

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PELOTAS
Instituto de Biologia
Curso de Ciências Biológicas - Bacharelado



Trabalho de Conclusão de Curso

**Sistema de cruzamento de *Psychotria brachyceras* Müll. Arg. (Rubiaceae),
espécie distílica do sul do Rio Grande do Sul, Brasil**

Renata Trevizan Telles de Souza

Pelotas, 2017

Renata Trevizan Telles de Souza

**Sistema de cruzamento de *Psychotria brachyceras* Müll. Arg. (Rubiaceae),
espécie distílica do sul do Rio Grande do Sul, Brasil**

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado ao Instituto de Biologia da Universidade Federal de Pelotas, como requisito parcial para obtenção do título de Bacharel em Ciências Biológicas.

Orientadora: Profa. Dra. Raquel Lüdtkke

Pelotas, 2017

Universidade Federal de Pelotas / Sistema de Bibliotecas
Catalogação na Publicação

S719s Souza, Renata Trevizan Telles de

Sistema de cruzamento de *Psychotria brachyceras* Müll.
arg. (Rubiaceae), espécie distílica do sul do Rio Grande do
Sul, Brasil / Renata Trevizan Telles de Souza ; Raquel
Lüdtke, orientadora. — Pelotas, 2017.

42 f. : il.

Trabalho de Conclusão de Curso (Bacharelado em
Ciências Biológicas) — Instituto de Biologia, Universidade
Federal de Pelotas, 2017.

1. Autoincompatibilidade. 2. Sistema reprodutivo. 3.
Heterostilia. 4. Distilia. 5. Polinização. I. Lüdtke, Raquel,
orient. II. Título.

CDD : 571.32

Elaborada por Ubirajara Buddin Cruz CRB: 10/901

Renata Trevizan Telles de Souza

**Sistema de cruzamento de *Psychotria brachyceras* Müll. Arg. (Rubiaceae),
espécie distílica do sul do Rio Grande do Sul, Brasil**

Trabalho de Conclusão de Curso aprovado, como requisito parcial, para obtenção do grau de Bacharelado em Ciências Biológicas, Instituto de Biologia, Universidade Federal de Pelotas.

Data da Defesa: 13 de fevereiro de 2017

Banca examinadora:

Professora Dra Raquel Lüdtke (Orientador)
Doutora em Botânica pela Universidade Federal do Rio Grande do Sul

Professora Dra Ana Maria Rui
Doutora em Ecologia pela Universidade de Brasília

Me. Nathália Susin Streher
Mestre em Biologia Vegetal pela Universidade Estadual de Campinas

Professora Dra Leila de Fátima Nogueira Macias (Suplente)
Doutora em Biologia Vegetal pela Universidade Estadual de Campinas

Agradecimentos

Agradeço primeiramente à minha orientadora acadêmica Raquel Lüdtke pela orientação, por me acolher em seu laboratório, pela dedicação e paciência em me ensinar, pela amizade e confiança depositadas em mim. Por me mostrar que pessoas que se divertem trabalhando são mais felizes e por despertar mais ainda em mim o amor pela Botânica. Eu vejo flores em você.

A professora Leila Macias, que também me recebeu tão bem no laboratório. Obrigada pela generosidade, conversas e ensinamentos. Teu apoio, carinho e incentivo são incomparáveis.

A Nathália Streher, meu sincero agradecimento por toda ajuda e por ter acreditado em mim na realização desse estudo. Tuas ideias, sugestões e colaborações foram fundamentais para o desenvolvimento do trabalho.

A professora Giselda Pereira, pelo cuidado e paciência em me auxiliar nas análises estatísticas do trabalho.

Aos queridos professores da graduação Ana Maria Rui, César Drehmer e Cristiano Agra, pelas conversas, sugestões e apoio dado durante a execução do trabalho e na graduação. Vocês são grandes exemplos para mim.

As amigas e colegas do LabFan, Isis, Giovanna, Natália, Camila e Viviane pelos ótimos momentos de convivência, alegrias e ajuda sempre que possível. Vocês tornaram os dias no laboratório mais leves e divertidos.

A minha companheira de jornada Giovanna, amiga que a graduação me deu. Não compartilhamos apenas estágio, monitorias, aulas e estudos, mas também alegrias, tristezas, saudades de casa, festas, viagens e tantos outros momentos épicos e inéditos para guardar no coração.

Ao meu amigo Pedro Rassier, por todo apoio dado em todas minhas escolhas e sua sincera opinião. Obrigada pela amizade, irmandade e pelas histórias que hoje temos para contar.

Aos meus amigos de graduação e de Pelotas que conheci durante esse período, que de alguma forma sempre proporcionaram e partilharam alegrias, diversões, amizade e companheirismo. Mônica, Isabela, Julia, Kamila, Tatiele, Alison, Lucas, Paulo e Junior.

A amiga Patrícia, com quem dividi apartamento nesses anos. Obrigada por ter sido minha companheira e amiga, por ter disponibilizado seu tempo ouvindo tantas

histórias, reclamações, reflexões, ensaios de apresentações, estudos sobre as plantas, mesmo não sendo da área e por sempre ter palavras de apoio e conforto nos momentos de indecisão.

Aos amigos da lendária São Jorge, Paola, Laura, Isadora, Fernando, Silvia Regina, Sabrina, Guilherme, Eliane, Emanuele, Ezequiel. Agradeço pela compreensão e amizade mesmo a longas distâncias.

Agradeço imensamente e incansavelmente aos principais responsáveis por essa conquista, meus pais Anita e Celso. Por sempre me influenciarem a estudar e buscar meus sonhos, a seguir em frente e firme nos meus objetivos. Por cada ligação realizada para saber como foi o dia, pela compreensão da distância e dos dias difíceis. Gratidão eterna pelo apoio e confiança de vocês.

Ao meu irmão Elias Miguel, meu jogador preferido, pelo apoio, amizade, irmandade e tudo o mais. Apesar da distância saiba que seguimos juntos sempre.

À minha irmã Cristina, minha inspiração e exemplo de simplicidade. Somos tão unidas que 'eu já nem sei onde eu começo e termina você'. Obrigada por me auxiliar sempre que necessário e dividir comigo dias de luta e dias de glórias. Obrigada por tudo.

Agradeço aos membros da banca que aceitaram participar dessa etapa.

Agradeço a Universidade Federal de Pelotas, pela oportunidade de poder realizar meu estudo numa instituição pública.

Por fim, agradeço a todos que sempre me acolheram e me apoiaram nessa caminhada.

“Eu faço parte dos que acham que a ciência é belíssima”

Marie Curie

Resumo

SOUZA, Renata Trevizan Telles. **Sistema de cruzamento de *Psychotria brachyceras* Müll. Arg. (Rubiaceae), espécie distílica do sul do Rio Grande do Sul, Brasil.** 2017. 42f. Trabalho de Conclusão de Curso em Ciências Biológicas – Bacharelado. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

A heterostilia é um polimorfismo floral geneticamente controlado, definido pela reciprocidade da altura de anteras e estigmas entre indivíduos, caracterizando a presença de duas (distílica) ou três (tristílica) formas florais na mesma espécie. Destas formas, a distílica é um tipo de sistema que utiliza caracteres morfológicos e fisiológicos como forma de promover a polinização cruzada. *Psychotria brachyceras* Müll. Arg. (Rubiaceae) é uma espécie distílica, apresentando uma forma com estames curtos e pistilo longo (longistila) e outra com estames longos e pistilo curto (brevistila). *P. brachyceras*, diferente de algumas espécies distílicas, apresenta grãos de pólen de mesmo tamanho em ambos os morfos, indicando ser possível que o pólen de morfos brevistilos germine nos estigmas brevistilos e que o mesmo ocorra dentro do morfo longistilo. Portanto, a hipótese do presente estudo foi que esta espécie fosse autocompatível dentro do mesmo morfo floral. Este trabalho objetivou estudar a biologia reprodutiva de uma população de *P. brachyceras*, investigando o sistema de cruzamento da espécie, analisando a morfometria, proporção de morfos e reciprocidade de estruturas reprodutivas entre os morfos florais. O estudo foi realizado no Horto Botânico Irmão Teodoro Luís, Capão do Leão (RS), Brasil. O sistema de cruzamento da espécie foi realizado com tratamentos de autopolinização espontânea, autopolinização manual, polinização cruzada intermorfo, agamospermia e comparados com um grupo controle. A morfometria foi realizada obtendo-se medidas da largura do tubo da corola (fauce), comprimento das anteras, do estigma, do estilete, do tubo da corola e altura da antera. Para a proporção de morfos na população foi realizada identificação e contagem de indivíduos e morfo floral. Para análise de reciprocidade, foi realizada a comparação entre a altura de estigma e a altura de antera de um morfo em relação ao outro. As análises estatísticas dos dados obtidos foram feitas através do Teste t e Teste X². Os resultados mostraram que essa espécie se reproduz por polinização cruzada intermorfo, indicando que a população estudada é autoincompatível. Verificou-se uma diferença significativa entre o comprimento do tubo da corola, comprimento do estigma, comprimento do estilete e altura das anteras entre os morfos. Além disso, os morfos florais ocorreram em igual proporção (população isoplética). As análises provaram que a reciprocidade de estruturas reprodutivas entre os morfos florais são recíprocas em altura, indicando que a dispersão de pólen é direcional entre os morfos, promovendo uma polinização cruzada mais eficiente e garantindo dessa forma a manutenção e variabilidade genética da espécie.

Palavras-chave: autoincompatibilidade; sistema reprodutivo; heterostilia; distílica; polinização.

Abstract

SOUZA, Renata Trevizan Telles. **Sistema de cruzamento de *Psychotria brachyceras* Müll. Arg. (Rubiaceae), espécie distílica do sul do Rio Grande do Sul, Brasil.** 2017. 42f. Monograph - Ciências Biológicas Bacharelado. Universidade Federal de Pelotas, Pelotas, 2017.

Heterostyly is a floral polymorphism genetically controlled, defined by the reciprocity of the anthers and stigmas' height between individuals, characterizing the presence of two (distyly) or three (tristyly) floral forms in the same species. Among these forms the distyly is a type of system that uses morphological and physiological characters in order to promote crosspollination. *Psychotria brachyceras* Müll. Arg. (Rubiaceae) it owns the distyly, presenting one form with short stamens and long pistil (long) and another with long stamens and short pistil (short). *P. brachyceras*, unlikely most distylous species, has pollen grains of the same size in both of the morphs, indicating the possibility that the short morph pollen germinates in short stigmas and that it occurs inside the long morph. The hypothesis of this study was that these species could be self-compatible inside the same floral morph. This research aimed to study the reproductive biology of *P. brachyceras*, investigating the species mating system and determining the morphometry, the proportion of the morphs and the reciprocal reproductive structures between floral morphs. The study was carried out in the Horto Botânico Irmão Teodoro Luís, in Capão do Leão, (RS) Brazil. The species mating system was executed with spontaneous self-pollination, manual selfing pollination, outcrossing intermorph pollination, agamospermy and compared with a control group. Morphometry was performed by using a stereomicroscope, obtaining measurements of the corolla tube (fauce)'s width, the anther's length, the stigma's length, the stylet's length, the corolla tube's size and the anther's height. For the morph proportion in the population, the identification and counting of individuals and floral morph was executed. A comparison between stigma's height and anther's length of a morph was performed to verify their reciprocity. Statistical analysis of the obtained data were made by T test and X^2 . The results showed that this species reproduces by outcrossing intermorph pollination, indicating self-incompatibility condition in the studied population. A significant difference between the corolla tube's size, the stigma's length, the stylet's length and the anthers' height was verified between the morphs. In addition, the floral morphs occurred in equal proportion (isoplethy). The analysis proved that the reproductive structures reciprocity between floral morphs are reciprocal in height, indicating directional pollen dispersion between morphs, promoting more efficient cross-pollination and ensuring the maintenance and genetic variability of the species.

Key words: self-incompatibility; breeding system; heterostyly; distyly; pollination

Lista de Tabelas

- Tabela 1 Resultado dos experimentos de polinização manual para verificação do Sistema de Cruzamento de *Psychotria brachyceras* na população do Horto Botânico Irmão Teodoro Luís, Capão do Leão (RS) (flores brevistilas (B) flores longistilas (L))..... 28
- Tabela 2 Resultado da comparação entre os experimentos de polinização cruzada intermorfo e polinização natural (controle) para verificação do Sistema de Cruzamento de *Psychotria brachyceras* na população do Horto Botânico Irmão Teodoro Luís, Capão do Leão (RS) (flores brevistilas (B) flores longistilas (L))..... 28
- Tabela 3 Médias e Desvios Padrão (DP) das medidas florais dos morfos brevistilo e longistilo de *Psychotria brachyceras*, no Horto Botânico Irmão Teodoro Luís, Capão do Leão-RS..... 31

Lista de Figuras

Figura 1	Diferenciação entre os morfos florais de <i>Psychotria brachyceras</i> Müll. Arg. (Rubiaceae), população do Horto Botânico Irmão Teodoro Luís, Capão do Leão, Sul do Brasil. Apresenta (A) morfo longistilo, com pistilo longo e estames curtos e (B) morfo brevistilo, com estames longos e pistilo curto.....	15
Figura 2	Área de estudo Horto Botânico Irmão Teodoro Luís, no município de Capão do Leão, Rio Grande do Sul.....	22
Figura 3	Tratamentos de polinização realizados em campo com <i>Psychotria brachyceras</i> Müll. Arg. (Rubiaceae), no Horto Botânico Irmão Teodoro Luís, Capão do Leão (RS), Sul do Brasil. Identificação do morfo florais (A) brevistilo e (B) longistilo; (C) Inflorescência com botões florais; (D) Execução dos tratamentos; (E) Botão floral isolado com saco de “voile” e fita colorida correspondendo ao seu tratamento; (F) Fruto.....	24
Figura 4	Frutificação dos tratamentos de (A) autopolinização espontânea e (B) suas sementes e (C) agamospermia e (D) suas sementes.....	27
Figura 5	Morfometria de <i>Psychotria brachyceras</i> Müll. Arg. (Rubiaceae) da população do Horto Botânico Irmão Teodoro Luís, Capão do Leão (RS), Sul do Brasil.....	32

Figura 6	Boxplot das medidas de altura de estigma e antera das flores brevistilas (B) e longistilas (L) de <i>Psychotria brachycheras</i> Müll. Arg. na área do Horto Botânico Irmão Teodoro Luiz, Capão do Leão (RS), Rio Grande do Sul.....	34
Figura 7	Boxplot da distribuição das medidas de altura de estigma e antera das flores longistilas (L) e brevistilas (B) de <i>Psychotria brachycheras</i> Müll. Arg. na área do Horto Botânico Irmão Teodoro Luiz, Capão do Leão, Rio Grande do Sul.....	35

Sumário

1 Introdução.....	13
1.1 Objetivos.....	16
1.1.1 Objetivo geral.....	16
1.1.2 Objetivo específico.....	16
2 Revisão de Literatura.....	17
3 Material e Métodos.....	22
3.1 Área de estudo.....	22
3.2 Sistema de cruzamento.....	23
3.3 Morfometria das flores.....	24
3.4 Proporção dos morfos heterostílicos na população.....	25
3.5 Reciprocidade de estruturas reprodutivas.....	25
3.6 Análise de dados.....	25
4 Resultados e Discussão.....	26
4.1 Sistema de cruzamento.....	26
4.2 Morfometria floral.....	29
4.3 Proporção de morfos brevistilos e longistilos na população.....	33
4.4 Reciprocidade de estruturas reprodutivas entre os morfos.....	34
5 Conclusão.....	37
Referências.....	38

1 Introdução

O fenômeno de heterostilia é um tipo de polimorfismo floral geneticamente controlado (GANDERS, 1979). Primeiramente reconhecida por Darwin e Hildebrand, esse polimorfismo foi um caráter primário utilizado para definir a síndrome de reciprocidade da altura estigma-antera e tem atraído a atenção de muitos naturalistas, ecologistas evolutivos e geneticistas (ENDRESS, 1994; LLOYD; WEBB; DULBERGER, 1990).

A heterostilia é identificada pela morfologia floral e por um sistema de incompatibilidade. A morfologia floral é caracterizada pela reciprocidade na altura de anteras e estigmas entre indivíduos, caracterizando a presença de duas (distilia) ou três (tristilia) formas florais na mesma espécie. A maioria das espécies heterostílicas são distílicas, com um morfo longistilo, que possui flores com pistilo longo e estames curtos e um morfo brevistilo, com pistilo curto e estames longos. Cada indivíduo apresenta um tipo floral e para populações distílicas em equilíbrio espera-se que os morfos ocorram na mesma proporção, situação conhecida como isopleτία (BARRETT et al., 2000; GANDERS, 1979). A morfologia das flores de plantas que apresentam distilia é um fator de grande importância, pois através dela, espera-se que ocorra reciprocidade de estruturas reprodutivas de um morfo em relação ao outro, favorecendo a ocorrência da polinização cruzada entre morfos diferentes e diminuindo os cruzamentos entre morfos iguais (BARRETT et al., 2000; FAIVRE, 2002; MATIAS, 2016).

Plantas heterostílicas geralmente possuem um sistema de incompatibilidade onde, através de reconhecimento físico e bioquímico entre pistilo e pólen, ocorre a formação de frutos apenas quando acontece polinização legítima, ou seja, nos cruzamentos intermorfos (BARRETT; RICHARDS, 1992; GANDERS, 1979; TEIXEIRA; MACHADO, 2004). A autoincompatibilidade é um mecanismo de impedimento à autopolinização, onde duas categorias podem ser reconhecidas, a gametofítica e a esporofítica. O reconhecimento da autoincompatibilidade é normalmente do tipo esporofítica, quando o pólen não germina no estigma, mas

também pode ocorrer a gametofítica, quando o grão de pólen germina no estigma e é reconhecido ao longo do estilete, onde vai ser impedido de continuar crescendo devido a reação de incompatibilidade (JUDD et al., 2009).

O sucesso reprodutivo das espécies distílicas é dependente do dimorfismo floral, da isopletia, quando ocorre a proporção equilibrada de morfos na população e da atuação efetiva de polinizadores (KOCH et al., 2010; LOPES; BUZATO, 2007; TEIXEIRA; MACHADO, 2004).

Das 28 famílias das Angiospermas que possuem distília, Rubiaceae é a que apresenta maior número de espécies com essa característica (BARRETT; RICHARDS, 1992). Rubiaceae é a quarta maior família botânica dentro das Angiospermas, com distribuição cosmopolita, especialmente nas áreas tropicais e subtropicais do mundo, com poucas espécies nas áreas temperadas e frias. É uma das principais famílias da flora brasileira, ocorrendo como um importante elemento em quase todas as formações naturais (DELPRETE, 2005; SOUZA; LORENZI, 2012).

Segundo Souza e Lorenzi (2012), Rubiaceae possui cerca de 550 gêneros e aproximadamente 9 000 espécies no mundo. No território brasileiro, as Rubiaceae perfazem cerca de 1 400 espécies distribuídas em 120 gêneros e no Rio Grande do Sul ocorrem 101 espécies distribuídas em 34 gêneros (TAYLOR; GOMES; ZAPPI, 2016).

A heterostilia ocorre em 416 espécies de Rubiaceae pertencentes a 31 gêneros. Destas, 122 espécies são da tribo Psychotrieae, sendo que *Psychotria* reúne o maior número de espécies distílicas (JUNG-MENDAÇOLLI; MELHEM, 1995; TEIXEIRA; MACHADO, 2004).

O gênero *Psychotria* é considerado tipicamente distílico, ocorre principalmente em regiões tropicais e subtropicais do mundo sendo comum no sub-bosque representado por pequenas árvores, arbustos, ervas e raramente por epífitas, constituindo-se no maior gênero de Rubiaceae com mais de 1 800 espécies no mundo. No Brasil, *Psychotria* apresenta cerca de 252 espécies e para o Rio Grande do Sul são confirmadas nove espécies (TAYLOR; GOMES; ZAPPI, 2016).

Psychotria brachyceras Müll. Arg. é uma espécie nativa e endêmica do Brasil, distribuindo-se na Região Sudeste nos estados do Espírito Santo, Rio de Janeiro e São Paulo e na Região Sul, no Paraná, Rio Grande do Sul e Santa Catarina. No Rio Grande do Sul, *P. brachyceras* tem ampla distribuição, ocorrendo no Litoral,

Depressão Central, Encosta do Sudeste, Alto Uruguai, Encosta Inferior do Nordeste e Encosta Superior do Nordeste. Possui forma de vida subarbustiva e arbustiva, filotaxia oposta, folhas simples, com a margem do limbo inteira e suas flores são pequenas e albas reunidas em inflorescências cimosas. A espécie possui a síndrome da distília, com flores longistilas e brevistilas (DILLEMBURG, 1978; DELPRETE, 2005; TAYLOR, 2016).

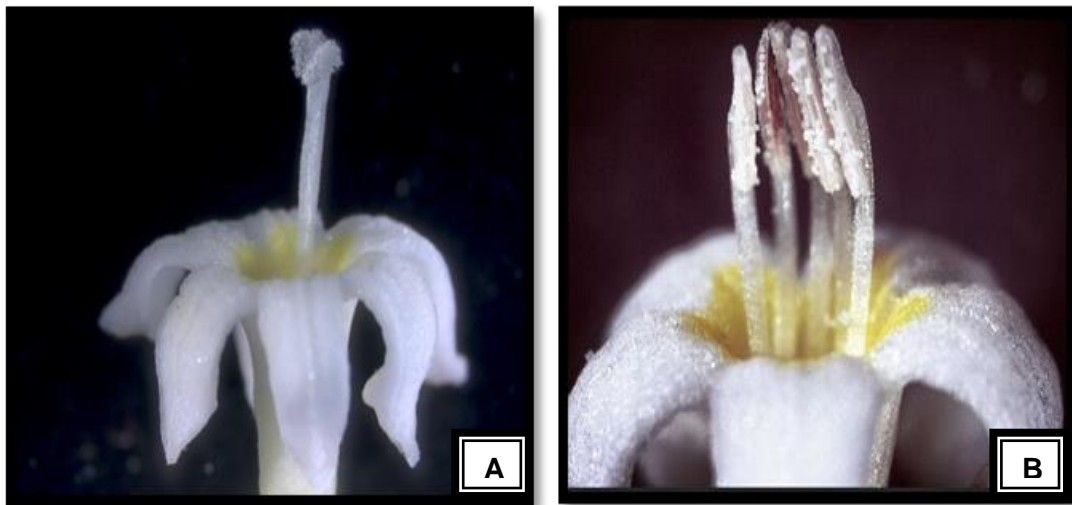


Figura 1 – Diferenciação entre os morfos florais de *Psychotria brachyceras* Müll. Arg. (Rubiaceae), população do Horto Botânico Irmão Teodoro Luís, Capão do Leão, Sul do Brasil. (A) morfo longistilo, com pistilo longo e estames curtos e (B) morfo brevistilo, com estames longos e pistilo curto.

Levando em consideração o grande número de representantes heterostílicos em *Psychotria*, trabalhos relacionados ao estudo deste polimorfismo e da biologia reprodutiva no gênero ainda são poucos e talvez não detectem toda diversidade de sistema de cruzamento que pode existir. Apesar da autoincompatibilidade e da incompatibilidade intramorfo serem os fenômenos mais comuns em espécies heterostílicas, é possível encontrar espécies autocompatíveis (RICHARDS; KOPTUR, 1993; ZHOU et al., 2015).

Análises prévias indicam que *Psychotria brachyceras*, diferente da maioria das espécies distílicas, apresenta grãos de pólen de mesmo tamanho em ambos os morfos¹, indicando ser possível que o pólen de morfos brevistilos germine nos

¹ Comunicação Pessoal fornecida por Nathália Susin Streher

estigmas brevistilos e que o mesmo ocorra dentro do morfo longistilo. Assim sendo, a hipótese que norteou o presente estudo foi de que esta espécie seja autocompatível dentro do mesmo morfo floral.

1.1 Objetivos

1.1.1 Objetivo geral

Investigar a biologia reprodutiva de *Psychotria brachyceras* no Horto Botânico Irmão Teodoro Luís, Capão do Leão, Rio Grande do Sul, Brasil.

1.1.2 Objetivos específicos

- Investigar o sistema de cruzamento de *Psychotria brachyceras*;
- Realizar a morfometria dos morfos brevistilos e longistilos;
- Determinar a proporção de morfos heterostílicos na população;
- Verificar se ocorre reciprocidade de estruturas reprodutivas de um morfo em relação ao outro;

2 Revisão de Literatura

Considerando a grande quantidade de espécies heterostílicas em *Psychotria*, poucos são os trabalhos relacionados com a heterostilia, biologia da polinização e sistema de cruzamento no gênero.

Um estudo realizado na Costa Rica verificou a biologia reprodutiva e hercogamia em quatro populações da espécie distílica *Psychotria elata* (Sw.) Hammel. As populações estudadas possuíam anisopleitia (quando os morfos não estão em razão equilibrada na população), morfologia distílica e não possuíam reciprocidade entre as estruturas reprodutivas, desse modo ocorrendo variação no número de frutos e sementes entre as formas e entre as populações (SILVA; SEGURA, 2015).

Nas ilhas de Bonin (Japão) foi estudada a distilia e incompatibilidade de três populações da espécie *Psychotria homalosperma* A. Gray. Nesse trabalho investigou-se a biologia reprodutiva da espécie para testar a presença de auto e intramorfo incompatibilidade, além de analisar a proporção dos morfos nas populações estudadas. *P. homalosperma* é auto e intramorfo incompatível para as flores longistilas, enquanto as flores brevistilas são parcialmente intramorfo compatível, sendo também o morfo mais abundante na população. Em apenas uma das populações estudadas os morfos apresentaram-se em proporção equilibrada (WATANABE; KATO; SUGAWARA, 2014).

Watanabe et al. (2015) na Islândia, estudaram a distilia da espécie *Psychotria cephalophora* Merr. Foi realizado o sistema de cruzamento para a compreensão da ecologia reprodutiva da planta em Ilhas oceânicas comprovando morfológica e funcionalmente a distilia da espécie.

Um estudo realizado na Ilha do Barro Colorado e nas proximidades do Parque da Soberania Nacional, no Panamá, objetivou examinar a ecologia reprodutiva de 21 espécies de *Psychotria*. Das espécies encontradas, 14 eram heterostílicas, enquanto sete eram monomórficas. Ambos os tipos morfológicos recebiam visita de insetos,

embora as espécies monomórficas recebessem visitas com menos frequência indicando que sua reprodução ocorre pela autofecundação. Já as espécies heterostílicas encontradas recebiam mais visitas dos polinizadores, indicando uma fecundação cruzada, além disso, houve maior produção de sementes pela polinização cruzada (SAKAI; WRIGHT, 2008).

No Brasil, os estudos sobre a biologia reprodutiva de Rubiaceae abordam a fenologia, morfologia floral, sistema reprodutivo e interação com visitantes florais (SANTOS; WEBBER; COSTA, 2008).

Em Manaus (AM), uma Floresta Ombrófila Densa foi área de estudo para descrever a fenologia reprodutiva, a morfologia e a biologia floral, o sistema de polinização, além da avaliação do sucesso reprodutivo de *Psychotria spectabilis* Steyrm. e *Palicourea cf. virens* (Poepp. & Endl.) Standl. Os beija-flores *Phaethornis bourcierie* e *Thalurania furcata*, foram os principais visitantes florais de *P. spectabilis*. *Palicourea cf. virens* também foi visitada por *T. furcata*, com maior frequência de visitas pela fêmea desta espécie. O sucesso reprodutivo das duas espécies foi baixo, porém apresentaram um alto potencial reprodutivo. (SANTOS; WEBBER; COSTA, 2008).

Teixeira e Machado (2004) estudaram a biologia floral, a polinização e o sistema reprodutivo de *Psychotria barbiflora* DC. em um fragmento de floresta Atlântica em uma área urbana de Recife (PE). A partir dos tratamentos de polinizações manuais e avaliação do crescimento de tubos polínicos, a espécie apresentou autoincompatibilidade do tipo esporofítica, com formação de frutos apenas nos cruzamentos intermorfos.

Também em uma área de Mata Atlântica, no estado Sergipe, Virillo et al. (2007) investigaram a biologia da polinização, a morfometria floral, a proporção de morfos na população e o sistema de cruzamento de *Psychotria tenuinervis* Muell. Arg. Os estudos mostraram que a espécie é preferencialmente auto e intramorfo incompatível, não apomítica e apresenta populações isopléticas.

Kock, Silva e Silva (2010) analisaram a biologia, morfologia floral, o sistema e o sucesso reprodutivo dos morfos florais de *Psychotria carthagenensis* Jacq., espécie encontrada no Centro-Oeste do Brasil, Tangará da Serra (MT). Nesse caso, ocorreu a formação de frutos em polinizações intramorfos e intermorfos.

Em uma Floresta Decidual no município de Catalão (GO) foi estudada a fenologia, características da distília, biologia reprodutiva e os visitantes florais de

Psychotria goyazensis Müll. Arg. Descobriu-se que a espécie possuía uma distília atípica, pois só foram encontrados indivíduos do morfo longistilo. Quanto aos visitantes florais, foram observados somente insetos visitando as flores, entre eles estavam Diptera, abelhas, vespas e borboletas (RODRIGUES; CONSOLARO, 2013).

Sá et al. (2016) descreveram a heterostília, biologia reprodutiva e polinização de quatro espécies do gênero *Psychotria*, na cidade de Catalão (GO). *Psychotria deflexa* DC., *Psychotria nitidula* Cham. & Schltl. e *Psychotria trichophoroides* Mull.Arg. apresentaram características morfológicas distílicas, enquanto *P. prunifolia* (Kunt) Steyerm. foi monomórfica e autocompatível. A reciprocidade foi variada entre as espécies, com verticilos superiores de anteras e estigmas sendo mais recíprocos que os inferiores. *P. nitidula* apresentou sistema de incompatibilidade heteromórfica, enquanto *P. deflexa* e *P. trichophoroides* mostraram auto-compatibilidade parcial.

Faria et al. (2012) ao estudar *Psychotria carthagenensis* Jacq. em fragmentos de cerrado em áreas protegidas no município de Campo Grande (MS), avaliou a frutificação de três populações da espécie mediada por *Apis mellifera* (Apidae) e espécies de *Augochloropsis* (Halictidae). Os resultados mostraram que ambas as espécies (exótica e nativa) apresentaram desempenho semelhante sobre a frutificação da *P. carthagenensis*.

Coelho e Barbosa (2004) investigaram a biologia floral, o sistema reprodutivo e a polinização de *Psychotria poeppigiana* Müll Arg. em uma população do sub-bosque de mata de galeria em Uberlândia (MG). Os autores verificaram que a espécie apresenta diferenças no tamanho de anteras, dos grãos de pólen e da superfície estigmática entre os morfotipos. Além disso, com as polinizações controladas, os morfo apresentaram autoincompatibilidade e incompatibilidade intramorfo ao nível do estigma e do estilete.

Na Estação Ecológica do Panga, em Uberlândia (MG) foi investigada a polinização e biologia reprodutiva de *Psychotria carthagenensis* Jacq., realizando observações fenológicas, estudos de biologia floral e experimentos de polinização manual. A população estudada apresentou apenas morfo longistilo, tendo somente dois indivíduos brevístilos em mais de 100 indivíduos na floração. Também, através de polinizações manuais foi constatada a autocompatibilidade da espécie e compatibilidade intramorfo, mostrando que por isolamento e condições climáticas

desfavoráveis, pode ter diminuído a eficiência dos polinizadores e dado esta condição para a espécie (CONSOLARO; SILVA; OLIVEIRA, 2011).

Matias et al. (2016) investigaram a ocorrência de características distílicas em duas espécies de Rubiaceae estudando a razão de morfos na população, a hercogamia, o sistema de incompatibilidade e os visitantes florais das espécies *Psychotria deflexa* DC. e *Declieuxia fruticosa* (Willd. ex Roem. & Schult.) Kuntze localizadas na Estação Ecológica do Panga e na reserva particular do Clube de Caça e Pesca Itororó, Uberlândia (MG). Nestas espécies, os morfos brevistilo e longistilo ocorreram em proporções semelhantes e houve reciprocidade aproximada entre a altura das estruturas sexuais. O morfo brevistilo de ambas espécies apresentou autoincompatibilidade parcial e mesmo assim as populações apresentaram proporção igual dos morfos, ou seja, populações isopléticas.

Um estudo realizado em remanescente de floresta estacional semidecidual, em Viçosa (MG) objetivou estudar a fenologia da floração, a morfologia e biologia floral e o local de reação de incompatibilidade após polinizações ilegítimas, em flores de oito espécies distílicas de Rubiaceae (*Palicourea longepedunculata* Gardner, *Palicourea maregravii* A. St.-Hil., *Psychotria conjugens* Müll. Arg., *Psychotria hastisepala* Müll. Arg., *Psychotria hygrophiloides* Benth., *Psychotria nuda* (Cham. & Schltld.) Wawra, *Psychotria sessilis* Vell. e *Rudgea lanceolata* Nutt.). Também foi verificado se as espécies encontravam-se em equilíbrio na população (isopletia). Foram registradas diferenças significativas entre alturas de estame e estilete, exceto em *P. hygrophiloides* que só apresentava flores brevistilas. As espécies apresentaram isopletia, exceto *P. maregravii*, *P. hygrophiloides* e *P. conjugens*. Houve autoincompatibilidade heteromórfica e a inibição do crescimento dos tubos polínicos ocorreu nos estigmas de todas as espécies, exceto em flores longistilas de *P. longepedunculata* e *P. hastisepala* (PEREIRA; VIEIRA; CARVALHO-OKANO, 2006).

Silva e Vieira (2013), na Mata do Paraíso, Viçosa (MG), avaliaram o sucesso reprodutivo e o sistema de cruzamento de três espécies distílicas de *Psychotria*: *P. conjugens* Müll. Arg., *P. hastisepala* Müll. Arg. e *P. sessilis* Vell. Os autores observaram que todas as espécies são isopléticas, possuem grãos de pólen com alta viabilidade e os maiores diâmetros dos grãos são das flores brevistilas. Além disso, as espécies são autoincompatíveis.

No Sudeste do Brasil, em Ilha Grande (RJ) foi descrito o padrão fenológico, a biologia floral, os visitantes florais e a taxa de formação de frutos de *Psychotria brachypoda* (Müll. Arg.) Britton. As populações do local eram isopléticas e apesar de não ter havido hercogamia recíproca na altura de estruturas reprodutivas, houve sobreposição entre as alturas dos estigmas das flores longistilas com os estames das brevistilas e vice-versa. Além disso, é provável que o principal polinizador de *P. brachypoda* seja o beija-flor *Thalurania glaucopis*, uma vez que o mesmo visitou com freqüência muitas flores de diferentes indivíduos (FONSECA et al., 2008).

Em 2005, Lopes e Buzato caracterizaram o sistema composto por *Psychotria suterella* Müll. Arg. quanto à morfologia floral e sistema reprodutivo, desenvolvendo o estudo em oito fragmentos florestais pertencentes ao domínio da Mata Atlântica, nos municípios de Cotia e Ibiúna (SP). Apenas os cruzamentos intermorfos produziram frutos e sementes, indicando que a espécie estudada depende de vetores de pólen para reprodução sexuada.

Um estudo realizado no município de Cananéia (SP) objetivou explorar se havia reciprocidade entre morfo brevistilo e longistilo na espécie *Psychotria nuda* (Cham. & Schltld.) Wawra, e, além disso, avaliar se a heterostilia poderia favorecer a polinização direcional. Foi concluído que *P. nuda* apresenta baixa reciprocidade entre os morfos e que a baixa especificidade entre flor e polinizador pode reduzir a eficiência da polinização direcional e seu papel no sucesso reprodutivo da planta (CORTINÓZ et al., 2008).

Para a Região Sul, os trabalhos de biologia reprodutiva de *Psychotria* são praticamente inexistentes, podendo ser destacado somente o realizado no município de Santa Maria (RS), em uma Floresta Estacional Decidual onde foi realizado um estudo abordando aspectos da biologia reprodutiva e a morfometria floral de três espécies de *Psychotria*. Constatou-se que *Psychotria myriantha* Muell. Arg. não é uma espécie heterostílica, *Psychotria leiocarpa* Cham. & Schltld. possui os dois morfos florais, hercogamia recíproca e anisopleia e *Psychotria carthagenensis* possui os dois morfos florais, sem hercogamia recíproca e é anisoplética (PELISSARO, 2012).

3 Material e Métodos

3.1 Área de estudo

O estudo de campo foi desenvolvido no Horto Botânico Irmão Teodoro Luís (31°48'58.56"S, 52°25'54.69"O), localizado no município de Capão do Leão, Rio Grande do Sul, Brasil (Figura 2).



Figura 2 - Área de estudo Horto Botânico Irmão Teodoro Luís, no município de Capão do Leão, Rio Grande do Sul. Fonte: Google Earth, 2016.

A região está inserida na Planície Costeira do Bioma Pampa, sendo revestida, principalmente, por vegetação caracterizada como Formações Pioneiras arbustivo-herbáceas, típicas de complexo lagunar (IBGE, 2004). O solo é do tipo Planossolo Hidromórfico Eutrófico Solódico, solo típico de áreas planas (STRECK et al., 2002).

A mata do Horto Botânico Irmão Teodoro Luís foi amplamente alterada pela abertura de clareiras e trilhas na primeira metade do século XX e pela introdução de espécies exóticas ornamentais (BERTELS; TEODORO LUIS, 1951) e atualmente, com cerca de 23 hectares, encontra-se em estágio avançado de regeneração.

O clima na região é do tipo Cfa ou Subtropical Úmido, segundo a classificação de Köppen (MORENO, 1961). As temperaturas médias para as estações são de 22,9°C no verão, 16,4°C no outono, 13,2°C no inverno e 19°C na primavera, a precipitação média anual é de 1366,9mm e a umidade relativa é de 80,7% (ESTAÇÃO AGROCLIMATOLÓGICA DE PELOTAS, 2016).

3.2 Sistema de cruzamento

No período de floração da espécie, foram selecionados 78 indivíduos (39 brevistilos e 39 longistilos) em botão floral para a realização dos tratamentos de polinização. Os botões florais foram isolados com saco de “voile” e foram marcados com linhas coloridas representando cada tipo de polinização (Figura 3).

O sistema de cruzamento de *Psychotria brachyceras* foi avaliado realizando os seguintes tratamentos: (A) *Autopolinização espontânea*: botões florais foram ensacados em pré-antese até a frutificação ou senescência do órgão floral; (B) *Autopolinização manual*: foram ensacadas as flores em pré-antese, e após a abertura das flores, o pólen de uma flor foi extraído e transmitido para o estigma da mesma flor; (C) *Polinização cruzada Intermorfo* - foram ensacados os botões florais, e após a abertura da flor foi realizada a transferência dos grãos de pólen de indivíduos diferentes e de morfos diferentes (brevistilo-longistilo e longistilo-brevistilo); (D) *Agamospermia*: realizou-se a emasculação, ou seja, foram retiradas as anteras dos botões. Após, a flor foi ensacada até a sua frutificação ou senescência do órgão floral; (E) *Controle*: os botões florais foram somente marcados e acompanhados para avaliar a eficiência da polinização em condições naturais (DAFNI, 1992).



Figura 3 – Tratamentos de polinização realizados em campo com *Psychotria brachyceras* Müll. Arg. (Rubiaceae), no Horto Botânico Irmão Teodoro Luís, Capão do Leão (RS), Sul do Brasil. Identificação do morfo florais (A) brevistilo e (B) longistilo; (C) Inflorescência com botões florais; (D) Execução dos tratamentos; (E) Botão floral isolado com saco de “voile” e fita colorida correspondendo ao seu tratamento; (F) Fruto.

3.3 Morfometria das flores

Para a realização da morfometria, foram selecionados dez indivíduos de cada morfo. Pelo menos três flores de cada indivíduo foram coletadas, totalizando 36 flores brevistilas e 38 longistilas. Em cada flor foram realizadas as medidas da largura do tubo da corola (fauce), comprimento das anteras (da base da antera até seu ápice), comprimento do estigma (da base do estigma até seu ápice), comprimento do estilete (da base do estilete até a base do estigma), comprimento do tubo da corola (da base da corola até a separação das pétalas) e altura das anteras (comprimento dos filetes mais comprimento das anteras). As medidas foram realizadas em flores frescas com o auxílio de estereomicroscópio Discovery V20 –

Zeiss, no Laboratório de Zoologia de Invertebrados, do Departamento de Ecologia, Zoologia e Genética da Universidade Federal de Pelotas.

3.4 Proporção dos morfos heterostílicos na população

Foram percorridas quatro trilhas no local de estudo e foi realizada a identificação e a contagem dos morfos de todos os indivíduos floridos na população. Foi realizada uma caminhada ao longo de cada trilha e a cada 2m foram adentrados também 2m para ambos os lados e efetuada a contagem para determinar a proporção de cada morfo floral na população.

3.5 Reciprocidade de estruturas reprodutivas entre os morfos

Para verificar a ocorrência de reciprocidade de estruturas reprodutivas foram comparadas as medidas obtidas na morfometria da altura de estigma (comprimento do estilete mais comprimento do estigma) de um morfo e altura das anteras (comprimento dos filetes mais comprimento das anteras) de outro morfo.

3.6 Análises de dados

Para determinar o sistema de cruzamento, foram analisadas as frequências de frutificação dos diferentes tipos de polinização através do teste Qui-quadrado de independência. Depois disso, os tratamentos com as maiores frequências de frutificação foram comparados para verificar se ocorria diferença significativa entre os tratamentos através do Teste do Qui-Quadrado, com correção de continuidade, quando necessário foi utilizada a correção de Yates.

Para verificar se ocorria diferença nos atributos florais (morfometria) foi realizado o Teste t. Para analisar se ocorria proporção equilibrada de morfos brevistilos e longistilos na população aplicou-se o teste Qui-quadrado. A reciprocidade na população foi analisada a partir da comparação da altura das anteras e a altura do estigma entre os morfos brevistilo e longistilo através do Teste t. Para realizar as análises foram utilizados os pacotes estatísticos Past3 e SPSS.

4 Resultados e Discussão

4.1 Sistema de cruzamento

Os resultados dos experimentos de polinização em campo mostraram que *Psychotria brachyceras* teve uma maior proporção de frutos formados nos tratamentos de *polinização intermorfo* (brevistilo x longistilo e longistilo x brevistilo) e em *polinização natural* (controle) do que pelos outros tratamentos (Tabela 1). As frequências da frutificação desses tratamentos quando comparadas entre si, não apresentaram diferença significativa, mostrando que a espécie teve sucesso reprodutivo tanto na polinização intermorfo realizada manualmente quanto em condições naturais (Tabela 2). Os resultados obtidos através dos testes de polinizações intermorfos conferem o sistema de incompatibilidade que é esperado para espécies distílicas. Estudos mostraram que espécies como *Psychotria barbiflora* (TEIXEIRA; MACHADO, 2004), *P. suterella* (LOPES; BUZATO, 2005), *P. sessilis*, *P. hastisepala* e *P. conjugens* (SILVA, 2007), *P. poeppigiana* (COELHO; BARBOSA, 2004), também realizaram preferencialmente a polinização cruzada intermorfo.

Na autopolinização espontânea foram registradas duas frutificações no morfo brevistilo e uma frutificação no morfo longistilo (Tabela 1). Esse escape pode ser relacionado com uma autoincompatibilidade incompleta, que segundo Loyd e Schoen (1992) ocorre quando da ausência de pólen proveniente de polinização cruzada força o uso do próprio pólen, resultando numa baixa formação de sementes ou sementes inviáveis. No tratamento de agamospermia apenas um fruto foi registrado para o morfo longistilo o que pode ser atribuído à uma provável contaminação no momento da emasculação das anteras (Tabela 1).

Os frutos de ambos os tratamentos apresentaram problemas na formação de sementes (Figura 4), onde uma semente geralmente era menor, sugerindo que as mesmas provavelmente sejam inviáveis.

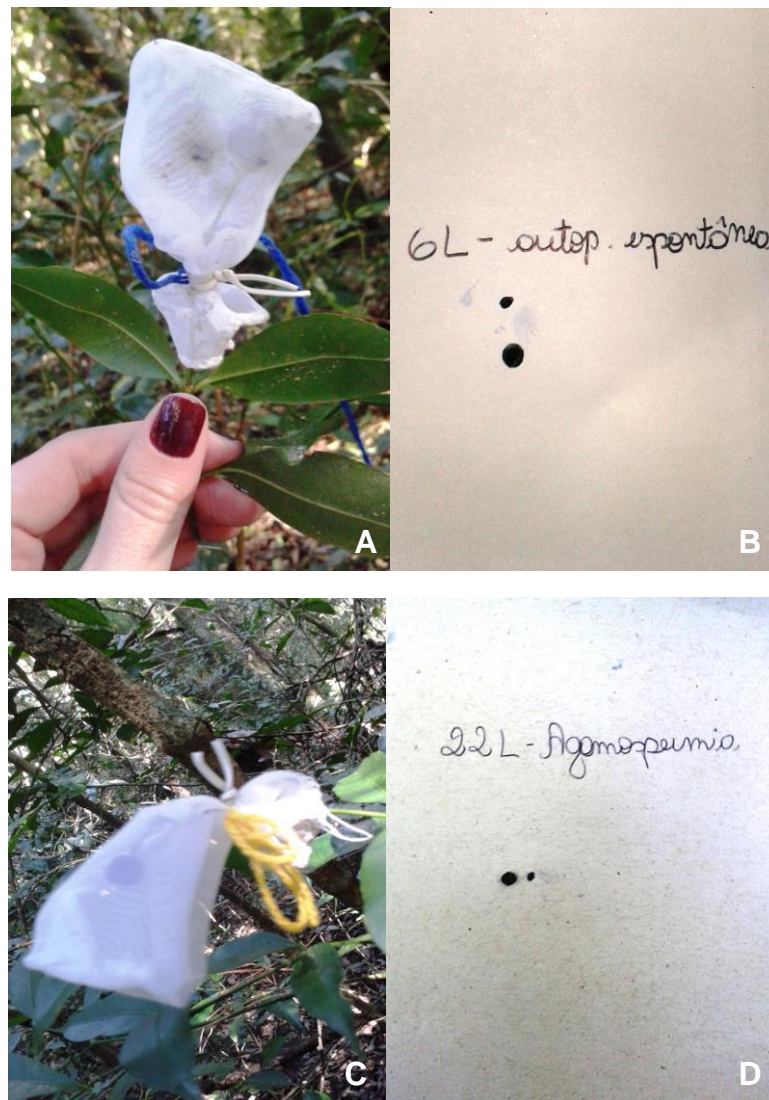


Figura 4 – Frutificação dos tratamentos de (A) autopolinização espontânea e (B) suas sementes e (C) agamospermia e (D) suas sementes.

Tabela 1. Resultado dos experimentos de polinização manual para verificação do Sistema de Cruzamento de *Psychotria brachyceras* na população do Horto Botânico Irmão Teodoro Luís, Capão do Leão (RS) (flores brevistilas (B) flores longistilas (L)).

Tratamentos de polinização	Flores	Frutos	Sucesso (%)	Valor p
MORFO B				0,00*
Autopolinização Espontânea	34	2	5	
Autopolinização manual	16	0	0	
Polinização Cruzada Intermorfo	16	13	81	
Agamospermia	28	0	0	
Controle	39	28	71	
MORFO L				0,00*
Autopolinização Espontânea	30	1	3	
Autopolinização manual	19	0	0	
Polinização Cruzada Intermorfo	19	12	63	
Agamospermia	30	1	3	
Controle	39	29	74	

* Significativo ao nível 5% de probabilidade ($p < 0,05$)

Tabela 2. Resultado da comparação entre os experimentos de polinização cruzada intermorfo e polinização natural (controle) para verificação do sistema de cruzamento de *Psychotria brachyceras* na população do Horto Botânico Irmão Teodoro Luís, Capão do Leão (RS) (flores brevistilas (B) flores longistilas (L)).

Tratamentos	p
MORFO B	
Polinização Cruzada Intermorfo x Polinização Natural	p=0,696
MORFO L	
Polinização Cruzada Intermorfo x Polinização Natural	p=0,567

4.2 Morfometria floral

Os resultados das medidas dos atributos florais realizadas em laboratório indicam que *Psychotria brachyceras* é uma espécie com duas formas florais evidentemente distintas (Figura 5).

A corola da espécie apresentou o comprimento do tubo nas flores brevistilas maior que nas flores longistilas, ocorrendo uma diferença significativa entre os tamanhos (Tabela 3). As espécies heterostílicas possuem características secundárias na morfologia, como a diferença no comprimento da corola entre os morfos (GANDERS, 1979). Este padrão já é esperado para espécies distílicas que possuem estames epipétalos, como o caso de *P. brachyceras*, pois corolas mais longas em flores brevistilas permitem que as anteras fiquem em um nível equivalente ao estigma das flores longistilas (FONSECA et al., 2008).

O tamanho da corola influencia na altura recíproca de estigmas e anteras de um morfo em relação a outro, pois variações no comprimento do tubo podem afetar o direcionamento do pólen legítimo, tendo assim valor fundamental no sistema distílico (FERRERO, 2009). Esse resultado também foi observado para as espécies distílicas *Psychotria carthagenensis* (KOCH; SILVA; SILVA, 2010), *Psychotria brachyphoda* (FONSECA et al., 2008), *Palicourea longepedunculata*, *Palicourea marcgravii*, *Psychotria hastisepala*, *Psychotria nuda* e *Rudgea lanceolata* (PEREIRA; VIEIRA; CARVALHO-OKANO, 2006), *Palicourea petiolaris* e *P. fendleri* (SOBREVILA et al., 1983), *Guettarda scabra* (RICHARDS; KOPTUR, 1993), *Palicourea padifolia* (REE, 1997) *Gaertnera vaginata* (PAILLER; THOMPSON, 1997), *Sabicea cenerea* (TEIXEIRA; MACHADO, 2004). Em outras como *Psychotria suterella* (LOPES; BUZATO, 2005), *P. poeppigiana* (COELHO; BARBOSA, 2004), *P. nitidula* (FURTADO, 2015) e *P. barbiflora* (TEIXEIRA; MACHADO, 2004) não foi observado diferença entre os tamanhos do comprimento do tubo da corola entre os morfos.

A largura do tubo da corola (fauce) foi maior nas flores brevistilas do que nas longistilas, não apresentando diferença significativa entre os morfos florais brevistilo e longistilo (tabela 3). A largura da fauce está diretamente relacionada com o tipo de visitante floral.

O comprimento das anteras apresentou-se maior nas flores longistilas que nas brevistilas, sem apresentar diferença significativa entre os morfos (Tabela 3). A

diferença do comprimento das anteras entre os morfos foi observada nas espécies distílicas *Psychotria nuda* (CASTRO; ARAÚJO, 2004), *Psychotria poepigianna* (COELHO; BARBOSA, 2004) e *Palicourea longepedunculata* (PEREIRA; VIEIRA; CARVALHO-OKANO, 2006) e essa diferença pode estar relacionada ao tamanho dos grãos de pólen que habitualmente são maiores no morfo brevistilo (KOCK; SILVA; SILVA, 2010; TEIXEIRA; MACHADO, 2004). Porém o dimorfismo no comprimento das anteras não foi observado em *Psychotria brachyceras*, provavelmente porque na espécie estudada o pólen tenha o mesmo tamanho nos morfos brevistilo e longistilo.

A altura das anteras apresentou diferença significativa entre os tamanhos dos morfos, sendo mais alto em flores brevistilas e mais baixo nas longistilas, padrão esperado para espécies distílicas (Tabela 3).

O estigma apresentou diferença no comprimento entre morfos brevistilos e longistilos (tabela 3). A diferença no comprimento do estigma entre morfo brevistilo e longistilo também foi observada em outras espécies distílicas (CASTRO; ARAUJO, 2004; COELHO; BARBOSA, 2004; KOCH; SILVA; SILVA, 2010; PEREIRA; VIEIRA; CARVALHO-OKANO, 2006; RICHARDS; KOPTUR, 1993; VIRILLO et al., 2007; WATANABE et al., 2015). Esta diferença é atribuída ao fato que o morfo brevistilo apresenta um tamanho maior de estigma para ter uma superfície mais ampla para receber grãos de pólen, uma vez que esse morfo sofre com autointerferência polínica, ou seja, os grãos de pólen de suas anteras entram em contato com seu próprio estigma, chamado de cruzamento ilegítimo. Portanto, com esta área maior tem mais chances do pólen do morfo longistilo, ao chegar ao estigma brevistilo ainda tenha oportunidade de germinar e efetivar a polinização cruzada, também chamada de polinização legítima (COELHO; BARBOSA, 2004).

Ainda na Tabela 3, percebe-se que o comprimento do estilete é maior em flores longistilas e menor nas brevistilas, sendo significativamente diferentes, também de acordo com o que se espera para a distília (BARRETT, 2002).

Tabela 3. Médias e Desvios Padrão (DP) das medidas florais dos morfos brevistilo e longistilo de *Psychotria brachyceras*, no Horto Botânico Irmão Teodoro Luís, Capão do Leão-RS.

Medidas florais	Flores brevistilas (n=36)	Flores longistilas (n=38)	Estatística
	Média ± DP	Média ± DP	
Largura da corola	2,64 ± 0,48	2,5 ± 0,41	t = -0,59, p = 0,55
Comprimento das anteras	2,4 ± 0,44	2,5 ± 0,30	t = -0,83, p = 0,40
Comprimento do estigma	1,4 ± 0,34	1,1 ± 0,31	t = 3,24, p = 0,001*
Comprimento do estilete	5,8 ± 0,77	9,3 ± 0,99	t = -13,308, p = 0,000*
Comprimento da corola	7,2 ± 0,68	6,7 ± 0,77	t = 2,25, p = 0,027*
Altura da antera	10,6 ± 0,92	7,5 ± 0,86	t = 11,059, p = 0,000*

* Significativo ao nível 5% de probabilidade ($p < 0,05$)

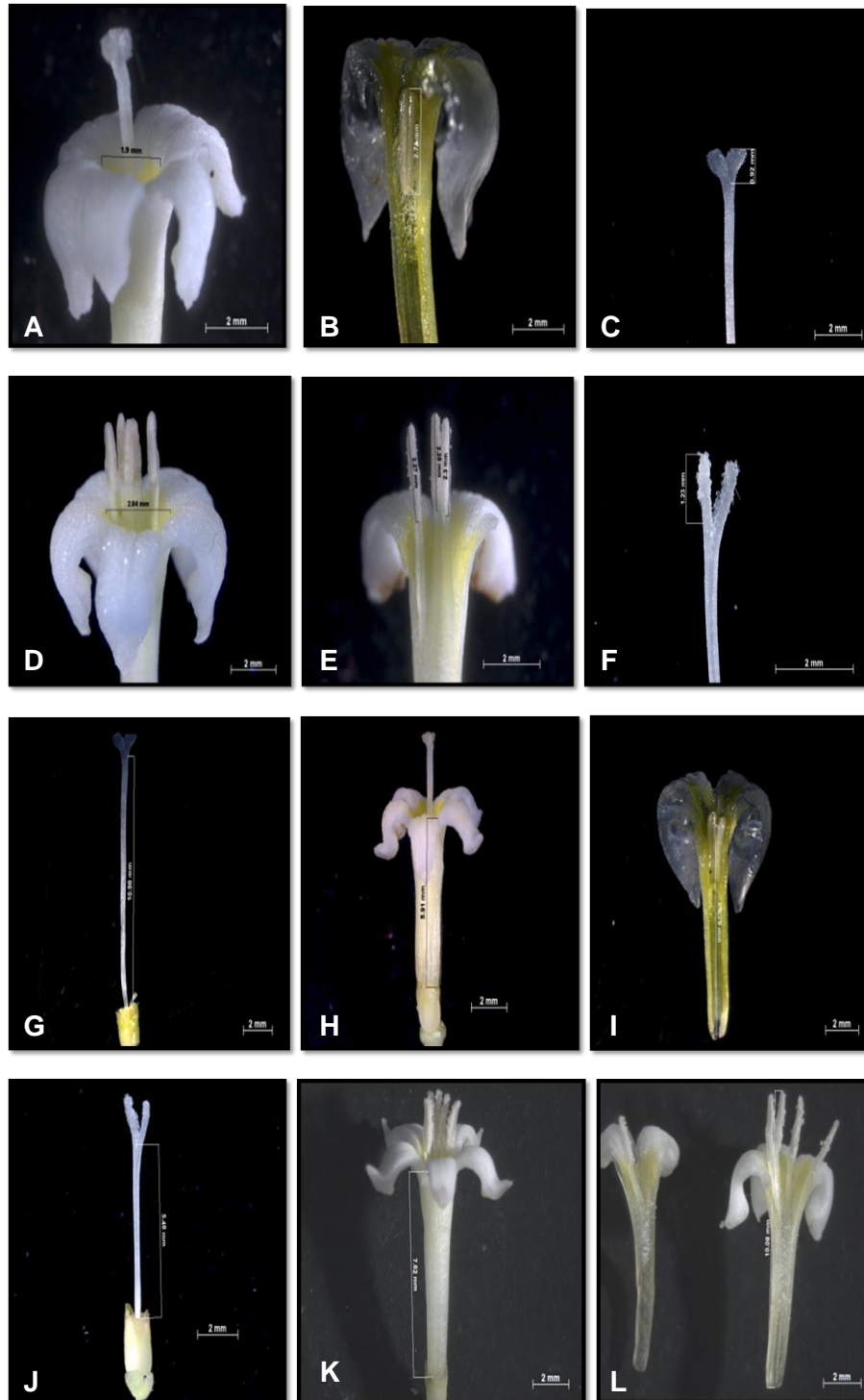


Figura 5 – Morfometria de *Psychotria brachyceras* Müll. Arg. (Rubiaceae) da população do Horto Botânico Irmão Teodoro Luís, Capão do Leão, (RS), Sul do Brasil. Largura do tubo da corola (fauce): **(A)** morfo longistilo e **(D)** morfo brevistilo; Comprimento da antera: **(B)** morfo longistilo e **(E)** morfo brevistilo; Comprimento do estigma: **(C)** morfo longistilo e **(F)** morfo brevistilo; Comprimento do estilete: **(G)** morfo longistilo e **(J)** morfo brevistilo; Comprimento do tubo da corola; **(H)** morfo longistilo e **(K)** morfo brevistilo; Altura da antera: **(I)** morfo longistilo e **(L)**.morfo brevistilo.

4.3 Proporção de morfos brevistilos e longistilos na população

A floração de *Psychotria brachyceras* ocorreu entre os meses de novembro de 2015 a janeiro de 2016, onde morfos brevistilos e longistilos floresceram ao mesmo tempo. Foram encontrados 120 indivíduos do morfo brevistilo e 99 indivíduos do morfo longistilo, ocorrendo em igual proporção na população estudada ($\chi^2_{0,05}=2,014$, $p=0,1559$), indicando isopleia para a espécie. Isto demonstra que há um equilíbrio entre os morfos na população, o que contribui para se considerar a espécie verdadeiramente distílica.

A ocorrência de isopleia também foi registrada em populações distílicas de *Psychotria poeppigiana* (COELHO; BARBOSA, 2004), *Psychotria barbiflora* (TEIXEIRA; MACHADO 2004), *Psychotria brachyphoda* (FONSECA et al., 2008), *Psychotria carthagenensis* (KOCK; SILVA; SILVA, 2010), *Psychotria carthagenensis* (FARIA et al., 2012), *Psychotria conjugens*, *Psychotria hastisepala*, *Psychotria sessilis* (SILVA; VIEIRA, 2013), *Psychotria tenuinervis* (VIRILLO et al., 2007), *Psychotria nitidula* (FURTADO, 2015), *Palicourea officinalis* e *Palicourea marcgravii* (CONSOLARO et al., 2009), *Psychotria nuda* (CASTRO; ARAÚJO, 2004), *Psychotria deflexa*, *P. nitidula*, and *P. trichophoroides* (SÁ et al., 2016). A proporção equilibrada entre os morfos brevistilo e longistilo é encontrada principalmente quando a espécie possui autoincompatibilidade (GANDERS 1979; FONSECA, 2008).

A anisopleia, condição quando os morfos não se encontram na mesma proporção na população foi registrada para a espécie *Psychotria carthagenensis* (CONSOLARO; SILVA; OLIVEIRA, 2011). Desvios da razão equilibrada entre os morfos podem ocorrer quando as populações são pequenas, quando as condições climáticas são desfavoráveis, quando a população está recém-estabelecida no ambiente, ou sofreram alguma fragmentação florestal, e também quando as espécies reproduzem-se vegetativamente ou quando ocorre a autocompatibilidade da espécie (PEREIRA et al., 2006; KOCH; SILVA; SILVA, 2010).

4.4 Reciprocidade de estruturas reprodutivas entre os morfos

Psychotria brachyceras além de apresentar caracteres morfológicos diagnósticos da distília, como a presença de indivíduos longistilos e brevistilos e uma proporção equilibrada dos morfos na população estudada, também apresentou reciprocidade de estruturas reprodutivas entre os morfos florais. A reciprocidade foi comprovada uma vez que não houve diferença significativa entre os valores da altura das anteras de flores brevistilas comparados com a altura do estigma das flores longistilas ($t = -0,863$; $p = 0,462$) e altura das anteras de flores longistilas comparados com altura do estigma de flores brevistilas ($t = -1,0885$; $p = 0,28$). As figuras 4 e 5 apresentam a distribuição das medidas de altura de estigma e altura de antera das flores brevistilas e longistilas distribuídos de forma semelhante entre si.

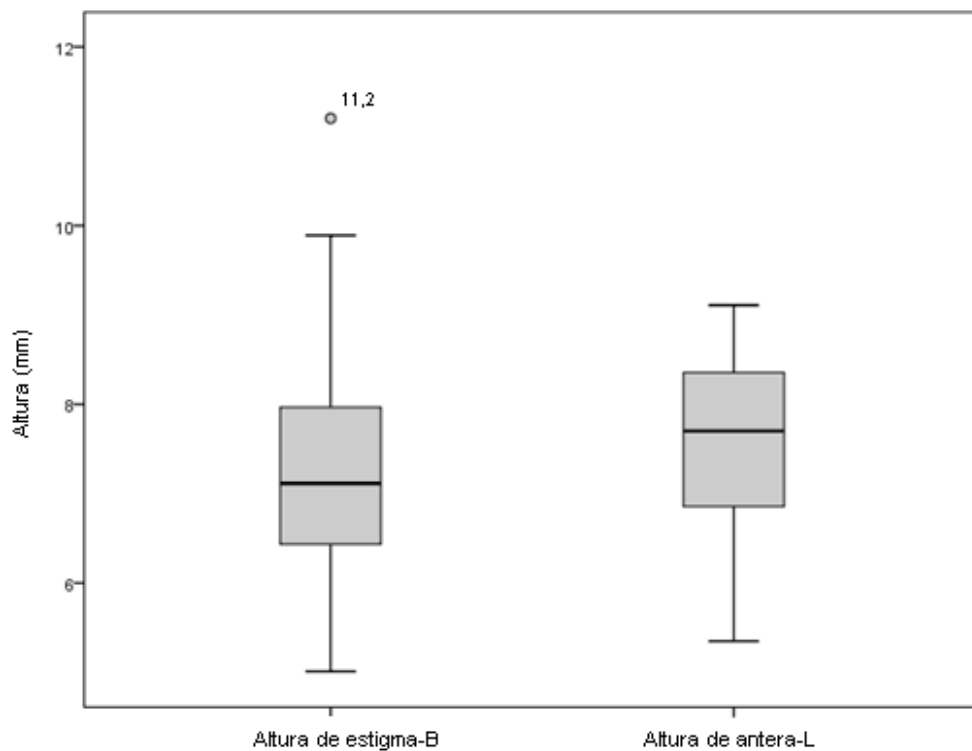


Figura 6 – Boxplot das medidas de altura de estigma e antera das flores brevistilas (B) e longistilas (L) de *Psychotria brachyceras* Müll. Arg. na área do Horto Botânico Irmão Teodoro Luiz, Capão do Leão, Rio Grande do Sul.

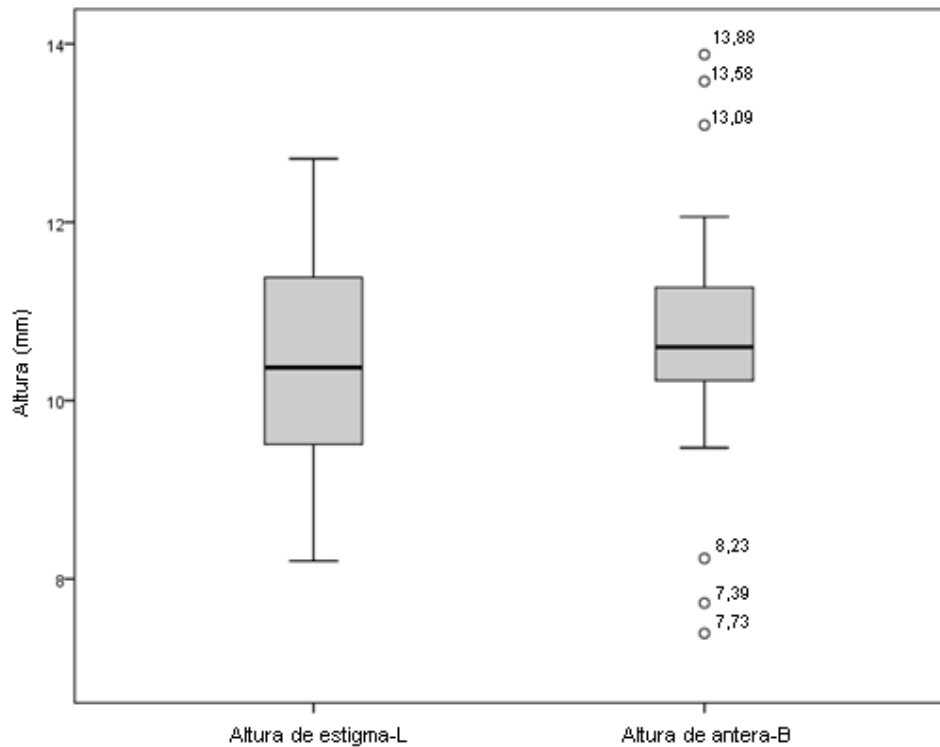


Figura 7 –Boxplot da distribuição das medidas de altura de estigma e antera das flores longistilas (L) e brevistilas (B) de *Psychotria brachycheras* Müll. Arg. na área do Horto Botânico Irmão Teodoro Luiz, Capão do Leão, Rio Grande do Sul.

A reciprocidade entre os morfos permite que os polinizadores atuem de forma mais eficiente, proporcionando a transferência de pólen mais precisa entre os indivíduos brevistilos e longistilos e garantindo um encaixe entre o local de deposição dos grãos de pólen no corpo dos polinizadores com o local que deve receber o grão de pólen correto. Isso significa que há uma transferência de grãos de pólen mais eficiente, reduzindo o desperdício de gametas masculinos, aumentando as chances de polinização legítima e evitando a interferência sexual entre os órgãos feminino e masculino e a autopolinização (BARRETT, 2002; GANDERS, 1979).

Em espécies distílicas a reciprocidade também foi confirmada em *Declieuxia fruticosa*, *Psychotria mapourioides* e *P. carthagenensis* (CONSOLARO, 2008), *Psychotria suterella* (LOPES, BUZATTO, 2005), *Psychotria tenuinervis* (VIRILLO et al., 2007). Em outras espécies distílicas de Rubiaceae a reciprocidade foi encontrada de forma parcial, ou seja, em apenas uma das alturas foi constatada reciprocidade (CONSOLARO, 2008; TEIXEIRA; MACHADO, 2004; SILVA; SEGURA, 2015) ou em outros casos, as flores apresentaram-se com hercogamia, mas não de

forma exatamente recíproca, ou seja, ocorre a diferença da altura das estruturas florais, mas estatisticamente diferente entre os morfos (CASTRO; ARAÚJO, 2004; FONSECA et al. 2004; COELHO; BARBOSA, 2004).

Alguns autores consideram a reciprocidade dos órgãos sexuais entre os morfos uma condição fundamental para uma espécie ser considerada tipicamente distílica. Esta reciprocidade é essencial para que a direcionalidade do pólen seja garantida e, conseqüentemente, a polinização cruzada entre os morfos (BARRETT, 1992; FAIVRE, 2002). Contudo, Consolaro et al. (2008) encontraram variações nos graus de reciprocidade entre espécies distílicas e discutiram que a falta de precisão na altura de antera e estigmas entre morfos nem sempre afeta o fluxo de pólen e a isopleia. Porém, quando a falta de reciprocidade interfere na direção do pólen legítimo, pode ser desfavorável interferindo no sistema reprodutivo da espécie.

5 Conclusão

Com os resultados do trabalho conclui-se que *Psychotria brachyceras* possui um sistema de cruzamento do tipo polinização cruzada intermorfo dependendo, dessa maneira, da efetividade dos polinizadores para o seu sucesso reprodutivo.

A existência de dois morfos florais (brevistilo e longistilo) que ocorrem na mesma proporção na população e a ocorrência de reciprocidade entre os morfos caracteriza *P. brachyceras* como uma espécie distílica típica. A reciprocidade na altura dos órgãos sexuais nessa espécie indica que a dispersão de pólen é direcional entre os morfos, promovendo uma polinização cruzada mais eficiente e garantindo dessa forma a manutenção e variabilidade genética da espécie.

Até o momento, das nove espécies de *Psychotria* que ocorrem no Rio Grande do Sul, nenhuma tinha seu sistema de cruzamento conhecido. O presente trabalho é pioneiro, contribuindo para o conhecimento da biologia reprodutiva de espécies heterostílicas, em especial de *Psychotria brachyceras* sendo também, o segundo trabalho desenvolvido na Região Sul do Brasil acerca da biologia reprodutiva deste gênero.

Referências

- ARROYO, J.; BARRETT, A. C. H. Discovery of distyly in *Narcissus* (Amarylidaceae). **American Journal of Botany**, v. 87, n. 5, p. 748–751, 2000.
- BARRETT, S, C, H. THE EVOLUTION OF PLANT SEXUAL DIVERSITY. **Nature Reviews Genetics**. v. 3, n. 4, p. 274-284, 2002.
- CASTRO, C.C.; ARAUJO, A. C. Distyly and sequential pollinators of *Psychotria nuda* (Rubiaceae) in the Atlantic rain forest, Brazil. **Plant Systematics and Evolution**. v. 244: 131-139. 2004
- COELHO, P. C.; BARBOSA, A. A. A. Biologia reprodutiva de *Psychotria poeppigiana* Mull. Arg. (Rubiaceae) em mata de galeria. **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 3, p. 481-489, 2004.
- CONSOLARO, Hélder Nagai. **Biologia reprodutiva de duas espécies de Rubiaceae de mata de galeria do Triângulo Mineiro – MG**. 2004. 69 f. Dissertação (Mestrado em Ecologia e Conservação de Recursos Naturais) – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, 2004.
- CONSOLARO, N. Hélder. **A distilia em espécies de Rubiaceae do Bioma Cerrado**, 2008. 115f. Dissertação (Doutorado em Ecologia) – Instituto de Ciências Biológicas, Departamento de Ecologia, Universidade de Brasília.
- CONSOLARO, H, et al. Distilia e homostilia em espécies de *Palicourea* Aubl.(Rubiaceae) do Cerrado do Brasil Central. **Revista Brasil. Botânica**. v. 32, n. 4, p.677-689, 2009.
- CONSOLARO, H., SILVA, S. C. S. Breakdown of distyly and pin-monomorphism in *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae). **Plant Species Biology**. v. 26, p. 24-32, 2011.
- CORTINÓZ, J; ILHA, P; RODRIGUES, P; DINIZ, S. Heterostilia e deposição diferencial de pólen sobre polinizador em *Psychotria nuda* (Rubiaceae). Prática da pesquisa em Ecologia da Mata Atlântica. 2008. Disponível em: <http://ecologia.ib.usp.br/curso/2008/pdf/O_04_01.pdf>. Acesso em: 14 out.2015.
- DAFNI, Amots. **Pollination Ecology: A Practical Approach**. New York: Oxford University Press. 1992, 250 p.
- DELPRETE, G. P.; SMITH, B. L.; KLEIN. M. R. **Flora Ilustrada Catarinense - Rubiaceas**. 1.ed. Santa Catarina: 2005, 842p.
- ENDRESS, Peter. **Diversity and evolutionary biology of tropical flowers**. Cambridge: Cambridge University Press. 1994. 528p.
- ESTAÇÃO AGROCLIMATOLÓGICA DE PELOTAS. Disponível em: <<http://www.cpat.embrapa.br/agromet/estacao/mensal.html>>. Acesso em: 12 ago. 2015.

FAIVRE, A. E. Variation in pollen tube inhibition sites within and among three heterostylous species of Rubiaceae. **International Journal of Plant Sciences**, v. 163, n. 5, p. 783-794, 2002.

FARIA, R. R.; FERRERO, V.; NAVARRO, L.; ARAUJO, C. A. Flexible mating system in distylous populations of *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae) in Brazilian Cerrado. **Plant Systematics and Evolution**, v. 298, n. 3, p. 619-627, 2012.

FERRERO, V. La ecología y evolución del polimorfismo floral en *Lithodora* (Boraginaceae). **Ecossistemas Revista científica y técnica de Ecología y Medio ambiente**. v. 18, n.3, p. 30-34, 2004.

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

FURTADO, Marcos Túlio Rodrigues. **A funcionalidade da distília em *Psychotria nitidula* Cham. & Schldl (Rubiaceae): o papel do polinizador na transferência de pólen**. 2015. 46 f. Dissertação (Mestrado em Botânica) – Universidade de Brasília, UnB, Brasília, 2015.

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

IBGE. Mapa de Biomas do Brasil. Disponível em:
<<http://www.ibge.gov.br/home/presidencia/noticias/21052004biomashtml.shtm>>Acesso em: 12 ago. 2015.

JUNG-MENDAÇOLLI, S.; MELHEM, T. Grãos de pólen de espécies heterostílicas de Rubiaceae. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 18, p. 61-93, 1995.

JUDD, W.S., CAMPBELL, C.S., KELLOGG, E.A., STEVENS, P.F., DONOGHUE, M.J. **Sistemática Vegetal: Um Enfoque Filogenético**. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 2009. 612p.

KARASAWA, Marines Marli Gniech. **Diversidade Reprodutiva de Plantas: Uma Perspectiva Evolutiva e Bases Genéticas**. Ribeirão Preto: Sociedade Brasileira de Genética, 2009. 113p.

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

LLOYD, D. G.; WEBB, J.; DULBERGER, R. Heterostyly in species of *Narcissus* (Amaryllidaceae) and *Hugonia* (Linaceae) and other disputed cases. **Plant Systematics and Evolution**, v. 172, n. 1-4, p. 215-227, 1990.

LOPES, Luciano; BUZATO, Silvana. Biologia reprodutiva de *Psychotria suterella* Muell. Arg. (Rubiaceae) e a abordagem de escalas ecológicas para a fenologia de floração e frutificação. **Revista Brasileira de Botânica**, n. 4, p.785-795, 2005.

MATIAS, R; OLIVEIRA, A. S; FURTADO, M; SÁ, T; RODRIGUES, E,B; OLIVEIRA, P,E; CONSOLARO. **Sistema reprodutivo atípico de duas espécies de Rubiaceae: distilia com autoincompatibilidade parcial no morfo brevistilo?** Rodriguésia. v. 2, n. 67, p. 357-368, 2016.

MORENO, José Augusto. **Clima do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Secretaria da Agricultura do Rio Grande do Sul, 1961. 42p.

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

PELLISSARO, M. Taise. **Fenologia e Biologia floral de três espécies simpátricas de *Psychotria* L. (Rubiaceae) em Floresta Estacional em Santa Maria, RS, Brasil**, 2012. 77f. Dissertação (Mestrado em Agrobiologia) – Centro de Ciências Naturais e Exatas, Universidade Federal de Santa Maria, Santa Maria.

PERCIVAL, Mary. **Floral Biology**. Oxford: Pergamon Press Ltd, 1969. 243p.

PEREIRA, Z. V; VIEIRA, M. F; CARVALHO-OKANO, R. M. 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.

Psychotria brachyceras in Flora Digital do Rio Grande do Sul e de Santa Catarina. Disponível em <www.ufrgs.br/fitoecologia/florars/open_sp.php?img=7937> Acesso em: 17 ago. 2015.

REE, R.H. Pollen Flow, Fecundity, and the Adaptive Significance of Heterostyly in *Palicourea padifolia* (Rubiaceae). **Biotropica**, v. 29, n. 3, p. 298-308, 1997.

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

RICHARDS, J.H., BARRETT, S.C.H. The Development of Heterostyly. In: **Evolution and function of heterostyly**, 1992, p. 85-126.

RODRIGUES, E. B; CONSOLARO, H. Atypical distyly in *Psychotria goyazensis* Mull. Arg. (Rubiaceae), na intramorph self-compatible species. **Acta Botanica Brasilica**, v. 27, n. 1, p. 155-161, 2013.

SÁ, T.; FURTADO, M. T.; FERRERO, V.; PÉREZ-BARRALES, R.; RODRIGUES, E. B.; SANTOS, I. G.; CONSOLARO, H. Floral biology, reciprocal herkogamy and breeding system in four *Psychotria* species (Rubiaceae). **Brazil. Botanical Journal of the Linnean Society**. 2016

- SAKAI, S.; WRIGHT, S. J. Reproductive ecology of 21 coexisting *Psychotria* species (Rubiaceae): when is heterostyly lost? **Biological Journal of the Linnean Society**, v. 93, p. 125-134, 2008.
- SANTOS, O. A.; WEBBER, A. C.; COSTA, F. R. C. Biologia reprodutiva de *Psychotria spectabilis* Steyrm. e *Palicourea* cf. *virens* (Poepp & Endl.) Standl. (Rubiaceae) em uma floresta tropical úmida na região de Manaus, AM, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 22, n. 1, p. 275-285, 2008.
- SCHOEN, D. J.; LLOYD, D. G. Self-and cross-fertilization in plants. III. Methods for studying modes and functional aspects of self-fertilization. **International Journal of Plant Sciences**, p. 381-393, 1992.
- SILVA, C. A.; SEGURA, J. A. L. Reproductive Biology and Herkogamy of *Psychotria elata* (Rubiaceae), a Distylous Species of the Tropical Rain Forests of Costa Rica. **American Journal of Plant Sciences**, v. 6, p. 433-444, 2015.
- SILVA, C. A.; VIEIRA, F. M. Sucesso reprodutivo de espécies distílicas de *Psychotria* (Rubiaceae) em sub-bosque de floresta atlântica. **Revista Árvore**, v. 37, n. 2, p. 289-297, 2013.
- SOBREVILA, C.; RAMIREZ, N.; ENRECH, N, X. Reproductive Biology of *Palicourea fendleri* and *P. petiolaris* (Rubiaceae), Heterostylous Shrubs of a Tropical Cloud Forest in Venezuela. v. 15, n. 3, p. 161-169, 1983.
- SOUZA, Vinícius Castro; LORENZI, Harri. **Botânica Sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III**. 3ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 2012. 768p.
- STRECK, V. E.; KÄMPF, N.; DALMOLIN, R. S. D.; KLAMT, E.; NASCIMENTO, P. C.; SCHNEIDER, P. **Solos do Rio Grande do Sul**. Porto Alegre: Editora UFRGS, 2002.
- TAYLOR, C.; M. GOMES; ZAPPI, D. *Psychotria* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB14153>>. Acesso em: 16 Ago. 2016.
- TEIXEIRA, G. A. L.; MACHADO, C. I. Biologia da polinização e sistema reprodutivo de *Psychotria barbiflora* DC. (Rubiaceae). **Acta Botanica Brasilica**, v. 18, n. 4, p. 853-862, 2004.
- TEIXEIRA, G. A. L.; MACHADO, C. I. *Sabicea cinerea* Aubl. (Rubiaceae): distílica e polinização em um fragmento de floresta Atlântica em Pernambuco, Nordeste do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**. v.27, n.1, p.193-204, 2004.
- TEODORO LUIS, Irmão; BERTELS, André. **Guia dos visitantes do Horto Botânico do Instituto Agrônomo do Sul**. 1.ed, Pelotas: IAS, 1951. 98p.

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

ZHOW, W; BARRETT, S. C. H; WANG, H; LI, D. Reciprocal herkogamy promotes disassortative mating in a distylous species with intramorph compatibility. **New Phytologist**, v. 206, p. 1503-1512, 2015.

WATANABE, K; KATO, H; SUGAWARA, T. Distyly and incompatibility in *Psychotria homalosperma* (Rubiaceae), an endemic plant of the oceanic Bonin (Ogasawara) Islands. **Flora-Morphology, Distribution, Functional Ecology of Plants**, v. 209, n. 11, p. 641-648, 2014.

WATANABE, K.; YANG, A. Y. T.; NISHIHARA, C.; HUANG, T.; NAKAMURA, K.; PENG, C.; SUGAWARA, T. Distyly and floral morphology of *Psychotria cephalophora* (Rubiaceae) on the oceanic Lanyu (Orchid) Island, Taiwan. **Botanical Studies**, v. 56, n. 10, p. 1-9, 2015.