conhecida para outras espécies (McDade 1986; Castro & Oliveira 2001; Freitas & Sazima 2001; Ornelas & Ordano 2007). A implicação dessa baixa, porém constante produção de néctar, para a polinização depende de como os visitantes florais responderão aos padrões de recompensa (McDade & Weeks 2004).

Os valores de volume e concentração de açúcares no néctar acumulado de *Pa. crocea*, *Pa. macrobotrys*, *Pa. rigida* e *Po. tubulosus* são semelhantes aos registrados para outras espécies ornitófilas de Rubiaceae (Passos & Sazima 1995; Castro & Oliveira 2001; Ornelas *et al.* 2004; Consolaro *et al.* 2009), entretanto são menores quando comparados ao obtido para espécies ornitófilas da Mata Atlântica (Buzato *et al.* 2000). Dependendo da densidade de flores, baixos valores de volume e de concentração de açúcares no néctar estimulam maior deslocamento dos beija-flores, a fim de saciar suas necessidades energéticas (Murcia 1996). Esta característica pode instigar beija-flores a adotar o modo de forrageamento em linhas de captura (“trapliner” *sensu* Feinsinger & Colwell 1978), que pode ser vantajoso do ponto de vista da planta, pois aumenta as chances de ocorrer polinização cruzada (Linhart 1973).

O menor volume e concentração de açúcares no néctar de *Pa. macrobotrys*, comparados aos de *Pa. rigida* e *Po. tubulosus*, e o fato desta ser homostílica e autocompatível, pode diminuir sua dependência de visitantes florais para a reprodução (Baker 1955), sugerindo menor vulnerabilidade em relação aos serviços de polinização. Por outro lado, *Pa. crocea* possui floração de duração breve e é distílica, características que tornam essa espécie dependente da atuação de polinizadores para que ocorra a polinização cruzada entre indivíduos de morfos florais diferentes. A maior concentração de açúcares no néctar encontrada em *Pa. crocea* pode compensar o curto período de floração e a baixa quantidade de flores em antese, sendo o suficiente para atrair e manter seus polinizadores (Franceschinelli 2005).

Frequência de visitas

Os Trochilinae foram os principais visitantes florais das espécies ornitófilas de Rubiaceae na Serra de Maracaju, assim como o registrado em estudos realizados na Mata Atlântica e no Cerrado (Freitas & Sazima 2001; Castro & Araujo 2004; Consolaro *et al.* 2009).

Na floresta semidecídua, fêmeas de *T. furcata* foram observadas durante sete meses ao longo do período de estudo e foram os visitantes mais frequentes tanto de *Pa. crocea* quanto de *Pa. macrobotrys* e *Po. tubulosus*, evidenciando seu potencial como polinizador e sua consequente importância para o sucesso reprodutivo destas espécies de Rubiaceae. Outros estudos também apontaram *T. furcata* como um dos principais polinizadores de espécies de Rubiaceae ornitófilas devido à sua frequência e comportamento de visitas (Coelho 2007; Consolaro *et al.* 2009).

Em *Po. tubulosus*, as fêmeas de *T. furcata* apresentaram comportamento de forrageamento em linhas de captura (“trapliner” *sensu* Feinsinger & Colwell 1978)

visitando flores em intervalos constantes, que variaram de dez minutos no início da floração a duas horas ao final, além de seguirem uma rota de visitas razoavelmente fixa, como observado em outros estudos (Sazima *et al* 1996; Coelho 2007). Este comportamento apresentado por *T. furcata* pode ser mais eficiente para a reprodução de *Po. tubulosus* devido à frequência constante com que visitou as flores desta espécie (Linhart 1973).

Flores de *Po. tubulosus* possuem diversas características associadas à polinização por beija-flores (Faegri & van der Pijl 1979), entretanto, a funcionalidade das flores durante o período noturno diverge das características relacionadas à síndrome de ornitofilia. Há na literatura casos de espécies que possuem antese noturna e diurna, sendo polinizadas tanto por visitantes diurnos, no caso beija-flores, como também por visitantes noturnos, como os morcegos (Sazima *et al.* 1994; Dar *et al.* 2006). Tais espécies apresentam características florais intermediárias entre as síndromes de ornitofilia e quiropterofilia (Sazima *et al.* 1994). Apesar de *Po. tubulosus* produzir pólen e néctar, e da funcionalidade de suas flores, não foi observado nenhum visitante floral no período noturno. Possivelmente *Po. tubulosus* pode ser considerada uma espécie “em transição” (Sazima *et al.* 1994), pois foi visitada somente por beija-flores, assim como *Paliavana sericiflora* a qual também foi polinizada somente por visitantes diurnos mesmo que tenha características relacionadas a polinização por vetores noturnos, como por exemplo corola com ampla abertura e coloração esverdeada com pontos roxos, além da produção de grande quantidade de néctar (SanMartin-Gajardo & Sazima 2005).

As fêmeas de *T. furcata* foram os únicos vetores de pólen registrados durante as observações focais em *Pa. crocea*, fato este que pode ser consequência do curto período de floração desta espécie. Os frequentes registros visuais de *T. furcata* na floresta semidecídua demonstram a versatilidade de *T. furcata* que pode ser considerada

residente, além de organizadora das espécies ornitófilas estudadas (cf. Sazima *et al.* 1995; Rocca-de-Andrade 2006).

Palicourea macrobotrys foi a espécie que apresentou maior frequência de visitas por *T. furcata*. As poucas flores abertas por indivíduo por dia e os baixos valores de volume e concentração de açúcares no néctar apresentados podem ter influenciado *T. furcata* a visitar mais flores de *Pa. macrobotrys*, a fim de satisfazer suas necessidades energéticas

Palicourea rigida, única espécie de Rubiaceae ornitófila amostrada no cerrado rupestre, foi visitada pelo maior número de espécies de beija-flores. Este resultado pode estar associado ao fato de não ocorrerem outras espécies ornitófilas de Rubiaceae no local (obs. pess.), de modo que seja um recurso importante para os beija-flores. Desta forma é provável que esteja ocorrendo competição entre os troquilídeos do cerrado rupestre pelo uso dos recursos oferecidos por essa espécie.

Sistema reprodutivo

Os resultados indicam que *Pa. crocea* pode ser considerada autocompatível devido à formação de frutos a partir da autopolinização manual. Além disso, não foi observado incompatibilidade intramorfo em *Pa. crocea*, pois não houve diferenças em relação aos cruzamentos intermorfo e intramorfo, demonstrando que o sistema de incompatibilidade intramórfico, uma das características associadas à heterostilia (Ganders 1979), não está bem definido nesta população.

Palicourea macrobotrys é uma das poucas espécies do gênero que pode ser considerada homostílica, além de *Palicourea alpina* devido ao posicionamento das anteras e estigma no mesmo nível (Consolaro *et al.* 2009). Além disso, a autocompatibilidade da espécie foi demonstrada pelo sucesso reprodutivo na

autopolinização manual. Estes resultados corroboram com o que foi encontrado em outro estudo realizado em área de Cerrado (Coelho & Barbosa 2003), evidenciando a homostilia e a autocompatibilidade em mais uma população de *Pa. macrobotrys*.

A menor formação de frutos em condições naturais comparada à formação de frutos resultante da autopolinização espontânea de *Pa. macrobotrys* pode se dever ao fato que as flores abertas a polinizadores se tornaram vulneráveis a presença de herbívoros (Mothershead & Marquis 2000). Estes danos podem diminuir a atratividade das flores para polinizadores (Mothershead & Marquis 2000), além de inviabilizar a polinização, no caso de injúrias às estruturas reprodutivas (Nara & Webber 2002). De fato, ao longo do período de estudo foram observadas algumas inflorescências inteiramente herbivoradas (obs. pess.).

Pogonopus tubulosus pode ser considerada autocompatível, pois a geitonogamia foi o tratamento de maior sucesso reprodutivo. Embora a espécie apresente protandria, mecanismo que diminui a possibilidade de ocorrer contato da antera com o estigma (Lloyd & Webb 1986), ela é autocompatível, assim como *Ferdinandusa speciosa* (Castro & Oliveira 2001). Entretanto, depende dos beija-flores para a sua polinização, resultado evidenciado pelo alto sucesso reprodutivo do controle emasculado quando comparado à autopolinização espontânea.

A menor produção de frutos no controle convencional comparado aos tratamentos de polinização manual (cruzada 1:10 e geitonogamia) em *Po. tubulosus*, sugere limitação polínica em flores polinizadas sob condições naturais quando comparadas às polinizadas manualmente (Bierzychudek 1981), indicativo de deficiência nos serviços de polinização (Castro & Oliveira 2001).

O sucesso reprodutivo obtido para controle convencional e controle emasculado indicou que as flores com anteras presentes obtiveram a mesma formação de frutos que

as das flores emasculadas. Isto demonstra que, mesmo com a possibilidade de ocorrer autopolinização no controle convencional, sua produção de frutos foi equivalente a do controle emasculado, o qual necessita da deposição de pólen de outras flores para frutificar, evidenciando que *Po. tubulosus* é dependente da polinização para formação de frutos.

A ausência de diferenças na produção de frutos, massa dos frutos, massa das sementes e número de sementes entre tratamentos de Cruzada 1:1 e 1:10 demonstrou que *Po. tubulosus* não é condicionada pelas diferentes cargas de pólen. Espécies com superabundância de óvulos requerem maior quantidade de grãos de pólen para fecundar a maioria de seus óvulos (Ramírez & Berry 1995), entretanto isto não se aplica a *Po. tubulosus*, pois a deposição de pequena quantidade de grãos de pólen foi o suficiente para assegurar a formação de frutos e sementes nessa espécie.

Intensidade de polinização

A ausência de diferenças na formação de frutos em *Pa. crocea* em relação ao aumento do número de visitas de fêmeas de *T. furcata* pode estar associado ao pequeno número de indivíduos encontrados, o que implica em uma possível redução no fluxo de pólen nesta população. De acordo com “Allee effect”, populações pequenas estão sujeitas a uma baixa fecundidade e conseqüentemente a um decréscimo na sua reprodução (cf. Courchamp *et al.* 1999).

Além disso, o fato de não terem sido encontradas diferenças na formação de frutos em *Po. tubulosus* a partir de experimentos de intensidade com machos de *T. furcata* e *P. pretrei* podem indicar que apenas uma visita às flores é o suficiente para fecundar parte de seus óvulos. Em um estudo realizado na Serra de Maracaju foi observado que o pólen de *Po. tubulosus* foi depositado em locais diferentes no corpo de

beija-flores, sendo que os machos de *T. furcata* apresentaram pólen no bico e na cabeça, e em *P. pretrei* foi encontrado grãos de pólen no bico, na cabeça e na garganta (Doná 2011). Isso pode ser resultado da mudança de posição das anteras no decorrer da antese (Fig. 5), ou ainda devido a variações morfológicas dos beija-flores (Wilson & Thomson 1991). A deposição de pólen em diferentes regiões do corpo dos beija-flores possivelmente influenciou negativamente a eficiência na polinização destas espécies, tendo em vista que parte dos grãos de pólen provavelmente foram desperdiçados por não entrarem em contato com estigma das flores visitadas.

Nos experimentos realizados após visitas de fêmeas de *T. furcata* também não houve diferenças no sucesso de formação de frutos, nem para massa do fruto, massa da semente e número de sementes por fruto. Esta ausência de relação pode indicar que poucos ou muitos grãos de pólen depositados no estigma irão fecundar invariavelmente a mesma quantidade de óvulos, como foi observado nos tratamentos de cruzada 1:1 e cruzada 1:10. Entretanto, é possível que seja necessário maior número de visitas para aumentar o sucesso de frutificação (Faria & Araujo 2009), visto que o sucesso reprodutivo obtido pelas flores através dos experimentos de intensidade de polinização foi semelhante ao controle, que por sua vez diferiu do tratamento de polinização artificial cruzada, no qual houve manipulação da carga de pólen.

As diferentes idades das flores de *Po. tubulosus* também podem explicar estes resultados, pois mesmo que haja pólen viável ao longo dos três dias de duração da flor, há considerável redução na quantidade de pólen disponível entre o segundo e terceiro dia da antese (obs. pess.). Isso levaria a um esgotamento da quantidade de grãos de pólen nas anteras após algumas visitas ao longo dos dias de duração da flor (Bell 1985). Desta forma, a pequena quantidade de grãos de pólen depositada no estigma das flores pode estar mais relacionada com a redução do pólen nas flores doadoras, do que com a

eficiência da deposição através do número de visitas que um dado polinizador realiza na flor receptora.

A floração de *Pa. macrobotrys* se sobrepôs à de *Po. tubulosus* e ambas foram polinizadas principalmente por fêmeas de *T. furcata*. Dessa forma, pode também ter ocorrido mistura de pólen dessas duas espécies (Murcia & Feinsinger 1996) na carga de pólen carregada por esse beija-flor, o que poderia afetar negativamente a intensidade de polinização de *Po. tubulosus* no local de estudo.

Conclusões

Palicourea macrobotrys, *Pa. rigida* e *Po. tubulosus* apresentaram padrão de floração anual, e *Pa. crocea* apresentou floração bianual. *Pogonopus tubulosus* teve floração com duração prolongada e foi importante provedora de recursos ao longo do ano para os beija-flores. Os beija-flores da subfamília Trochilinae foram os principais visitantes das espécies ornitófilas estudadas e *T. furcata* foi considerado um potencial polinizador devido à frequência e ao comportamento de visitas. Experimentos de polinização cruzada 1:1 e 1:10 em *Po. tubulosus* indicaram que as diferentes cargas de pólen não resultaram em uma frutificação diferencial, entretanto a menor frutificação em flores polinizadas em condições naturais quando comparada aos tratamentos de polinização manual indicou limitação polínica em *Po. tubulosus*. Nos experimentos de intensidade de polinização, não foram observadas diferenças na formação de frutos em função do número de visitas realizadas pelos beija-flores, o que sugere que uma única visita é suficiente para fecundar parte de seus óvulos. Esse resultado pode ainda ser influenciado pela deposição de grãos de pólen em locais diferentes no corpo dos beija-flores e também pela sobreposição na floração de *Po. tubulosus* e *Pa. macrobotrys*, o que pode ter ocasionado a mistura de pólen e prejudicado a intensidade de polinização.

Referências Bibliográficas

- Araujo, A.C.; Fischer, E.A. & Sazima, M. 1994. Floração sequencial e polinização de três espécies de *Vriesea* (Bromeliaceae) na região de Juréia, sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica** 17: 113-118.
- Araujo, A.C. & Sazima, M. 2003. The assemblage of flowers visited by hummingbirds in the “capões” of Southern Pantanal, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Flora** 198: 427-435.
- Baker, H.G. 1955. Self-compatibility and establishment after long distance dispersal. **Evolution** 9: 347-348.
- Bawa, K.S. & Beach, J.H. 1983. Self-incompatibility systems in the Rubiaceae of a Tropical lowland wet forest. **American Journal of Botany** 70: 1281-1288.
- Bell, G. 1985. On the function of flowers. **Proceedings of the Royal Society of London B** 224: 223-265.
- Bierzzychudek, P. 1981. Pollinator limitation of plant reproductive effort. **American Naturalist** 117: 838-840.
- Brasil. 1997. Ministério do Meio Ambiente. **Plano de Conservação da Bacia do Alto Paraguai** - PCBAP/Projeto Pantanal. Diagnóstico dos meios físico e biótico. Brasília: PNMA.
- Buzato, S.; Sazima, M. & Sazima, I. 2000. Hummingbird-pollinated floras at three Atlantic Forest sites. **Biotropica** 32: 824-841.
- Callaway, R.M. 1995. Positive interactions among plants. **Botanical Review** 61: 306-349.
- Castro, C.C & Oliveira, P.E.A.M. 2001. Reproductive biology of the protandrous *Ferdinandusa speciosa* Pohl (Rubiaceae) in southeastern Brazil. **Revista Brasileira de Botânica** 24: 167-172.

- Castro, C.C. & Araujo, A.C. 2004. Distyly and sequential pollinators of *Psychotria nuda* (Rubiaceae) in the Atlantic rain forest, Brazil. **Plant Systematics and Evolution** 244: 131-139.
- Cemtec-MS/Agrae/INMET. 2010. **Centro de Monitoramento de Tempo, do Clima e dos Recursos Hídricos de Mato Grosso do Sul**. Agência de Desenvolvimento Agrário e Extensão Rural. Instituto Nacional de Meteorologia. <http://www.agraer.ms.gov.br/cemtec> (dados acessados em 17/11/2010).
- Coelho, C.P. & Barbosa, A.A.A. 2003. Biologia reprodutiva de *Palicourea macrobotrys* Ruiz & Pavon (Rubiaceae): um possível caso de homostilia no gênero *Palicourea* Aubl. **Revista Brasileira de Botânica** 26: 403-413.
- Coelho, C.P. 2007. *Thalurania furcata* (Trochilidae) como principal visitante de *Palicourea macrobotrys* (Rubiaceae). **Revista Brasileira de Biociências** 5: 177-179.
- Comitê Brasileiro de Registros Ornitológicos. 2011. **Listas das Aves do Brasil**. 10ª edição. <http://www.cbro.org.br/CBRO/pdf/AvesBrasil2011.pdf> (acesso em 10/02/2011).
- Consolaro, H.; Toledo, R.D.P.; Ferreguti, R.L.; Hay, J. & Oliveira, P.E. 2009. Distilia e homostilia em espécies de *Palicourea* Aubl. (Rubiaceae) do Cerrado do Brasil Central. **Revista Brasileira de Botânica** 32: 677-689.
- Courchamp, F.; Clutton-Brock, T. & Grenfell, B. 1999. Inverse density dependence and the Allee effect. **Tree** 14: 405-410.
- Cronk, Q. & Ojeda, I. 2008. Bird-pollinated flowers in an evolutionary and molecular context. **Journal of Experimental Botany** 59: 715-727.
- Cruz, D.D.; Mello, M.A.R & Sluys, M.V. 1996. Phenology and floral visitors of two sympatric *Heliconia* species in the Brazilian Atlantic forest. **Flora** 201: 519-527.

- Dafni, A.; Kevan, P.G.; Husband, B.C. 2005. **Practical pollination biology**. Enviroquest Ltd.
- Dar, S.; Arizmendi, M.C. & Valiente-Banuet, A. 2006. Diurnal and nocturnal pollination of *Marginatocereus marginatus* (Pachycereeae: Cactaceae) in Central Mexico. **Annals of Botany** 97: 423-427.
- Delprete, P.G. & Cortés-B, R. 2006. A synopsis of the Rubiaceae of the states of Mato Grosso and Mato Grosso do Sul, Brazil, with a key to genera, and a preliminary species list. **Revista de Biologia Neotropical** 3: 13-96.
- Doná, E.A. 2011. **Comunidade de beija-flores e de espécies ornitófilas em dois ambientes na Serra de Maracaju, Mato Grosso do Sul**. Dissertação de Mestrado em Ecologia e Conservação. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.
- Engel, E.C. & Irwin, R.E. 2003. Linking pollinator visitation rate and pollen receipt. **American Journal of Botany** 90: 1612–1618.
- Faegri, K. & van der Pijl, L. 1979. **The principles of pollination ecology**. England, Oxford: Pergamon Press.
- Faria, R.R. & Araujo, A.C. 2009. Pollination ecology of *Ruellia angustiflora* (Ness) Lindau ex Rambo (Acanthaceae) in the Serra da Bodoquena, Mato Grosso do Sul, Brazil. **Flora** 205: 106-111.
- Feinsinger, P. & Colwell, R.K. 1978. Community organization among neotropical nectar-feeding birds. **American Zoologist** 18: 779-795.
- Fenster, C.B.; Armbruster, W.S.; Wilson, P.; Dudash, M.R.E. & Thomson, J.D. 2004. Pollination syndromes and floral specialization. **Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics** 35: 375-403.

- Franceschinelli, E.V. 2005. The pollination biology of two species of *Helicteres* (Malvaceae) with different mechanisms of pollen deposition. **Flora** 200: 65-73.
- Freitas, L. & Sazima, M. 2001. Nectar features in *Esterhazyia macrodonta*, a hummingbird-pollinated Scrophulariaceae in Southeastern Brazil. **Journal of Plant Research** 114: 187-191.
- Fumero-Cabán, J.J. & Meléndez-Ackerman, E.J. 2007. Relative pollination effectiveness of floral visitors of *Pitcairnia angustifolia* (Bromeliaceae). **American Journal of Botany** 94: 419-424.
- Ganders, F.R. 1979. The biology of heterostyly. **New Zealand Journal of Botany** 17: 607-635.
- Gómez, J.M. 2002. Generalización en las interacciones entre plantas y polinizadores. **Revista Chilena de Historia Natural** 75: 105-116.
- Grantsau, R. 1988. **Os beija-flores do Brasil**. Rio de Janeiro: Editora Expressão e Cultura.
- Gross, P. 2005. Pollination effectiveness. In: A. Dafni; P.G. Kevan; B.C. Husband (eds.). **Practical Pollination Biology**. Cambridge, Ontario Enviroquest.
- Herrera, C.M. 1987. Components of pollination “quality”: comparative analysis of a diverse insects assemblage. **Oikos** 50: 79-90.
- Inouye, D.W.; Gill, D.E.; Dudash, M.R. & Fenster, C.B. 1994. A model and lexicon for pollen fate. **American Journal of Botany** 81: 1517-1530.
- Köppen, W. 1948. **Climatologia**. México, Editora Iondo de Cultura Econômica.
- Linhart, Y.B. 1973. Ecological and behavioral determinants of pollen dispersal in hummingbird-pollinated *Heliconia*. **The American Naturalist** 107:511-523.

- Lloyd, D.G. & Webb, C.J. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen and stigmas in angiosperms I. Dichogamy. **New Zealand Journal of Botany** 24: 135-162.
- Luteyn, J.L. 2002. Diversity, adaptation and endemism in Neotropical Ericaceae: biogeographical patterns in the Vaccinieae. **The Botanical Review** 68: 55-87.
- Mabberley, D.J. 1987. **The Plant-Book: a portable dictionary of the higher plants**. Cambridge, Cambridge University Press.
- Machado, A.O.; Silva, A.P.; Consolaro, H; Barros, M.A.G. & Oliveira, P.E. 2010. Breeding biology and distyly in *Palicourea rigida* H. B. & K (Rubiaceae) in the Cerrados of Central Brazil. **Acta Botânica Brasilica** 24: 686-696.
- Machado, I.C. & Lopes, A.V. 2004. Floral traits and pollination systems in the Caatinga, a Brazilian Tropical Dry Forest. **Annals of Botany** 94: 365-376.
- Martin-Gajardo, I.S. & Morellato, L.P.C. 2003. Fenologia de espécies Rubiaceae do sub-bosque em floresta Atlântica no sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica** 26: 299-309.
- McDade, L.A. 1986. Protandry, synchronized flowering and sequential phenotypic unisexuality in neotropical *Pentagonia macrophylla* (Rubiaceae). **Oecologia** 68: 218-223.
- McDade, L.A. & Weeks, J.A. 2004. Nectar in hummingbird-pollinated Neotropical plants II: interactions with flower visitors. **Biotropica** 36: 216-230.
- Mitchell, R.J. 1997. Effects of pollination intensity on *Lesquerella fendleri* seed set: variation among plants. **Oecologia** 109: 382-388.
- Morellato, L.P.C. 1992. Sazonalidade e dinâmica de ecossistemas florestais na Serra do Japi. In: L.P.C. Morellato (org.). **História Natural da Serra do Japi: ecologia e**

- preservação de uma área florestal no sudeste do Brasil.** Campinas: Editora da Unicamp.
- Mothershead, K. & Marquis, R. 2000. Fitness impacts of herbivory through indirect effects on plant-pollinator interactions in *Oenothera macrocarpa*. **Ecology** 81: 30-40.
- Murcia, C. 1996. Forest fragmentation and the pollination of neotropical plants. In: J. Schellas; R. Greenberg (eds.). **Forest patches in tropical landscapes**. London, Island Press.
- Murcia, C. & Feinsinger, P. 1996. Interspecific pollen loss by hummingbirds visiting flower mixtures: effects of floral architecture. **Ecology**: 77: 550-560.
- Nara, A.A.K. & Webber, A.C. 2002. Biologia floral e polinização de *Aechmea beeriana* (Bromeliaceae) em vegetação de baixio na Amazônia Central. **Acta Amazonica** 32: 571-588.
- Newstrom, L.E.; Frankie, G.W.; Baker, H.G. 1994. A new classification for plant phenology based on flowering patterns in lowland tropical rain forest trees at La Selva, Costa Rica. **Biotropica** 26: 141-159.
- Ornelas, J.F; González, C.; Jiménez, L.; Lara, C. & Martínez, A.J. 2004. Reproductive ecology of distylous *Palicourea padifolia* (Rubiaceae) in a tropical montane cloud forest. II. Attracting and rewarding mutualistic and antagonistic visitors. **American Journal of Botany** 91: 1061-1069.
- Ornelas, J.F. & Ordano, M. 2007. Nectar removal effects on seed production in *Moussonia deppeana* (Gesneriaceae), a hummingbird-pollinated shrub. **Ecoscience** 14: 117-123.
- Passos, L & Sazima, M. 1995. Reproductive biology of the distylous *Manettia luteorubra* (Rubiaceae). **Botanica Acta** 108: 309-313.

- Pellmyr, O. 2002. Pollination by animals. In: C.H. Herrera; O. Pellmyr (eds.). **Plant-animal interactions – An evolutionary approach**. Malden, Blackwell Publishing.
- Pereira, T.S.; Costa, M.L.M.N.; Moraes, L.F.D & Luchiari C. 2008. Fenologia de espécies arbóreas em Floresta Atlântica da Reserva Biológica de Poço das Antas, Rio de Janeiro, Brasil. **Iheringia** 63: 329-339.
- Pereira, Z.V.; Vieira, M.F. & Carvalho-Okano, R.M. 2006. Fenologia da floração, morfologia floral e sistema de incompatibilidade em espécies distílicas de Rubiaceae em fragmento florestal do Sudeste brasileiro. **Revista Brasileira de Botânica** 29: 471-480.
- Ramos, W.M. 2009. **Composição florística e síndromes de dispersão no Morro Coração de Mãe, em Piraputanga, MS, Brasil**. Dissertação de Mestrado em Biologia Vegetal. Universidade Federal de Mato Grosso do Sul.
- Ramírez, N & Berry, P.E. 1995. Producción y costo de frutos y semillas relacionados a las características de las inflorescencias. **Biotropica** 27: 190-205.
- Rathcke, B. 1983. Competition and facilitation among plants for pollination. In: L. Real (ed.). **Pollination Biology**. London, Academic Press.
- Ribeiro, J.F. & Walter, B.M.T. 1998. Fitofisionomias do bioma cerrado. In: S.M. Sano; S.P. Almeida (eds.). **Cerrado: ambiente e flora**. Planaltina, Embrapa-Cerrado.
- Rocca-de-Andrade, M.A. 2006. **Recurso floral para aves em uma comunidade de Mata Atlântica de encosta: sazonalidade e distribuição vertical**. Tese de Doutorado em Biologia Vegetal. Universidade Estadual de Campinas.
- Rocca, M.A. & Sazima, M. 2010. Beyond hummingbird-flowers: the other side of ornithophily in the neotropics. **Oecologia Australis** 14: 67-99.
- Ruschi, A. 1982. **Aves do Brasil: beija-flores**. Rio de Janeiro: Expressão e Cultura.

- SanMartin-Gajardo, I. & Sazima, M. 2005. Chiropterophily in Sinningieae (Gesneriaceae): *Sinningia brasiliensis* and *Paliavana prasinata* are bat-pollinated, but *P. sericiflora* is not. Not yet? **Annals of Botany** 95: 1097-1103.
- Sazima, M.; Sazima, I. & Buzato, S. 1994. Nectar by day and night: *Siphocampylus sulfurous* (Lobeliaceae) pollinated by hummingbirds and bats. **Plant Systematics and Evolution** 191: 237-246.
- Sazima, I.; Buzato, S. & Sazima, M. 1995. The saw-billed hermit *Ramphodon naevius* and its flowers in Southeastern Brazil. **Journal fur Ornithologie** 136: 195-206.
- Sazima, M.; Buzato, S. & Sazima, I. 1996. An assemblage of hummingbird-pollinated flowers in a montane forest in southeastern Brazil. **Botanica Acta** 109: 149-160.
- Schemske, D.W. 1981. Floral convergence and pollinator sharing in two bee-pollinated tropical herbs. **Ecology** 62: 946-954.
- Silva, C.A.; Vieira, M.F. & Amaral, C.H. 2010. Floral attributes, ornithophily and reproductive success of *Palicourea longepedunculata* (Rubiaceae), a distylous shrub in southeastern Brazil. **Revista Brasileira de Botânica** 33: 207-213.
- Stebbins, G.L. 1970. Adaptive radiation of reproductive characteristics in angiosperms, I: pollination mechanisms. **Annual Review of Ecology and Systematics** 1: 307-326.
- Stiles, F.G. 1981. Geographical aspects of bird-flower coevolution, with particular reference to Central America. **Annals of Missouri Botanical Garden** 68: 323-351.
- Taylor, C.M. 1997. Conspectus of the genus *Palicourea* (Rubiaceae: Psychotrieae) with the description of some new species from Ecuador and Colombia. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 84: 224-262.

- Utelli, A.B. & Roy, B.A. 2000. Pollinator abundance and behavior on *Aconitum lycoctonum* (Ranunculaceae): an analysis of the quantity and quality components of pollination. **Oikos** 89: 461-470.
- Wilson, P. & Thomson, J.D. 1991. Heterogeneity among floral visitors leads to discordance between removal and deposition of pollen. **Ecology** 72: 1503-1507.
- Wilson, P; Castellanos, M.C.; Hogue, J.N.; Thomson, J.D. & Armbruster, W.S. 2004. A multivariate search for pollination syndromes among penstemons. **Oikos** 104: 345-361.
- Young, H.J. & Stanton, M.L. 1990. Influences of floral variation on pollen removal and seed production in wild radish. **Ecology** 71: 536-547.
- Zar, J.H. 1984. **Biostatistical analysis**. 2^a edição. New Jersey: Prentice-Hall.