



Limitação de polinizadores e mecanismo de autoincompatibilidade de ação tardia como causas da baixa formação de frutos em duas espécies simpátricas de *Inga* (Fabaceae – Mimosoideae) na Amazônia Central

Pollinator limitation and late-acting self-incompatibility mechanism as causes of low fruit set in two sympatric species of Inga (Fabaceae – Mimosoideae) in the Central Amazon

Eduardo Cristo de Oliveira Barros^{1,4}, Antonio Carlos Webber² & Isabel Cristina Machado³

Resumo

Foram estudados os sistemas reprodutivos de *Inga edulis* Mart. e *Inga stipularis* D.C. em uma área de floresta, localizada na Fazenda Experimental da UFAM, Manaus, AM, entre novembro/2006 a novembro/2007. Os resultados mostraram que as espécies não formam frutos a partir de autopolinizações e que o percentual de frutos provenientes de polinizações cruzadas em *I. edulis* (5%) e *I. stipularis* (21%) é superior ao da polinização natural (controle), 1% e 7%, respectivamente. As análises de tubos polínicos, provenientes de autopolinizações e de polinização cruzada revelaram que apenas uma pequena fração atinge os óvulos de *I. edulis* após 8 e 12 horas e os de *I. stipularis* 24 horas após a polinização. Além disso, encontra-se um maior percentual de tubos penetrando os óvulos de *I. edulis*. A chegada dos tubos nos óvulos oriundos de autopolinizações e de polinizações cruzadas é semelhante nas duas espécies. Os baixos índices de formação de frutos em *I. edulis* e *I. stipularis* provavelmente decorrem do elevado índice de geitonogamia promovido pelos polinizadores e pela autoincompatibilidade de ação tardia.

Palavras-chave: *Inga*, tubo polínico, autoincompatibilidade de ação tardia, Floresta Amazônica.

Abstract

The breeding system of *Inga edulis* Mart. and *Inga stipularis* D.C. was studied in an area of forest, located in the UFAM Experimental Farm, Manaus, AM, from November/2006 to November/2007. The results showed that both species do not set fruit from self-pollination and that the percentage of fruit set proceeding from cross-pollination in *I. edulis* (5%) and *I. stipularis* (21%) is superior to the natural pollination (control), 1% and 7%, respectively. The analyses of pollen tube, originating from self-pollination and cross-pollination, reveal that a small fraction reaches the ovules of *I. edulis* after 8 and 12 hours, and in *I. stipularis* 24 hours after pollinations. In addition there is a greater percentile of tubes penetrating in the ovules of *I. edulis*. The arrival speed of the tubes in the ovules deriving from self-pollination and cross-pollination is similar in both species. The low indices of fruit set in *I. edulis* and *I. stipularis* probably is a result from the raised index of geitonogamy promoted by the pollinators and the late-acting self-incompatibility.

Key words: *Inga*, pollen tube, late-acting self-incompatibility, Amazon rain forest.

Introdução

Nas angiospermas o excesso de abscisão floral é empregado através de três hipóteses, segundo Bawa & Webb 1984: a) limitação do polinizador, prediz que a polinização inadequada é o principal fator de aborto de flores, frutos e

sementes; b) limitação de recursos, propõe a escassez de metabólitos como causa da abscisão floral; c) seleção sexual, explica os abortos em razão da competição paterna e materna pela otimização do sucesso reprodutivo.

Além disso, os sistemas reprodutivos determinam o padrão de transmissão de genes

¹ Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Programa Integrado de Pós-Graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais (Botânica).

² Universidade Federal do Amazonas, Depto. Biologia, Est. do Contorno 3000, 69077-000, Manaus, AM, Brasil.

³ Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas, Depto. Botânica, 50372-970, Recife, PE, Brasil.

⁴ Autor para correspondência: eduardocristo@yahoo.com.br

e afetam diretamente a diversidade genética de uma população (Richards 1997). Espécies que espontaneamente se autopolinizam e são autocompatíveis podem produzir sementes sem auxílio de vetor de polinização, o que é uma adaptação vantajosa para certos ambientes, principalmente degradados (Proctor *et al.* 1996). Por outro lado, espécies que possuem flores bissexuais autoincompatíveis (SI), por exemplo, são incapazes de formar sementes após autopolinização. A elevada heterozigose decorrente da polinização cruzada pode promover alta diversidade genética em espécies que apresentam este mecanismo de incompatibilidade (Kearns & Inouye 1993; Endress 1994).

Nas Fabaceae, a ocorrência de autoincompatibilidade tem sido evidenciada com mais frequência em espécies da subfamília Mimosoideae, principalmente nas tribos Acacieae, Mimoseae e Ingeae em relação às espécies das subfamílias Caesalpinioideae e Papilionoideae (Arroyo 1981). O gênero *Inga* Mill. (Mimoseae), que possui cerca de 300 espécies distribuídas pelos neotrópicos (Pennington 1997; Souza & Lorenzi 2005), é o de maior representatividade entre as Leguminosas na Reserva Adolpho Ducke, com 32 espécies (Ribeiro *et al.* 1999). Koptur (1984) e Cruz-Neto *et al.* (2007), analisando o sistema reprodutivo através de polinizações controladas e do crescimento de tubos polínicos em várias espécies do gênero *Inga*, constataram que estas são autoincompatíveis e que, embora os tubos polínicos provenientes de autopolinizações penetrem na micrópila dos óvulos, esses são abortados posteriormente.

Dessa maneira, tem-se um sistema reprodutivo denominado como autoincompatibilidade de ação tardia (LSI) por Seavey & Bawa (1986). A LSI é um mecanismo de reconhecimento-rejeição ativa, controlado geneticamente no óvulo (Gibbs & Bianchi 1999; Lipow & Wyatt 1999). De acordo com esses autores, a LSI deve estar distribuída em espécies filogeneticamente relacionadas e sua atuação ocorre através de um único gene com múltiplos alelos (Lipow & Wyatt 2000).

Neste trabalho, objetivou-se testar quais das hipóteses propostas por Bawa & Webb (1984) promovem o excesso de abscisão floral e, estabelecer o tipo de sistema reprodutivo em duas espécies de *Inga* (Mimosoideae) que ocorrem simpatricamente em uma área de floresta de terra firme na Amazônia Central. Dessa forma, espera-se contribuir para uma maior compreensão

dos sistemas sexuais, reprodutivos e da ecologia do gênero, uma vez que, estudos que tratam da dinâmica reprodutiva de *Inga* em florestas tropicais úmidas, em especial na Amazônia, ainda são incipientes.

Material e Métodos

Área de estudo

A coleta de dados foi realizada no período de novembro de 2006 a novembro de 2007 na Fazenda Experimental da Universidade Federal do Amazonas (UFAM), Manaus-AM, (2°38'57,6"S 60°3'11"W), uma área de floresta de terra firme localizada no km 38 da BR-174. Com cerca de 3000 ha, a área localiza-se em uma região de floresta ombrófila densa, caracterizada pelo relevo acidentado, com trechos de encostas acentuadas e variação altitudinal de 96 metros entre os platôs e as regiões mais baixas (Radambrasil 1978). A estrutura florística é definida principalmente pelo tipo de solo e relevo, geralmente formando uma sequência de quatro tipos de floresta: platô, vertente, campinarana e baixio (Ribeiro *et al.* 1999).

O solo é ácido e pobre em nutrientes, do tipo latossolo amarelo álico. O clima predominante na região é quente e úmido, correspondente ao clima Am segundo a classificação de Köppen (1936). A temperatura do ar tem valores mínimos de 25 °C e máximos de 28 °C nos meses de seca. A precipitação média anual é de 2100 mm, com umidade relativa do ar sempre alta (84% a 90%) correspondendo os meses de maior umidade aos de maior incidência de chuvas (Radambrasil 1978).

Espécies estudadas

Inga edulis Mant. e *I. stipularis* D.C. são, em geral, árvores de sub-dossel ou de sub-bosque com folhas compostas, pinadas, com um nectário extrafloral entre cada par de folíolos que são sempre opostos (Pennington 1997). Suas flores são brancas com perianto inconspícuo, arranjas em forma de pincel com anteras expostas, nas quais os grãos de pólen são agrupados em políades (Endress 1994). *Inga edulis* é amplamente cultivada nos arredores da cidade de Manaus e possui distribuição geográfica do norte da América do Sul até o sul do Brasil (Ribeiro *et al.* 1999). *Inga stipularis* ocorre na Venezuela e nas Guianas, alcançando até o sul da Amazônia brasileira (Ribeiro *et al.* 1999). Ambas as espécies de *Inga* recebem semelhantes grupos de animais visitantes às suas flores. Foram

observadas visitando as flores de *I. edulis* e *I. stipularis* espécies de esfingídeos, borboletas, beija-flores, abelhas, vespas e moscas (Barros *et al.* dados não publicados).

Material botânico

Ramos férteis de *Inga edulis* e *I. stipularis* foram coletados e herborizados de acordo com as técnicas usuais e depositados no Herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA) com os respectivos números de registro: 220263 e 220262.

Sistema reprodutivo

Botões florais de diferentes indivíduos de *Inga edulis* (n=10) e *I. stipularis* (n=10), foram coletados e fixados em etanol 70%, sendo estimado o número médio de óvulos, de grãos de pólen e de anteras por flor, grãos de pólen por políades e políades por antera. Para a contagem do número de óvulos, estes foram colocados em lâmina histológica e observados sob estereomicroscópio. Para estimar o número de políades/antera, as mesmas foram maceradas sobre lâmina histológica contendo carmin acético 2% e observadas sob estereomicroscópio.

A razão pólen/óvulo (P/O) foi calculada de acordo com Cruden (1977) dividindo-se o número de grãos de pólen pelo número de óvulos em cada flor. Sendo conhecido o número médio de óvulos por flor de cada espécie e considerando também o número médio de sementes por fruto, provenientes da polinização controle, foi possível estimar a fertilidade feminina através da razão semente/óvulo (S/O) (Wiens 1984; Bawa & Webb 1984). Para os experimentos sobre o sistema reprodutivo, botões em pré-antese foram encobertos com sacos de papel semi-impermeável ou de tecido voal em dez diferentes indivíduos de *I. edulis* e *I. stipularis*.

Após o início da antese foram feitos os seguintes experimentos: autopolinização espontânea (n = 100), em que as flores previamente ensacadas não foram manipuladas; autopolinização manual (n = 100), as flores foram ensacadas no dia anterior à antese e polinizadas no dia seguinte com o próprio pólen; polinização cruzada (n = 100), em que botões florais em pré-antese foram emasculados com auxílio de tesoura de ponta fina, ensacados e no dia seguinte receberam grãos de pólen de outros indivíduos sendo novamente encobertos. A distância entre os indivíduos utilizados para os cruzamentos foi > 100 m.

Além disso, foi observada a formação de frutos em condições naturais (n = 200), sendo também verificada a ocorrência ou não de apomixia (n = 50), segundo protocolos usuais (Radford *et al.* 1974; Dafni 2005; Kearns & Inouye 1993).

Os frutos formados a partir de polinizações controladas foram coletados e foi verificado o número médio de sementes produzidas. Posteriormente, as sementes foram analisadas, sendo registrada a presença ou ausência de embrião. A partir da análise da porcentagem de frutos formados, provenientes de flores em condições naturais e submetidas à polinização cruzada, foi calculado o índice da eficácia reprodutiva baseado em Zapata & Arroyo (1978).

Para a análise do crescimento dos tubos polínicos foram feitas polinizações manuais adicionais (autopolinização e polinização cruzada) no campo em 30 flores para cada tratamento. As flores foram fixadas em FAA 70%, nos intervalos de 4, 8, 12 e 24 horas após as polinizações, sendo os pistilos posteriormente corados com azul de anilina solução aquosa e analisados em microscópio de fluorescência de acordo com Martin (1959).

Taxa de frutificação e abscisão de flores e frutos em condições naturais

Para determinar a proporção de aborto de flores e frutos em *I. edulis* e *I. stipularis* foram realizados três experimentos: a) foram marcadas aleatoriamente 50 inflorescências de dez indivíduos diferentes, para ambas as espécies. Estas tiveram seu comprimento médio registrado, sendo de 4 cm para *I. edulis* e 5 cm para *I. stipularis*. Posteriormente, foram registrados o número de flores, de frutos iniciados e frutos maduros em cada inflorescência. Em seguida, foi verificada a posição dos frutos maduros ao longo do eixo da inflorescência, sendo as inflorescências de cada espécie divididas espacialmente em três segmentos de 1,3 cm para *I. edulis* e de 1,6 cm para *I. stipularis*. Dessa forma foram reconhecidos a base, o meio e o ápice das inflorescências, sendo aplicado o teste do qui-quadrado através do software BioEstat 3.0; b) a razão fruto/flor (Fr/F) foi calculada dividindo-se o número de frutos formados nas 50 inflorescências pelo número médio de flores produzidas nestas mesmas 50 inflorescências (Bawa & Webb 1984); c) como o aborto de flores e frutos pode ser dependente da carga polínica depositada no estigma, foi examinada a formação de frutos e o tempo (em

horas) da abscisão de flores a partir da fonte de pólen. Para isso, foi feita polinização cruzada em 50 flores de indivíduos diferentes que receberam seis políades de apenas um único indivíduo e outras 50 flores que receberam concomitantemente uma mistura de políades de três indivíduos diferentes (Bawa & Webb 1984).

Resultados

Sistema reprodutivo

O número médio de óvulos, de grãos de pólen e de anteras por flor, grãos de pólen por políades e políade por antera e a razão (P/O), a razão semente/óvulo (S/O) e a razão fruto/flor (Fr/F) de *Inga edulis* e *I. stipularis* estão resumidos na Tabela 1. Pode-se observar que *I. edulis* apresenta maior número médio de grãos de pólen por políade e por flor, resultando em uma razão P/O que ultrapassa o dobro do valor da encontrada em *I. stipularis* (Tab. 1).

Os resultados dos experimentos sobre o sistema reprodutivo estão apresentados na Tabela 2. Observa-se que *I. edulis* e *I. stipularis* não formam frutos apomíticos, nem através de autopolinizações espontâneas e manuais e que houve maior percentual de frutos formados a partir de polinização cruzada quando comparados ao controle. Em *I. edulis* e *I. stipularis*, o número de frutos formados a partir de polinizações cruzadas foi baixo, mas significativamente maior em relação à polinização natural (*I. edulis* – $Z = -2,163$; $p = 0,0152$; intervalo de confiança $-0,076 - -0,004$; *I. stipularis* – $Z = -3,561$; $p = 0,0002$; intervalo de confiança $-0,217 - -0,063$), com valores de índice de eficácia reprodutiva igual a 0,2 para *I. edulis* e 0,33 para *I. stipularis* (Tab. 2). Em *I. stipularis*, os frutos formados a partir de polinizações cruzadas contêm um número significativamente maior de

sementes comparados com os do grupo controle ($U = 87,00$; $p = 0,0366$) (Tab. 2).

Em ambas as espécies a porcentagem de óvulos penetrados tanto nas flores submetidas à autopolinização, como nas flores submetidas à polinização cruzada é maior após 24h das polinizações (Tab. 3).

Em flores de *Inga edulis*, quatro horas após as polinizações, foi registrada a germinação dos grãos de pólen no estigma e a presença de tubos polínicos no primeiro terço do estilete (Fig. 2a-b). Com 8 horas após a autopolinização, apenas um dos 120 óvulos observados, foi encontrado sendo penetrado pelo tubo polínico. Com 12 horas foi possível evidenciar óvulos sendo penetrados pelos tubos polínicos tanto nas autopolinizações como nas de polinizações cruzadas (Fig. 2c-d). No entanto, 24h após as polinizações foi possível encontrar o maior percentual de tubos polínicos penetrando os óvulos de *I. edulis* em ambos os tratamentos (Fig. 2e-f).

Em *I. stipularis* os tubos polínicos começam a crescer 12 horas após as polinizações (Fig. 3a-b). Entretanto, apenas 24h após a autopolinização e a polinização cruzada é que foram encontrados tubos polínicos penetrando a micrópila dos óvulos (Fig. 3c-d).

Taxa de frutificação e abscisão de flores e frutos em condições naturais

Das 50 inflorescências marcadas ao acaso foi registrado o número médio de 26 ($\pm 3,2$) flores em *Inga edulis* e de 68 ($\pm 3,3$) em *I. stipularis*, totalizando um número de 1300 e 3400 flores respectivamente. Após um período de 30 dias foi registrada a formação de somente 8 frutos em *I. edulis* e 21 em *I. stipularis*. Durante os três meses posteriores, esses frutos foram monitorados e

Tabela 1 – Número médio de grãos de pólen por flor, anteras por flor, políades por antera, grãos por políade, óvulos por flor, razão pólen/óvulo (P/O), razão semente/óvulo (S/O) e número médio de grãos de pólen por políades/número médio de óvulos por flor em *Inga edulis* e *I. stipularis*.

Table 1 – Mean number of pollen grains in a flower, anthers in a flower, poliads in an anther, pollen grains in a poliad, ovules in a flower, pollen/ovule ratio (P/O), seed/ovule ratio (S/O) and mean number of pollen grains in a poliad/mean number of ovules in a flower of *Inga edulis* and *I. stipularis*.

Espécies	n	Pólen/ flor	Antera/ flor	Políades/ antera	Grãos/ políade	Óvulos/ flor	P/O	S/O	Grãos/ políades
<i>Inga edulis</i>	10	12000	50	8	30	26 \pm 1,7	492 \pm 22,3	0,92	1,15
<i>Inga stipularis</i>	10	2400	30	8	10	16 \pm 1,4	240 \pm 13,0	0,93	0,62

Tabela 2 – Resultados do controle e dos experimentos de polinizações manuais e eficácia reprodutiva de *Inga edulis* e *I. stipularis* na Fazenda Experimental da UFAM, município de Manaus, AM.**Table 2** – Results from the control and experiments of hand pollinations and reproductive efficacy of *Inga edulis* and *I. stipularis* at the Experimental Farm from UFAM, at Manaus, AM.

Tratamentos	<i>Inga edulis</i>				<i>Inga stipularis</i>			
	Frutos/ Flores (n)	Sucesso (%)	Nº sementes/ Fruto	Nº embriões/ semente/ fruto	Frutos/ Flores (n)	Sucesso (%)	Nº sementes/ Fruto	Nº embriões/ semente/ fruto
Controle	2/200	1	24	21	14/200	7	15	12
Auto- espontânea	0/100	0	0	0	0/100	0	0	0
Auto-manual	0/100	0	0	0	0/100	0	0	0
Polinização cruzada	5/100	5	26	25	21/100	11	16	14
Agamospermia	0/50	0	0	0	0/50	0	0	0
Eficácia reprodutiva	–	0,2	–	–	–	0,33	–	–

Tabela 3 – Frequência de óvulos penetrados pelos tubos polínicos 8, 12 e 24 horas após as autopolinizações manuais (AM) e polinizações cruzadas (PC) em *Inga edulis* e *Inga stipularis*.**Table 3** – Frequency of ovules penetrated by the pollen tubes 8, 12 e 24 hours after hand self-pollinations (AM) and cross pollinations (PC) in *Inga edulis* and *Inga stipularis*

Tratamentos	8h		12h		24h	
	Número de ovários/óvulos	% de óvulos com tubos penetrados	Número de ovários/óvulos	% de óvulos com tubos penetrados	Número de ovários/óvulos	% de óvulos com tubos penetrados
<i>Inga edulis</i>						
AM	5/120	0,83	5/120	11,6	5/120	17,5
PC	5/120	0	5/120	14,1	5/120	20
<i>Inga stipularis</i>						
AM	5/80	0	5/80	0	5/80	31,25
PC	5/80	0	5/80	0	5/80	33,75

apenas cinco em *I. edulis* e 18 em *I. stipularis* entraram em processo de dispersão, o que acarretou em uma baixa razão Fr/F, com valores de 0.003 para *I. edulis* e de 0.005 para *I. stipularis*.

Em *I. edulis*, os frutos estão dispostos ao longo de toda a inflorescência e, de acordo com os resultados do teste do qui-quadrado ($\chi^2 = 0,52$; $p = 0,771$), não há diferença significativa em relação à posição dos frutos ao longo do eixo da inflorescência. Por outro lado, dos 18 frutos formados em *I. stipularis*,

apenas quatro foram encontrados na região média da inflorescência, enquanto 14 encontrava-se no ápice, havendo dessa forma diferenças significativas quanto a localização dos frutos formados em relação ao eixo da inflorescência nessa espécie ($\chi^2 = 59,68$; $p < 0,0001$).

Nos dois grupos de flores de *I. edulis* que receberam pólen de um único doador e pólen de três doadores não houve formação de frutos. Já em *I. stipularis*, um fruto foi formado a partir de uma

flor que recebeu pólen de diferentes indivíduos. No entanto, para ambas as espécies, as flores que receberam pólen de diferentes doadores permaneceram um pouco mais de tempo na planta do que flores que receberam carga polínica provenientes de um único doador. Em *I. edulis*, a abscisão das flores que receberam grãos de pólen de diferentes doadores aconteceu 48 h após as polinizações, 12 horas a mais do que as flores que receberam grãos de pólen de um único doador. (Fig. 1a-b).

Discussão

Sistema reprodutivo

As duas espécies de *Inga* analisadas no presente estudo foram consideradas autoincompatíveis, uma vez que nenhum fruto foi formado a partir de autopolinizações, semelhante ao resultado encontrado por Koptur (1984). Em ambas as espécies, os resultados do sistema reprodutivo associados ao baixo valor da razão P/O, diverge dos encontrados para espécies xenógamas obrigatórias (Cruden 1977). Entretanto, a baixa razão P/O é encontrada em espécies que agrupam seus micrósporos em políades,

como no caso de espécies de *Calliandra* Benth. e *Asclepias* L. (Cruden 1977) e na maioria das espécies do gênero *Inga* (Koptur 1984).

Outra divergência ocorreu na razão semente/óvulo (S/O). De acordo com Wiens (1984), Bawa & Webb (1984) e Bawa & Buckley (1989), espécies autoincompatíveis apresentam valores de S/O inferiores aos de espécies autocompatíveis. No entanto, *I. edulis* e *I. stipularis*, apresentaram valores elevados de S/O, semelhantes aos de outras espécies da subfamília Mimosoideae, como *Acacia collinsii* Saff., *Enterolobium cyclocarpum* Jacq. e *Pithecellobium saman* Benth., que são alógamas e possuem grãos de pólen agrupados em políades (Bawa & Buckley 1989). A alta razão S/O em espécies que possuem políades é justificada, segundo Kress (1981) e Bawa & Buckley (1989), pelo fato de que nessas plantas uma única políade é suficiente para promover a fecundação de todos os óvulos de determinada flor sem que ocorra aborto. Essa estratégia reduz a competição entre óvulos, uma vez que todos os grãos de pólen contidos nas políades são geneticamente similares entre si, promovendo, dessa maneira, alta formação de sementes. Por outro lado, os baixos valores de 0,003 e 0,005 encontrados nas razões fruto/flor (Fr/F) de *I. edulis* e *I. stipularis*, respectivamente, são semelhantes aos valores de espécies cujas flores são autoincompatíveis (Bawa & Buckley 1989).

A autoincompatibilidade vem sendo referida como condição ancestral nas Angiospermas (Nettancourt 1997; Gibbs 1990). De acordo com Arroyo (1981), na família Fabaceae a autoincompatibilidade é mais difundida entre espécies arbóreas do que em espécies herbáceas. O gênero *Inga* é essencialmente formado por árvores e todas as espécies que foram testadas com relação ao sistema reprodutivo foram consideradas autoincompatíveis (Arroyo 1981; Koptur 1984; Cruz-Neto *et al.* 2007). Apesar da tendência da autoincompatibilidade em promover maior variabilidade genética, ela também pode influenciar negativamente na formação de frutos, uma vez que pode ocorrer ineficiência no transporte de pólen, principalmente em indivíduos isolados e a obstrução do estigma por pólen da própria flor, deixando pouco espaço disponível para posterior depósito de pólen compatível (Richards 1997).

Com relação aos resultados obtidos com as análises de tubos polínicos, pode-se afirmar que não existe um sistema clássico de autoincompatibilidade (SI) pré-zigótico (Gibbs & Bianchi 1999) que evite o crescimento dos tubos polínicos em *I. edulis* e *I.*

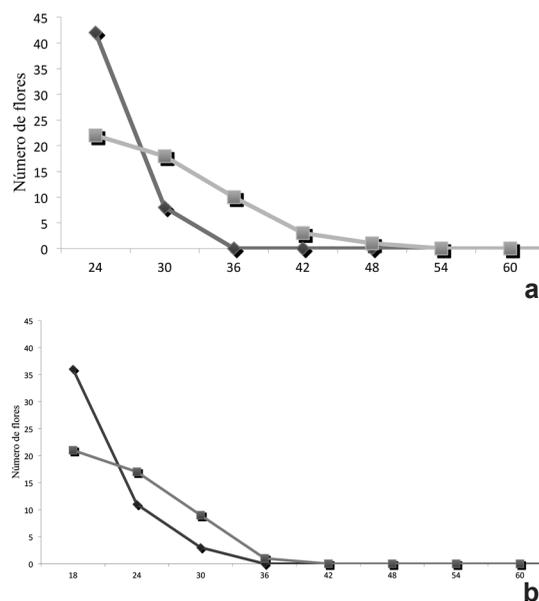


Figura 1 – Tempo de abscisão das flores que foram polinizadas com pólen de apenas um doador (■) e de três doadores diferentes (●). a = *Inga edulis* e b = *Inga stipularis*.

Figure 1 – Abscission time of flowers pollinated with pollen from only one donor (■) and from three different donors (●). a = *Inga edulis* e b = *Inga stipularis*.

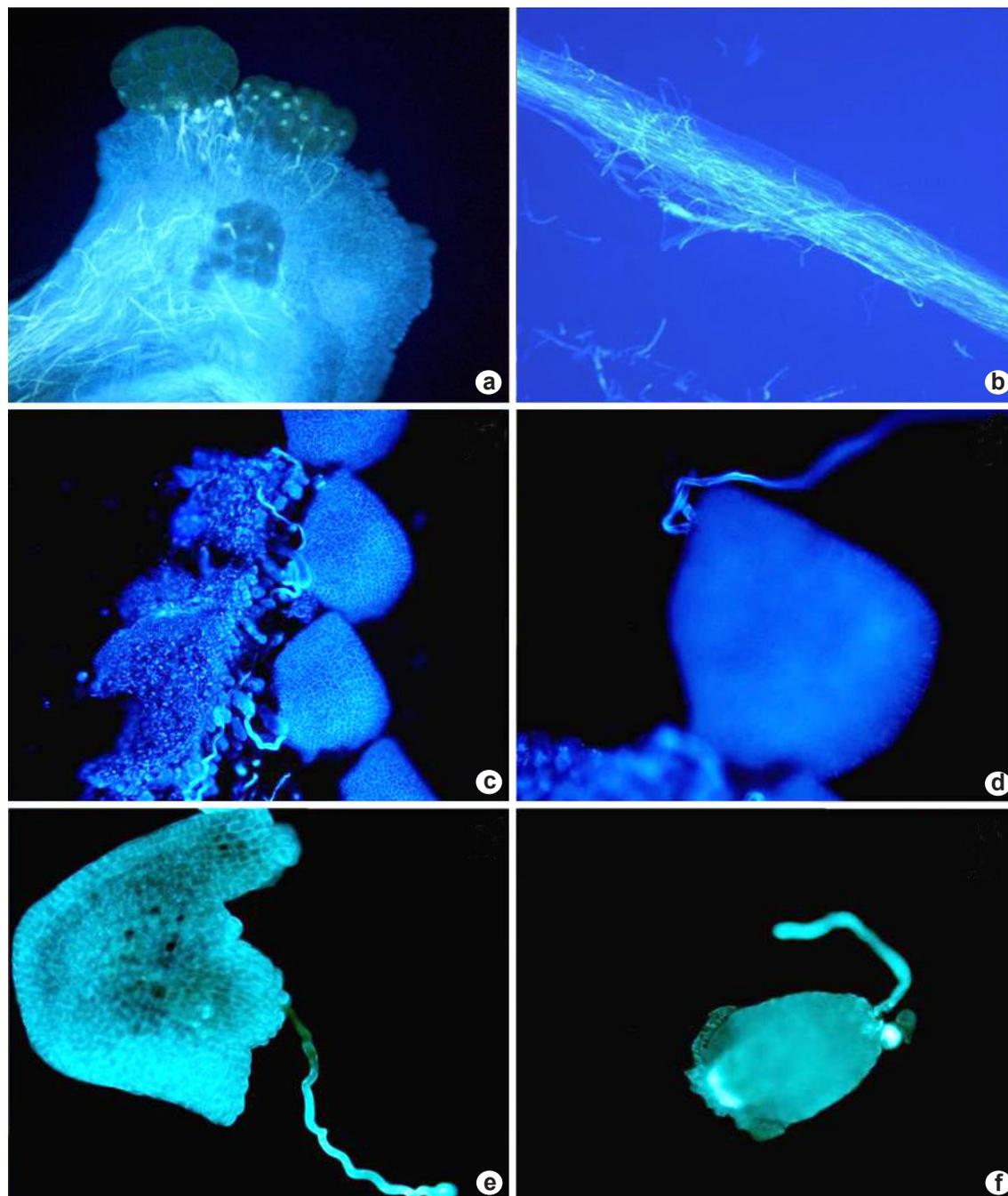


Figura 2 – Tubos polínicos em *Inga edulis* Mart. (Fabaceae – Mimosoideae). a – políades germinando no estigma; b – tubos polínicos provenientes de autopolinização manual no primeiro terço do estilete 4h após a polinização; c e d – tubos polínicos provenientes de autopolinizações penetrando as micrópilas dos óvulos após 12h; e – óvulo penetrado após 24h de polinização cruzada; f – óvulo penetrado após 24h de auto-polinização.

Figure 2 – Pollen tubes in *Inga edulis* Mart. (Fabaceae – Mimosoideae). a – poliads germinating on stigma; b – pollen tubes from artificial self-pollination at the first one third from the style 4 h after pollination; c e d – pollen tubes from self-pollination penetrating the micropyles after 12h; e – penetrated ovule after 24 of cross pollination; f – penetrated ovule after 24 h of self-pollination.

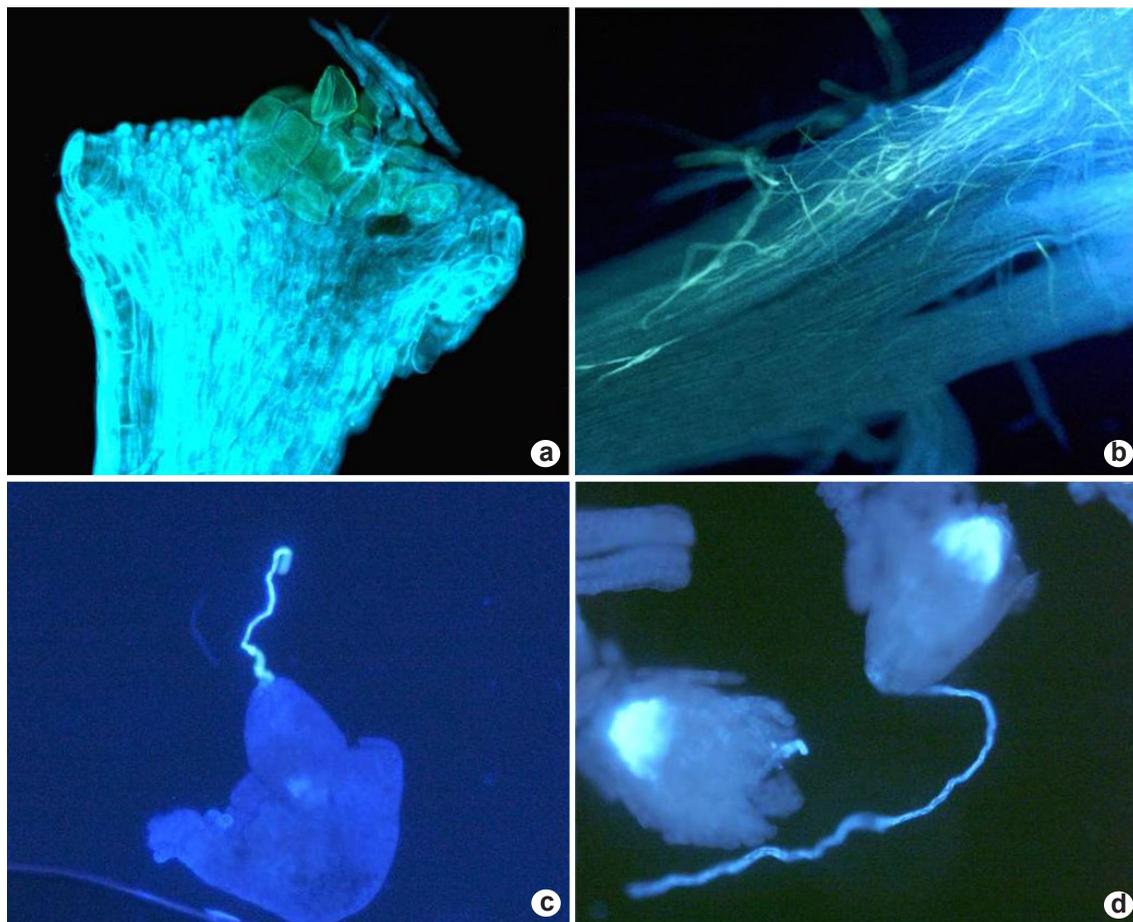


Figura 3 – Tubos polínicos em *Inga stipularis* D.C. (Fabaceae – Mimosoideae). a e b – políades germinando no estigma e tubos polínicos crescendo no primeiro terço do estilete 12h após a polinização cruzada; c – óvulo penetrado após 24h de auto-polinização; d – óvulo penetrado após 24h de polinização cruzada.

Figure 3 – Pollen tubes in *Inga stipularis* D.C. (Fabaceae – Mimosoideae). a e b – poliads germinating on the stigma and pollen tubes growing at the first one third from the style 12h after cross pollination; c – penetrated ovule 24h after self-pollination; d – penetrated ovule 24 h after cross pollination.

stipularis. Koptur (1984), analisando o crescimento de tubos polínicos em sete espécies de *Inga*, também constatou que não havia uma barreira que impedisse a germinação dos grãos de pólen ao longo do estilete, propondo que a incompatibilidade se dava após a penetração dos tubos nas micrópilas dos óvulos.

Esse sistema de incompatibilidade no qual flores autofecundadas são abortadas apenas após os óvulos serem atingidos pelos tubos polínicos, denominado sistema de autoincompatibilidade de ação tardia (LSI) (Seavey & Bawa 1986), ocorre em várias espécies de outras famílias, como *Apocynum cannabinum* L., Apocynaceae (Lipow & Wyatt 1999); *Casearia grandiflora* Cambess., Flacourtiaceae (Machado & Oliveira 2000);

Capparis retusa Griseb., Capparaceae (Bianchi & Gibbs 2000), espécies de *Kielmeyera*, Clusiaceae (Barros 2002) e de *Eucalyptus*, Myrtaceae (Pound *et al.* 2003); *Capparis jacobinae* Moric. ex Eichler, Brassicaceae (Primo & Machado 2009).

Foram encontradas duas características reprodutivas em *I. edulis* e *I. stipularis*, que se enquadram no sistema de autoincompatibilidade de ação tardia: primeiramente, as espécies analisadas no presente estudo apresentam padrão de abscisão de flores autopolinizadas uniforme e precoce, embora os tubos polínicos provenientes desse tratamento alcancem os sacos embrionários, no qual não existe no sistema esporofítico ou gametofítico; segundo, o tempo de penetração

dos tubos polínicos nos óvulos são similares entre as autopolinizações e as polinizações cruzadas, o que é semelhante ao encontrado por Bianchi & Gibbs (2000) em *Capparis retusa*; por Primo & Machado (2009) em *Capparis jacobinae*; por Gibbs & Bianchi (1993) em *Chorisia chodatii* Hassl., *C. speciosa* A. St.-Hil. (Malvaceae), *Tabebuia caraiba* Bureau. e *T. ochracea* (Cham.) Standl. (Bignoniaceae); por Gibbs & Bianchi (1999) em *Dolichandra cynanchoides* Cham. e *Tabebuia nodosa* Griseb. (Bignoniaceae); por Bittencourt *et al.* (2003) em *Spathodea campanulata* Buch.-Ham. ex DC. (Bignoniaceae); por Gibbs *et al.* (1999) em *Hymenaea stigonocarpa* Mart. ex Hayne. (Fabaceae) e por Gibbs *et al.* (2004) em duas espécies do gênero *Ceiba* Mill. (Malvaceae). Desta forma, é provável que a LSI atuante em *Inga edulis* e *I. stipularis* seja determinada a partir de uma resposta ativa de origem pós-zigótica.

Taxa de frutificação e abscisão de flores e frutos em condições naturais

Das 1300 e 3400 flores monitoradas, respectivamente em *Inga edulis* e *I. stipularis*, apenas 0,4% e 0,5% formaram frutos que atingiram a fase de deiscência. Espécies de Leguminosae, como em várias outras plantas autoincompatíveis, produzem muito mais flores do que frutos (Stephenson 1981; Bawa & Webb 1984; Koptur 1984; Burd 1998). Segundo Bawa & Webb (1984), existem três hipóteses que podem explicar esse fenômeno que aparentemente é comum nas angiospermas.

A primeira hipótese é a de limitação de recursos, a qual, segundo Stephenson (1981), é a principal causa de aborto de flores, frutos e sementes. De acordo com Wyatt (1982), a probabilidade de uma flor ser fecundada está relacionada com a sua posição na inflorescência, o que aumentaria a competição por recursos, uma vez que frutos formados na base da inflorescência podem agir como limitantes de metabólitos para frutos que poderiam se formar no seu ápice (Pate & Farrington 1981). No entanto, a semelhança do encontrado por Teixeira *et al.* (2006) com *Dahlstedtia pentaphylla* (Taub.) Burkart, *I. edulis* não apresentou diferenças significativas em relação à posição dos frutos ao longo do eixo da inflorescência, e contrariando essa hipótese, a maioria dos frutos formados em *I. stipularis* encontrava-se no ápice das inflorescências. Para Torres & Galleto (1999), a escassez de recursos pode limitar a formação de frutos, no entanto, caso um fruto atinja estágio de

maturação que ultrapasse a fase abortiva, esse irá se desenvolver com qualidade, independentemente de sua posição na inflorescência. O que pode estar havendo nas espécies estudadas é a incapacidade fisiológica da planta mãe em produzir e maturar um número de frutos equivalente ao número de flores (Ruiz & Arroyo 1978; Koptur 1984).

A segunda hipótese está associada à seleção sexual, que postula o aborto como consequência do conflito entre o sucesso reprodutivo masculino “*versus*” o feminino (Charnov 1979; Bawa & Webb 1984). As pequenas diferenças aqui encontradas quanto a formação de frutos, sementes e embriões resultantes de polinização cruzada e aberta (Tabela 2) e a semelhança no tempo de abscisão entre flores que receberam pólen de apenas um doador e flores que receberam pólen de três indivíduos diferentes sugerem, assim como reportado previamente por Stephenson (1981), Udovic (1981), Wyatt (1982) e Bawa & Webb (1984), que a alta taxa de abscisão floral ocorra em virtude de que, apesar de serem bissexuais, essas flores assumem apenas a função masculina, promovendo, dessa forma, a atração para os polinizadores e o consequente fluxo de pólen, o qual ocasiona o sucesso reprodutivo paternal.

A terceira e última hipótese é a limitação do polinizador, que afirma que a polinização inadequada pode causar alto percentual de abscisão floral. Wilcock & Neiland (2002), analisando uma população natural de *Persoonia mollis* R.Br., (Proteaceae), observaram que 96% do fluxo polínico ocorre a uma distância de apenas 1 m dentro da população. De acordo com o comportamento e frequência dos visitantes florais nas duas espécies de *Inga* analisadas, o alto índice de aborto de flores provavelmente está associado principalmente a este fator. Observações detalhadas dos polinizadores destas duas espécies feitas por Barros (2008) mostram esfingídeos, borboletas, abelhas e beija-flores como seus efetivos polinizadores. Os elevados níveis de geitonogamia promovidos pelo curto deslocamento dos animais visitantes entre flores do mesmo indivíduo em ambas as espécies devem ser a causa da baixa produção de frutos, uma vez que *I. edulis* e *I. stipularis* são autoincompatíveis. Além disso, como em *I. edulis* basta apenas uma políade para fecundar todos os óvulos de uma flor, a deposição de pólen incompatível no estigma por meio dos polinizadores pode selecionar geneticamente flores cujo estigma recebeu políades compatíveis e descartar as flores que receberam políades de doadores parentais próximos.

Em resumo, as causas que provocam o excesso de abscisão floral nas duas espécies de *Inga* estudadas são: 1) limitação de recursos, 2) seleção sexual, 3) geitonogamia excessiva promovida pelo comportamento dos polinizadores e 4) autoincompatibilidade. No entanto, os poucos frutos formados provavelmente possuam sementes com grande variabilidade genética, o que pode explicar o sucesso dessas espécies nos ambientes por elas ocupados.

Agradecimentos

Ao M.Sc. Robson Rodrigues a ajuda no trabalho de campo. À Dra Ana Virgínia Leite (UFRPE) a ajuda nas análises dos tubos polínicos. Ao Dr. Thierry Gasnier (UFAM) o auxílio com as análises estatísticas. Ao Dr. Marcos Antonio (UFAM) por permitir o desenvolvimento deste trabalho na Fazenda Experimental da UFAM. Ao Laboratório de Citogenética Vegetal do Departamento de Botânica (UFPE) por disponibilizar o microscópio de fluorescência. Ao Laboratório de Biologia Floral e Reprodutiva (UFPE) o suporte logístico. Ao CNPq a concessão da bolsa de Mestrado e a CAPES o apoio financeiro.

Referências

- Arroyo, M.T.K. 1981. Breeding systems and pollination biology in Leguminosae. *In*: Polhill, R.M. & Raven, P.H. (eds.). *Advances in legume systematics II*. Royal Botanic Gardens, Kew. Pp. 723-769.
- Barros, E.C.O.; Webber, A.C. & Machado, I.C. 2008. Fenologia da floração, polinização e sistema reprodutivo de duas espécies simpátricas de *Inga* na Amazônia Central. Dissertação de Mestrado. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus. 84p.
- Barros, M.A.G. 2002. Floração sincrônica e sistemas reprodutivos em quatro espécies de *Kielmeyera* Mart (Guttiferae). *Acta Botanica Brasílica* 16: 113-122.
- Bawa, K.S. & Buckley, D.P. 1989. Seed: ovule ratios, selective seed abortion and mating systems in Leguminosae. *In*: Stirton, C.H. & Zarucchi, J.L. (eds.). *Advances in legume biology*. Missouri Botanical Garden. Pp. 243-262.
- Bawa, K.S. & Webb, C.J. 1984. Flower, fruit and seed abortion in tropical forest trees: implications for the evolution of paternal and maternal reproductive patterns. *American Journal of Botany* 71: 736-751.
- Bianchi, M.B. & Gibbs, P.E. 2000. Late-acting self-incompatibility in *Capparis retusa* (Capparaceae), a species of Chaco woodland in NE Argentina. *Revista Brasileira de Botânica* 23: 395-400.
- Bittencourt, N.S.; Gibbs, P.E. & Semir, J. 2003. Histological study of post pollination events in *Spathodea campanulata* Beauv. (Bignoniaceae), a species with late-acting self-incompatibility. *Annals of Botany* 91: 827-834.
- Burd, M. 1998. "Excess" flower production and selective fruit abortion: a model of potential benefits. *Ecology* 79: 2123-2132.
- Charnov, E.L. 1979. Simultaneous hermaphroditism and sexual selection. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 76: 2480-2484.
- Cruden, R.W. 1977. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. *Evolution* 31: 32-46.
- Cruz-Neto, O.; Lopes, A.V.F. & Machado, I.C. 2007. Ecologia da Polinização de *Inga striata* (Benth.) (Leguminosae-Mimosoideae) em um remanescente de Mata Atlântica no Nordeste do Brasil. *Revista Brasileira de Biociências* 5: 570-572.
- Dafni, A. 2005. *Pollination ecology: a practical approach*. Oxford University Press, New York. 250p.
- Endress, P.K. 1994. *Diversity and evolutionary biology of tropical flowers*. Cambridge University Press, Cambridge. 311p.
- Gibbs, P.E. 1990. Self-incompatibility in flowering plants: a neotropical perspective. *Revista Brasileira de Botânica* 13: 125-136.
- Gibbs, P.E. & Bianchi, M.B. 1993. Post-pollination events in species of *Chorisia* (Bombacaceae) and *Tabebuia* (Bignoniaceae) with late-acting self-incompatibility. *Acta Botanica* 106: 64-71.
- Gibbs, P.E. & Bianchi, M.B. 1999. Does late-acting self-incompatibility (LSI) show family clustering? Two more species of Bignoniaceae with LSI: *Dolichandra cynanchoides* and *Tabebuia nodosa*. *Annals of Botany* 84: 449-457.
- Gibbs, P.E.; Oliveira, P.E. & Bianchi, M.B. 1999. Postzygotic control of selfing in *Hymenaea stigonocarpa* (Leguminosae – Caesalpinioideae), a bat-pollinated tree of the Brazilian Cerrados. *International Journal of Plant Science* 160: 72-78
- Gibbs, P.E.; Bianchi, M.B. & Ranga, N.T. 2004. Effects of self-chase and mixed self-cross-pollinations on pistil longevity and fruit set in *Ceiba* species (Bombacaceae) with late-acting self-incompatibility. *Annals of Botany* 94: 305-310.
- Kearns, C.A. & Inouye, D.W. 1993. *Techniques for pollination biologists*. University Press of Colorado, Colorado. 583p.
- Köppen, W.P. 1936. Das Geographische System der Klimate. *In*: Köppen, W. & Geiger, R. (eds.). *Handbuch der Klimatologie*. Gebrüder Bornträger, Berlin.
- Koptur, S. 1984. Outcrossing and pollinator limitation of fruit set: breeding systems of neotropical *Inga* trees (Fabaceae: Mimosoideae). *Evolution* 38: 1130-1143.
- Kress, W.J. 1981. Sibling competition and evolution of pollen unit, ovule number and pollen vector in angiosperms. *Systematic Botany* 6: 101-112.

- Lipow, S.R. & Wyatt, R. 1999. Floral morphology and late-acting self-incompatibility in *Apocynum cannabinum* (Apocynaceae). *Plant Systematics and Evolution* 219: 99-109.
- Lipow, S. R. & Wyatt, R. 2000. Single gene control of postzygotic self-incompatibility in poke milkweed, *Asclepias exaltata* L. *Genetics* 154: 893-907.
- Machado, A.O. & Oliveira, P.E.A.M. 2000. Biologia floral e reprodutiva de *Casearia grandiflora* Camb. (Flacourtiaceae). *Revista Brasileira de Botânica* 23: 283-290.
- Martin, F.W. 1959. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Technology* 34: 125-128.
- Nettancourt, D. 1997. Incompatibility in angiosperms. *Sexual Plant Reproduction* 10: 185-199.
- Pate, J.S. & Farrington, P. 1981. Fruit set in *Lupinus angustifolius* cv. Unicrop II. Assimilate flow during flowering and early fruiting. *Australian Journal of Plant Physiology* 8: 307-318.
- Pennington, T.D. 1997. The genus *Inga*. Royal Botanic Gardens, Kew. 844p.
- Pound, L.M.; Wallwork, M.A.B.; Potts, B.M. & Sedgley, M. 2003. Pollen tube growth and early ovule development following self and cross-pollination in *Eucalyptus nitens*. *Sex Plant Reproduction* 16: 59-69.
- Primo, L.M. & Machado, I.C. 2009. A new case of late-acting self-incompatibility in *Capparis* L. (Brassicaceae): *C. jacobinae* Moric. ex Eichler, an endemic andromonoecious species of the Caatinga, Pernambuco State, Brazil. *Acta Botanica Brasilica* 23: 764-768.
- Proctor, M.; Yeo, P. & Lack, A. 1996. The natural history of pollination. Harper Collins, London. 479p.
- Radambrasil. 1978. Levantamento de recursos naturais. Vol. 18. Folha AS.20, Manaus. Geologia, geomorfologia, pedologia, vegetação, uso potencial da terra. Departamento Nacional de Produção Mineral, Ministério das Minas e Energia, Rio de Janeiro.
- Radford, A.E.; Dickinson, W.C.; Massey, J.R. & Bell, C.R. 1974. Vascular plant systematics. Harper & Row, New York. 891p.
- Ribeiro, J.E.L.S.; Hopkins, M.J.G.; Vicentini, A.; Sothers, C.A.; Costa, M.A.S.; Brito, J.M.; Souza, M.A.D.; Martins, L.H.P.; Lohmann, L.G.; Assunção, P.A.C.L.; Pereira, E.C.; Silva, C.F.; Mesquita, M.R. & Procópio, L.C. 1999. Flora da Reserva Ducke: Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra firme na Amazônia Central. Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia/DFID, Manaus. 800p.
- Richards, A.J. 1997. Plant breeding systems. 2nd ed. Chapman & Hall, London. 529p.
- Ruiz T. & Arroyo, K.M.T. 1978. Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest in Venezuela. *Biotropica* 10: 221-230.
- Seavey, S.R. & Bawa, K.S. 1986. Late-acting self-incompatibility in angiosperms. *Botanical Review* 52: 195-219.
- Stephenson, A.G. 1981. Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. *Review of Ecology and Systematics* 12: 253-279.
- Teixeira, S.P.; Pereira, R.A.S. & Taroda, N. 2006. Components of fecundity and abortion in a tropical tree, *Dahlstedtia pentaphylla* (Leguminosae). *Brazilian Archives of Biology and Technology* 49: 905-913.
- Torres, C. & Galleto, L. 1999. Factors constraining fruit set in *Mandevilla pentlandiana* (Apocynaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 129: 187-205.
- Udovic, D. 1981. Determinants of fruit set in *Yucca whipplei*: reproductive expenditure vs. pollinator availability. *Oecologia* 48: 389-399.
- Wiens, D. 1984. Ovule survivorship, brood size, life stoty, breeding systems and reproductive success in plants. *Oecologia* 64: 47-53.
- Wilcock, C. & Neiland, R. 2002. Pollination failure in plants: why it happens and when it matters. *Trends Plant Sci* 7: 270-277.
- Wyatt, R. 1982. Inflorescence architecture: How flower number, arrangement and phenology affect pollination and fruit-set. *American Journal of Botany* 69: 585-594.
- Zapata, T.R. & Arroyo, M.T.K. 1978. Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest in Venezuela. *Biotropica* 10: 221-230.