

Estrutura sexual e ecologia reprodutiva de *Amaioua guianensis* Aubl. (Rubiaceae), uma espécie dióica de formações florestais de cerrado

FELIPE WANDERLEY AMORIM^{1,2} e PAULO EUGÊNIO OLIVEIRA¹

(recebido: 15 de setembro de 2005; aceito: 13 de julho de 2006)

ABSTRACT – (Sexual structure and reproductive ecology of *Amaioua guianensis* Aubl. (Rubiaceae), a dioecious species of “cerrado” woody plant formations). The breeding biology of *Amaioua guianensis* was studied in a forest area at Parque do Sabiá in Uberlândia, MG, Brazil, between September 2003 and April 2005. Phenology, breeding system, flower morphology, pollinator and disperser’s assemblages, and sexual structure of the reproductive individuals were investigated. *Amaioua guianensis* is a woody dioecious species common in Brazilian forest areas. Flowers are hexamerous, tubular, whitish and odoriferous, pollinated by relatively specialized vectors as large bees and hawkmoths. Pistillate flowers produced nectar earlier and in larger amounts than the staminate ones. Staminate flowers were produced in larger numbers per inflorescence and were significantly larger than the pistillate ones. Flowers were presented in terminal inflorescences, composite umbels in the staminate and simple ones in pistillate individuals. Both male and female flowers produced non-functional sexual structures of the opposite morph, but the style of male flowers act as a pseudo-stamen, a secondary pollen presentation mechanism which is common in the tribe Gardenieae but had not been described previously to the species. Sexual ratio was significantly male biased and gender was distributed contagiously in the area, probably due in both cases to vegetative multiplication and disturbance. Natural pollination was as high as 98.6% and fruit set was 75.7%. Apomictic fruit production was very low (3.4%). Fruits were dispersed by birds. Floral morphology and relatively specialized pollinator’s fauna rendered efficient pollination service and fruit production in the species even in the relatively disturbed study area.

Key words - *Amaioua*, dioecy, pollination, Rubiaceae, secondary pollen presentation

RESUMO – (Estrutura sexual e ecologia reprodutiva de *Amaioua guianensis* Aubl. (Rubiaceae), uma espécie dióica de formações florestais de cerrado). A biologia reprodutiva de *Amaioua guianensis* foi estudada numa área de Mata no Parque do Sabiá, Uberlândia, MG, Brasil, entre setembro de 2003 e abril de 2005. Foram investigados a fenologia, o sistema reprodutivo, a morfologia floral, o conjunto de polinizadores e dispersores, e a estrutura sexual dos indivíduos reprodutivos. *Amaioua guianensis* é uma espécie arbórea dióica comum em formações florestais brasileiras. Suas flores são hexâmeras, tubulares, esbranquiçadas e odoríferas, polinizadas por vetores relativamente especializados como grandes abelhas e esfingídeos. Flores pistiladas produziram néctar mais precocemente e em maior volume que as estaminadas. As estaminadas foram produzidas em maior número por inflorescência e eram significativamente maiores que as pistiladas. As flores eram dispostas em inflorescências terminais, umbelas compostas nas masculinas e simples nas femininas. Ambos os morfos apresentaram estruturas sexuais não funcionais do morfo oposto, contudo, o estilete nas flores masculinas parece funcionar como pseudo-estame, um mecanismo de apresentação secundária de pólen comum na tribo Gardenieae, porém ainda não descrito para a espécie. A razão sexual foi de 1,49 a favor de indivíduos masculinos, e a população apresentou distribuição agrupada dos morfos sexuais. Ambos os casos provavelmente ocorrem como conseqüências de perturbação e reprodução vegetativa. A taxa de flores polinizadas naturalmente foi de 98,6% e de produção de frutos 75,7%. A produção de frutos por apomixia foi muito baixa (3,4%). Os frutos foram dispersos efetivamente por aves. A morfologia floral associada à fauna de polinizadores relativamente especializados tornou o serviço de polinização e produção de frutos muito eficaz, mesmo nas condições de perturbação da área estudada.

Palavras-chave - *Amaioua*, apresentação secundária de pólen, dioicia, polinização, Rubiaceae

Introdução

O manejo e a conservação dos ecossistemas e da diversidade genética que compõem o cerrado estão

intimamente ligados aos sistemas de polinização e dispersão de suas espécies vegetais (Oliveira & Gibbs 2000). Estudos recentes têm mostrado que plantas de Cerrado e matas da região dependem da reprodução sexuada para sua regeneração e dispersão (Oliveira & Gibbs 2000). Reprodução sexuada mediada obrigatoriamente por vetores bióticos parece ser preponderante entre as espécies lenhosas, sendo a maioria delas auto-incompatíveis ou dióicas (Oliveira 1996, Oliveira & Gibbs 2000).

1. Universidade Federal de Uberlândia, Instituto de Biologia, Caixa Postal 593, 38400-902 Uberlândia, MG, Brasil.
2. Autor para correspondência: amorimfelipe@yahoo.com.br

A dioícia é um sistema sexual amplamente distribuído entre as angiospermas (Renner & Ricklefs 1995), e caracteriza-se pela separação completa das funções sexuais das flores em indivíduos produtores de flores exclusivamente estaminadas ou pistiladas (Freeman *et al.* 1997, Tanurdzic & Banks 2004). Devido à separação sexual, flores estaminadas (masculinas) e pistiladas (femininas) geralmente apresentam características sexuais secundárias, tais como diferenças de tamanho e atratividade (Grant 1995), que podem ser vistas como estratégia adaptativa para possibilitar o fluxo direcional de pólen a estigmas coespecíficos (Mayer & Charlesworth 1991, Miller & Venable 2003). A dioícia provavelmente evoluiu várias vezes dentro das Angiospermas, sendo redução de endogamia, especialização sexual (alocação de recursos em indivíduos masculinos e femininos) e seleção disruptiva, discutidos como os principais fatores responsáveis pela evolução deste sistema reprodutivo (Bawa 1980, Freeman *et al.* 1997).

Em comunidades de cerrado, a frequência de espécies lenhosas dióicas (cerca de 15% das espécies) parece ser maior que na flora de angiospermas como um todo (Oliveira 1996, Oliveira & Gibbs 2000, mas veja Matallana *et al.* 2005) que é estimada em cerca de 6% (Renner & Ricklefs 1995). A família Rubiaceae possui distribuição concentrada principalmente nas regiões tropicais do planeta, com dioícia ocorrendo em pelo menos 10% dos gêneros (Robbrecht 1988). O gênero *Amaioua* é pertencente à tribo Gardenieae (Persson 1996) e possui cerca de 25 espécies (Mabberley 1987). A ocorrência de dioícia é comum nesta tribo, especialmente nas espécies tropicais (Robbrecht 1988). *Amaioua guianensis* Aubl. é uma espécie arbórea dióica, comum no sub-bosque de formações florestais de todo o Brasil (Lorenzi 1992) e estudos acerca de sua biologia reprodutiva são inexistentes.

Este trabalho teve como objetivos caracterizar a biologia da polinização e reprodução de *Amaioua guianensis* e analisar os fatores determinantes da estrutura sexual (distribuição de gênero) da população. Para tal, foram estudados detalhadamente: a fenologia, o sistema reprodutivo, a morfologia floral, a comunidade de polinizadores e dispersores, a razão sexual e a distribuição espacial dos indivíduos reprodutivos.

Material e métodos

Área de estudo – O estudo foi realizado entre os meses de setembro de 2003 e abril de 2005 numa área de mata mesófila

semidecídua no Parque do Sabiá (18°54'00" S e 48°13'39" W), situado a uma altitude média de 890 m do nível do mar, no perímetro urbano do município de Uberlândia, MG. A área é marcada por constantes perturbações, devido à atividade antrópica, principalmente o intenso pisoteio. A área total é de 185 ha, dos quais apenas 35 são ocupados por remanescentes de vegetação nativa (Del Grossi 1993). O clima é do tipo Aw megatérmico (segundo a classificação de Köppen), com inverno frio e seco e verão quente e úmido (Rosa *et al.* 1991). Os dados climatológicos referentes ao período de estudo foram obtidos no Laboratório de Climatologia e Recursos Hídricos da Universidade Federal de Uberlândia, situado a cerca de 2 km da área estudada.

Fenologia – As análises fenológicas foram feitas mensalmente em 20 indivíduos (13 masculinos e sete femininos) marcados aleatoriamente, sexados e etiquetados. Durante o período de floração no segundo ano de estudo, estas observações foram semanais. As fenofases observadas foram: caducifolia, emissão de brotos foliares, produção de botões florais, flores e frutos. Cada fenofase foi quantificada pela atribuição de notas que designaram sua intensidade (modificado de Fournier 1974 com diferença nas amplitudes de classe, conforme Carvalho & Oliveira 2003 e Ribeiro & Castro 1986). As notas atribuídas variaram de 0 a 3, com 0 indicando ausência de fenofase e 1, 2 e 3 a presença nos respectivos intervalos: 1%-25%, 26%-75% e 76%-100% dos ramos dos indivíduos observados.

Ecologia populacional – A razão sexual da população foi determinada através de uma busca extensiva em toda a área por indivíduos reprodutivos. Todos os indivíduos com flores encontrados foram marcados, sexados e enumerados. A diferença na razão sexual em relação ao esperado (1:1) foi avaliada pelo teste Qui-quadrado. A distribuição espacial de indivíduos masculinos e femininos foi analisada utilizando-se o "Run test" (Zar 1984).

Todos os indivíduos marcados tiveram suas circunferências na altura do peito (CAP) medidas e suas alturas estimadas. Em indivíduos com ramificações acima do solo, mas abaixo de 1,30 m, foram medidas as circunferências de cada ramificação. As CAP foram utilizadas para calcular a área basal total de cada planta. A determinação de mortalidade e/ou de maturação sexual diferencial entre indivíduos masculinos e femininos, foi realizada utilizando-se os valores de área basal como parâmetros para estimar a idade relativa de cada planta (Opler & Bawa 1978). Para determinar se existiam diferenças nestes valores, a disparidade entre as frequências acumuladas das menores e das maiores classes de área basal foram avaliadas utilizando o teste Kolmogorov-Smirnov (Sokal & Rohlf 1981).

Biologia floral – Os períodos de antese e senescência das flores foram observados em 100 botões em pré-antese previamente marcados, sendo 50 botões de flores estaminadas e 50 de flores pistiladas, distribuídos em 12 e oito indivíduos respectivamente. A emissão de odores florais foi analisada isolando-se flores recém-abertas em frascos de vidro

tampados (Kearns & Inouye 1993). A produção de néctar foi mensurada em flores previamente isoladas com sacos de organza de náilon. O volume de néctar foi determinado com auxílio de capilares de vidro de 1 μ L, e a concentração de açúcares, com refratômetro manual (Kearns & Inouye 1993). Foram utilizadas 32 flores pistiladas (distribuídas em oito indivíduos) e 46 estaminadas (distribuídas em 12 indivíduos). O conteúdo de néctar de oito flores pistiladas e 14 estaminadas foi medido no momento da antese e de 14 flores pistiladas e 22 estaminadas na manhã seguinte à antese (volume total de néctar acumulado). O volume total de néctar acumulado ao longo da noite por flores estaminadas e pistiladas foi comparado pelo teste (*U*) Mann-Whitney.

Os estudos morfométricos foram feitos em botões, flores e inflorescências, observados *in situ*, ou coletados e fixados em álcool 70%. As análises foram feitas com auxílio de paquímetro analógico com precisão de 0,1 mm. Os parâmetros tomados foram: 1) comprimento do tubo da corola; 2) comprimento do tubo do cálice; 3) comprimento do pistilo; 4) comprimento das anteras; 5) número de pétalas; 6) e número de flores por inflorescência (adaptado de Osunkoya 1999). As diferenças e semelhanças entre as estruturas florais analisadas em ambos os morfos sexuais foram avaliadas pelo teste Mann-Whitney (*U*).

Para determinar os visitantes florais e polinizadores foram feitas observações focais, durante as florações nos anos de 2003 e 2004, em quatro indivíduos masculinos e quatro femininos. As observações foram realizadas em sessões de 30 minutos em períodos aleatórios entre 06h00 e 20h00, totalizando 40 horas de observação. Os principais visitantes florais foram registrados fotograficamente e/ou capturados para posterior identificação.

Sistema reprodutivo – A eficácia do serviço de polinização foi avaliada, através da análise sob microscopia de fluorescência, de pistilos de flores naturalmente expostas aos visitantes florais. Foram analisados 72 pistilos de flores pré-senescentes coletadas aleatoriamente em 16 indivíduos distintos. As flores foram fixadas em solução de FAA em etanol 50% (Kearns & Inouye 1993), os pistilos e ovários foram retirados e diafanizados em solução de NaOH, corados com azul de anilina e observados em microscopia de fluorescência (Martin 1959), para determinar a presença ou ausência de tubos polínicos. As flores só foram consideradas como polinizadas quando os pistilos apresentavam tubos polínicos crescendo ao longo do estilete. Flores que continham grãos de pólen com tubos polínicos crescendo apenas no nível do estigma ou na porção inicial do estilete não foram consideradas como efetivamente polinizadas.

O sucesso reprodutivo da população foi determinado pela taxa de produção de frutos por polinização natural. Para tal, foram marcadas e mantidas expostas aos visitantes, 1.238 flores em 16 indivíduos. Os frutos produzidos foram acompanhados até a maturação. A formação de frutos por apomixia (agamospermia) foi verificada isolando-se botões de flores pistiladas em pré-antese ($n = 233$), com sacos de

organza, e acompanhando a posterior produção de frutos.

Durante o período de maturação dos frutos, foram realizadas observações focais para determinar os consumidores de frutos e potenciais dispersores das sementes. As observações foram feitas em quatro indivíduos durante oito dias não consecutivos em sessões de uma hora, no período entre 07h00 e 11h00 da manhã, totalizando 12 horas de observação.

Resultados

Caracterização da espécie – *Amaioua guianensis* Aubl. apresentou indivíduos masculinos com altura média de $8,55 \pm 3,24$ m ($n = 67$) e femininos com $7,69 \pm 2,50$ m ($n = 45$), não diferindo significativamente entre si ($U = 1279$; $Z(U) = 1,35614$; $P < 0,05$). As flores estavam dispostas em umbelas terminais compostas por cincinos trifloros nos indivíduos masculinos (figura 1A) e simples nos femininos (figura 1B). As flores eram actinomorfas, hexâmeras, gamossépalas, gamopétalas e unissexuadas. O cálice apresentou cor verde e a corola cor esbranquiçada quando em flores recém abertas, passando a creme algumas horas após a antese. Ambos eram pilosos.

Os estames eram epipétalos com anteras bitecas e dorsifixas e estavam presentes em ambos os morfos florais, embora fossem rudimentares nas flores pistiladas. O estilete apresentou formato cilíndrico e possuiu o terço inicial piloso com disco nectarífero localizado em sua base. Flores pistiladas (figura 1D) apresentaram estiletos com estigmas bi ou trilobulados. Nas estaminadas, o estilete apesar de bem desenvolvido, apresentou os lobos estigmáticos fundidos, o que lhe conferiu formato de clava (figura 1C). Nele estavam presentes cerca de 12 depressões longitudinais que possivelmente correspondiam às 12 tecas das anteras. O pólen era depositado ainda durante a fase de botão, sobre a superfície deste estilete (figura 1C), que funcionava como local para apresentação secundária de pólen.

Os frutos eram bagas, possuíam aproximadamente 3,0 cm de comprimento e produziam em média $20,08 \pm 5,4$ sementes ($n = 53$ frutos analisados em 16 indivíduos). A coloração era marrom-avermelhada mesmo quando imaturos, e levavam cerca de quatro a cinco meses de desenvolvimento até a maturação.

Todas as estruturas florais, em termos morfométricos, diferiram significativamente entre os morfos sexuais (tabela 1). As diferenças tenderam a favor das flores estaminadas, com exceção do número de pétalas, que foi significativamente maior em flores

pistiladas (tabela 1). Indivíduos masculinos possuíam maior “display” floral, sendo que, além de produzirem mais flores por inflorescência, também produziam mais inflorescências por planta. Este dado não pôde ser quantificado pelo grande porte de algumas das plantas e por estas produzirem centenas de inflorescências.

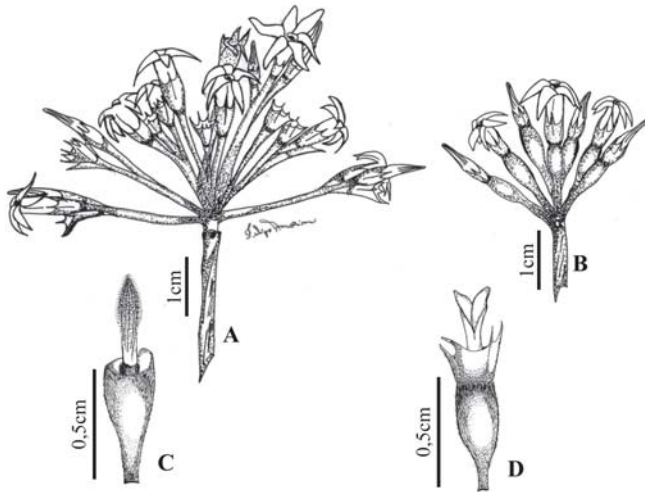


Figura 1. *Amaioua guianensis* Aubl. A. Inflorescência masculina. B. Inflorescência feminina. C. Flor estaminada; notar que foram retiradas parte do cálice e toda corola com os estames, para expor a apresentação secundária de pólen sobre o estilete não funcional. D. Flor pistilada; notar a ausência da corola expondo pistilo funcional e estigma bilobulado.

Figure 1. *Amaioua guianensis* Aubl. A. Male (staminate) inflorescence. B. Female (pistillate) inflorescence. C. Staminate flower without corolla, stamens and calyx exhibiting secondary pollen presentation on the non-functional pistil. D. Pistillate flower, without corolla, exhibiting functional pistil and bilobular stigma.

Fenologia – A população apresentou comportamento sazonal e aspecto sempre verde, com um número pequeno de folhas caindo durante todo o ano, porém mais intensivamente durante o período mais seco, entre julho e setembro (figura 2B). A brotação ocorreu principalmente no início da estação chuvosa, em novembro, e no final das chuvas, em fevereiro e março (figura 2A-B). Neste último período os frutos estavam em desenvolvimento, tendo havido grande produção de novas folhas nos indivíduos masculinos, enquanto nos femininos esta produção foi mais discreta.

O período de maior produção de botões florais e a abertura das primeiras flores ocorreu no final do mês de novembro e início do mês de dezembro. A maior intensidade de floração ocorreu na segunda quinzena de dezembro, decrescendo rapidamente até o final deste mês (figura 2C). A floração foi sincrônica entre indivíduos masculinos e femininos (figura 2C). Os primeiros frutos foram observados no final de dezembro, com desenvolvimento continuado até o mês de maio (figura 2C). Não houve eventos de predação ou aborto marcado de frutos imaturos. O pico de maturação dos frutos ocorreu durante a segunda quinzena de maio.

Ecologia populacional – A razão sexual da população foi 1,49, com diferenças significativas a favor do sexo masculino ($67:45$; $\chi^2 = 4,32$; $P < 0,05$). O “Run test” (Zar 1984), indicou agrupamento entre os morfos sexuais ($n = 112$ indivíduos, “Runs” = 39, $t = 3,03$, $P < 0,05$), sugerindo que a população apresentava segregação espacial de sexo. Não foi constatada labilidade sexual ou morfos sexuais intermediários.

As áreas basais dos indivíduos masculinos ($115,94 \pm 145,98$ cm²) e femininos ($103,19 \pm 74,5$ cm²) não diferiram significativamente entre si ($U = 1387$; $Z(U)$

Tabela 1. Comparações morfométricas entre flores estaminadas (masculinas) e pistiladas (femininas) na população (N) de *Amaioua guianensis* Aubl. no Parque do Sabiá, Uberlândia, MG.

Table 1. Morphometrical comparison between staminate (male) and pistillate (female) flowers in *Amaioua guianensis* Aubl. population (N) at the Parque do Sabiá, Uberlândia, MG, Brazil.

Parâmetros morfométricos analisados	N	Média ± Desvio padrão		U
		Flores estaminadas	Flores pistiladas	
Flores/Inflorescência	61	18,8 ± 6,66 a	6,90 ± 2,55 b	72,5
Comprimento do cálice (cm)	53	0,49 ± 0,03 a	0,377 ± 0,03 b	1,5
Comprimento da corola (cm)	53	1,14 ± 0,05 a	0,798 ± 0,08 b	0,00001
Comprimento das anteras (cm)	53	0,55 ± 0,03 a	0,35 ± 0,23 b	53
Comprimento do estilete (cm)	53	1,06 ± 0,05 a	0,82 ± 0,11 b	6,5
Número de pétalas	53	6,02 ± 0,14 b	6,64 ± 0,74 a	712,5

a, b indicam pares com $P < 0,001$ pelo teste Mann-Whitney (U).

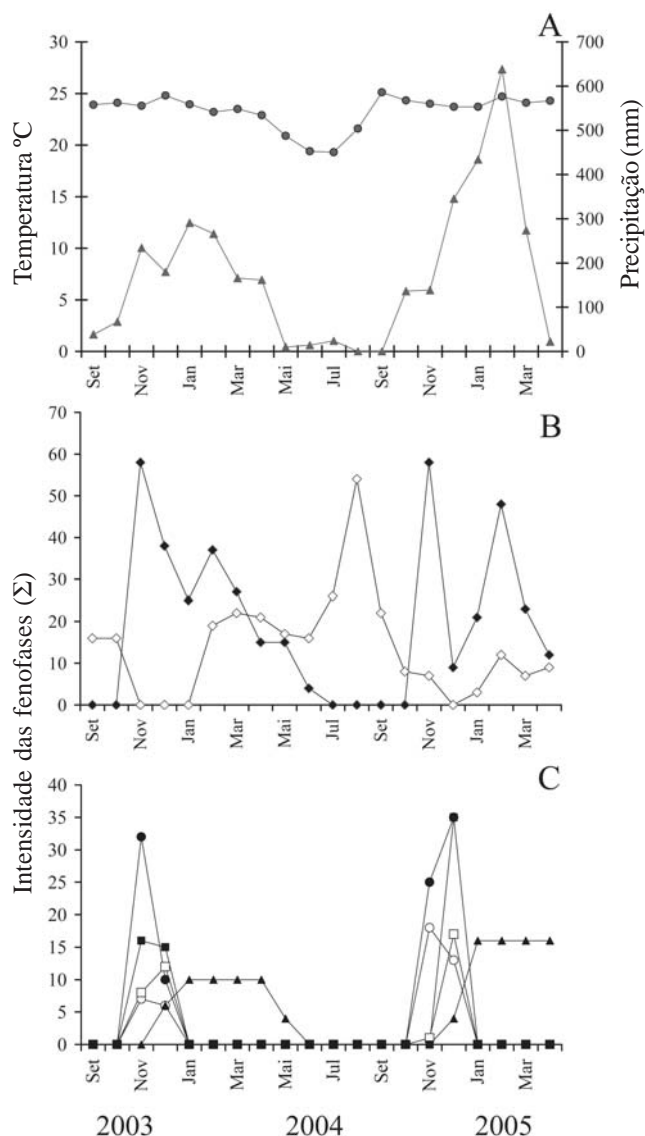


Figura 2. Climatograma do Parque do Sabiá, Uberlândia, MG, durante o período de estudo e fenologia de *Amaioua guianensis* Aubl. A. Temperatura (●), Precipitação (▲). B. Intensidade (somatória das notas) de caducifolia (◇) e brotação (◆). C. Intensidade (somatória das notas) de emissão de botões florais em indivíduos femininos (○), emissão de botões florais em indivíduos masculinos (●), produção de flores em indivíduos femininos (□), produção de flores em indivíduos masculinos (■) e produção de frutos (▲).

Figure 2. Climatic diagram of the Parque do Sabiá, Uberlândia, MG, Brazil, during the study period and phenology of *Amaioua guianensis* Aubl. A. Temperature (●), Rainfall (▲). B. Intensity (sum of intensity marks) of leaf fall (◇) and leaf flush (◆). C. Intensity (sum of intensity marks) of emission of flower buds in female individuals (○), emission of flower buds in male individuals (●), flower production in female individuals (□), flower production in estaminate individuals (■) and fruit-set (▲).

= 0,7151; $P > 0,05$). Houve um pequeno predomínio de indivíduos masculinos nas menores e maiores frequências acumuladas de classes de área basal sugerindo idades de maturação sexual e mortalidade diferenciais entre os sexos. Contudo, o teste Kolmogorov-Smirnov “D” mostrou que estas diferenças não foram significativas (figura 3).

Biologia floral – As flores pistiladas e estaminadas abriram-se sincronicamente ao longo de todo o dia, mas preferencialmente no final da tarde e início da noite entre 18h00 e 20h00. A longevidade floral foi de aproximadamente 24 a 30 horas e a senescência caracterizou-se pela queda ou murchamento da corola e estilete. Nas flores pistiladas o cálice permaneceu aderido ao ovário durante todo o tempo de desenvolvimento dos frutos. Neste período o disco nectarífero continuava produzindo néctar em quantidades pequenas, sendo protegido pelo cálice persistente (figura 4). Este nectário foi freqüentemente visitado por formigas, principalmente *Camponotus* spp. As formigas patrulhavam os ramos durante quase todo o período de desenvolvimento dos frutos, provavelmente protegendo-os contra predadores.

Ao contrário das flores estaminadas, o néctar em flores pistiladas foi produzido ainda na fase de botão, sendo que durante a antese somente flores pistiladas continham néctar (tabela 2). Flores estaminadas só

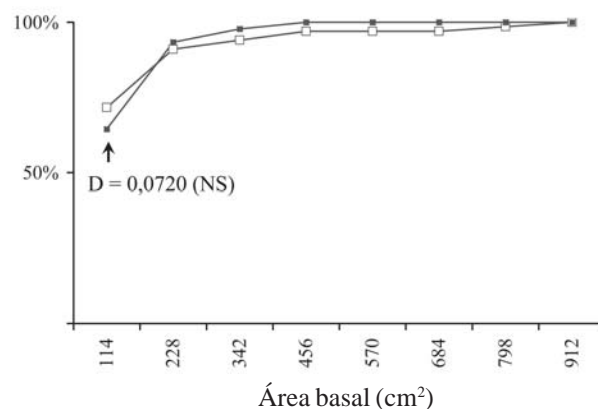
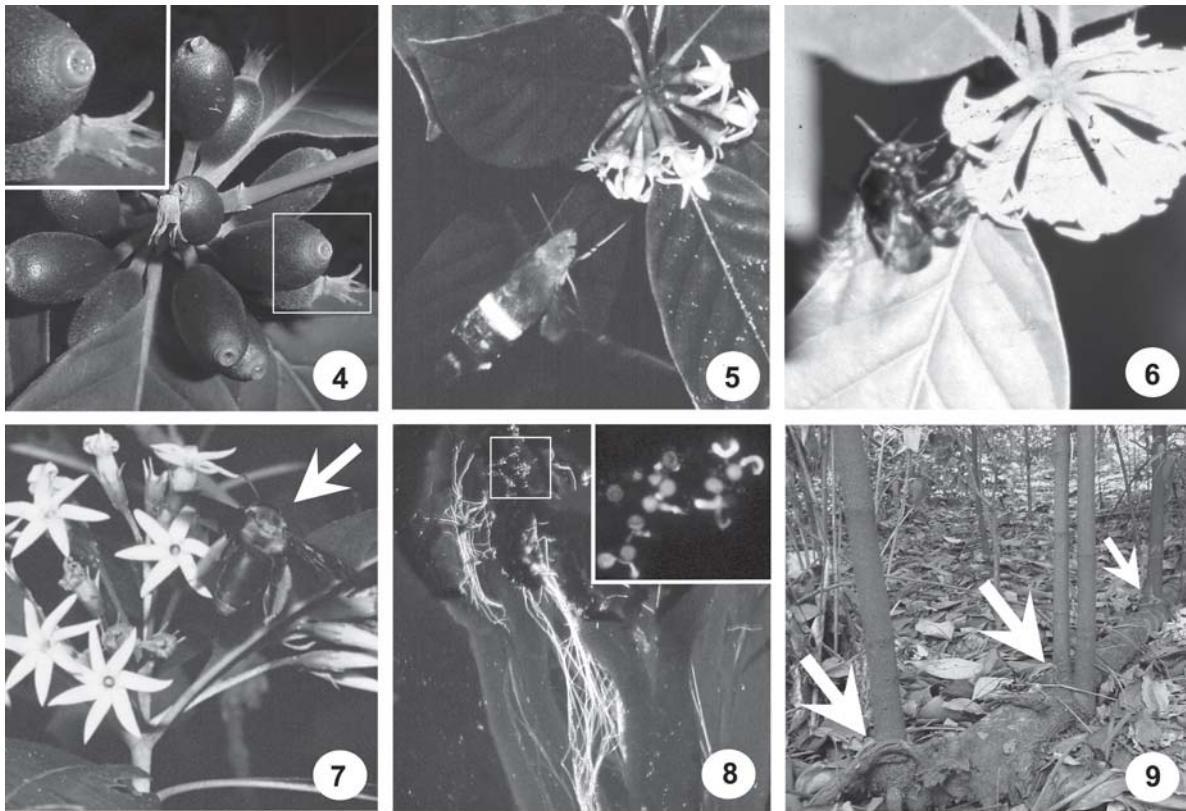


Figura 3. Distribuição da frequência cumulativa da área basal de indivíduos estaminados (□) e pistilados (■) da população de *Amaioua guianensis* Aubl. no Parque do Sabiá, Uberlândia, MG. A seta indica maior diferença entre os sexos (Kolmogorov-Smirnov “D”, $P > 0,05$ NS).

Figure 3. Cumulative frequency of basal area of staminate (□) and pistillate (■) individuals of the *Amaioua guianensis* Aubl. population at Parque do Sabiá, Uberlândia, MG, Brazil. Arrow indicates greatest difference between sexes (Kolmogorov-Smirnov “D”, $P > 0.05$ NS).



Figuras 4-9. Aspectos da biologia reprodutiva de *Amaioua guianensis* Aubl. no Parque do Sabiá, Uberlândia, MG. 4. Frutos; notar no canto superior esquerdo, detalhe do nectário pós-floral e do cálice persistente. 5-7. Principais polinizadores. 5. *Aellopos titan* Cramer (1777) em flor pistilada. 6. *Bombus atratus* Franklin (1913) em flor pistilada. 7. *Epicharis flava* Friese (1900) (seta) em flor estaminada. 8. Fotomicrografia de fluorescência do crescimento de tubos polínicos no estigma e estilete em flor polinizada; notar no canto superior à direita, detalhe dos grãos de pólen germinando na superfície estigmática. 9. Reprodução vegetativa; setas indicam rebrotamentos caulinares provenientes de uma árvore tombada.

Figures 4-9. Aspects of *Amaioua guianensis* Aubl. reproductive biology at Parque do Sabiá, Uberlândia, MG, Brazil. 4. Fruits; note at upper left post-floral nectary and detail of the persistent calyx. 5-7. Mainly pollinators. 5. *Aellopos titan* Cramer (1777) on pistillate flowers. 6. *Bombus atratus* Franklin (1913) on pistillate flowers. 7. *Epicharis flava* Friese (1900) (arrow) on staminate flowers. 8. Fluorescence photomicrography of pollen tube growth in the stigma and style of the flower; note at upper right detail of pollen grains germination on the stigmatic surface. 9. Vegetative reproduction; arrows indicate stems resprout from a fallen tree.

Tabela 2. Produção de néctar (Média ± DP) em flores estaminadas (masculinas) e pistiladas (femininas) em *Amaioua guianensis* Aubl. no Parque Municipal do Sabiá, Uberlândia, MG.

Table 2. Nectar production (Mean ± SD) of staminate (male) and pistillate (female) flowers of *Amaioua guianensis* Aubl. at the Parque do Sabiá, Uberlândia, MG, Brazil.

Fase de análise do Néctar	Média ± Desvio padrão					
	Volume (µL)			Concentração (%)		
	Masculinas	Femininas	<i>U</i>	Masculinas	Femininas	<i>U</i>
Botão pré-antese	–	2,04 ± 1,01		–	18 ± 3,0	
Antese	–	3,72 ± 1,16		–	22,25 ± 2,3	
Acumulado	1,04 ± 0,86	5,12 ± 0,77	0,0001	22,05 ± 3,5	23,0 ± 4,13	113(NS)

(NS) indica diferença não significativa $P > 0,05$ pelo teste Mann-Whitney (*U*).

produziram néctar após a antese. Quando comparados os valores de néctar acumulado ao longo da noite, as flores pistiladas produziram um volume significativamente maior de néctar (tabela 2). As concentrações médias de açúcares não diferiram entre os morfos florais (tabela 2).

As flores de *A. guianensis* produziram odor suave e adocicado, mais acentuado no início da noite. Apesar de flores estaminadas oferecerem pólen, o único recurso explorado pelos visitantes em ambos os morfos sexuais foi o néctar. As flores foram visitadas por uma ampla variedade de animais, incluindo beija-flores. Contudo, a polinização foi realizada principalmente por abelhas grandes e esfingídeos (figura 5-7). *Aellopus titan* Cramer, 1777 (Sphingidae), *Bombus atratus* Franklin, 1913 (Apidae), *Centris (Melanocentris) sp.* (Anthophoridae), *Epicharis flava* Friese, 1900 (Anthophoridae) e *Eulema nigrita* Lepeletier, 1841 (Apidae), foram os principais polinizadores.

Sistema reprodutivo – As observações de campo indicaram que *A. guianensis* possuiu um alto sucesso reprodutivo. Houve uma grande produção de frutos que, em sua maioria, chegaram à maturação. A análise de pistilos, provenientes de flores expostas aos visitantes e aleatoriamente coletadas, sob microscopia de fluorescência (figura 8) mostrou que 98,6% destas flores foram polinizadas. Apenas um dos 72 pistilos analisados não apresentou crescimento de tubos polínicos. A taxa de flores convertidas em frutos maduros, por polinização natural, foi de 75,7% ($n = 1.238$ flores, $n = 937$ frutos).

Dos botões florais isolados em indivíduos femininos para averiguar a produção de frutos por apomixia, 11,16% ($n = 28$) originaram frutos. Muitos destes frutos permaneceram em desenvolvimento por cerca de dois meses, mas foram abortados após este período. Oito frutos de origem apomítica ainda chegaram a maturar-se, porém eram menores e aparentemente atrofiados, representando apenas 3,4% do total de botões isolados. Contudo, a viabilidade das sementes resultantes do processo de apomixia não foi testada. Reprodução vegetativa foi observada em muitos casos em que, por efeito de pisoteio ou pela queda de troncos de árvores maiores, havia indivíduos jovens de *A. guianensis* com troncos prostrados ao chão. Estas plantas produziam brotos caulinares que originavam novos indivíduos (figura 9).

A dispersão de sementes em *A. guianensis* foi estritamente zoocórica, com consumo de frutos feito efetivamente por aves. *Turdus amaurochalinus* Cabanis, 1851, *T. leucomelas* Vieillot, 1818,

T. rufiventris Vieillot, 1818 (Turdidae), *Myiozetetes similis* Spix, 1825, *Pitangus sulphuratus* Linnaeus, 1766 (Tyrannidae) e *Antilophia galeata* Lichtenstein, 1823 (Pipridae), foram as principais aves consumidoras dos frutos de *A. guianensis*, sendo os prováveis dispersores da espécie.

Discussão

O padrão fenológico observado na população de *A. guianensis* Aubl., assim como o modo de polinização e grupo de polinizadores, associam-se à estratégia de floração do tipo cornucópia (*sensu* Gentry 1974). Esta estratégia parece ser a mais comum entre as angiospermas e está associada a grupos com comportamento fenológico sazonal, sendo caracterizada pela produção maciça de flores durante algumas semanas responsável pela atração de um grande espectro de visitantes florais e potenciais polinizadores (Gentry 1974). Algumas espécies de Bignoniaceae cornucópicas da América Central, assim como *A. guianensis*, são efetivamente polinizadas por abelhas e esfingídeos (Gentry 1974).

Comportamentos fenológicos semelhantes foram observados por Batalha & Mantovani (2000) e por Dias & Oliveira-Filho (1996) para populações de *A. guianensis* em áreas de cerrado no Estado de São Paulo e de Floresta Estacional Semidecídua Montana no Município de Lavras, MG, respectivamente. Tais observações sugerem que a floração e crescimento vegetativo da espécie estão fortemente associados ao início da estação chuvosa, coincidindo com o padrão geral apresentado por espécies arbóreas de cerrado (Batalha & Mantovani 2000, Oliveira & Gibbs 2000).

A razão sexual em plantas dióicas, em teoria, deveria ser próxima a 1:1, mas diferenças significativas em favor de indivíduos estaminados, como encontradas em *A. guianensis*, são freqüentemente observadas em taxa dióicos tropicais (Bawa & Opler 1975, Lloyd & Webb 1977, Opler & Bawa 1978, Oliveira 1996). Maturação sexual e/ou mortalidade diferenciais entre indivíduos masculinos e femininos, seleção gamética e reprodução vegetativa são indicados como os principais fatores determinantes do desvio da razão sexual em plantas dióicas (Bierzychudek & Eckhart 1988, Opler & Bawa 1978, Osunkoya 1999).

Apesar de haver tendência de um maior número de indivíduos masculinos nas maiores e principalmente nas menores classes de área basal (figura 3), maturação sexual ou mortalidade diferencial não foram significativamente diferentes entre os sexos, e não

podem ser consideradas como os fatores causais do desvio da razão sexual em *A. guianensis*. Tendências similares foram observadas em *Randia spinosa* Thunb. e *R. subcordata* Standl., duas Rubiaceae pertencentes à tribo Gardenieae (Persson 1996), cujos indivíduos masculinos possuem maturação sexual significativamente diferente dos femininos (Opler & Bawa 1978).

Seleção gamética tampouco parece ser a causa do desvio da razão sexual. Observando-se a grande proporção de flores estaminadas em relação às pistiladas (tabela 1), e a eficácia do sistema de polinização (98,6% das flores efetivamente polinizadas), foi possível verificar que o número de grãos de pólen a alcançar estigmas coespecíficos não foi o fator limitante para produção de sementes. Esta limitação seria a principal causa de desvio da razão sexual a favor de indivíduos masculinos por seleção gamética (Opler & Bawa 1978).

A reprodução vegetativa observada comumente na área de estudo provavelmente atuou como fator causal do desvio da razão sexual em *A. guianensis*, talvez pelos indivíduos masculinos possuírem menores limitações que os femininos, em termos energéticos, para produzirem novos indivíduos vegetativamente (Bierzychudek & Eckhart 1988, Freeman *et al.* 1997, Mayer & Charlesworth 1991). Alguns efeitos da antropização observados no Parque do Sabiá, como o pisoteio de plantas jovens e o efeito de borda que leva à morte e conseqüente queda das árvores de dossel (Primack & Rodrigues 2002), causam danos a muitos indivíduos de *A. guianensis* derrubando-os ao chão. A queda ao solo pareceu induzir a produção de brotos caulinares que acabaram por originar novos indivíduos. Neste contexto, reprodução vegetativa provavelmente influenciou a distribuição espacial dos morfos sexuais e na proporção entre indivíduos masculinos e femininos. O desvio da razão sexual a favor de indivíduos produtores de flores estaminadas em espécies dióicas também pôde ser observado nas populações de *Tapirira guianensis* Aubl. (Lenza & Oliveira 2005) e *Virola sebifera* Aubl. (Lenza & Oliveira, dados não publicados) estudadas no Parque do Sabiá. Contudo, não foi observada reprodução vegetativa nestas espécies (Lenza & Oliveira 2005).

Segregação espacial de sexo é desproporcionalmente mais comum em plantas dióicas anemófilas que em plantas dióicas zoófilas, ou em taxa dióicos sexualmente lábeis, nos quais a produção de flores estaminadas ou pistiladas é induzida ambientalmente (Bierzychudek & Eckhart 1988, Freeman *et al.* 1997). Como não foi encontrada nenhuma evidência de labilidade sexual ou de expressão

sexual dependente da idade da planta, sugere-se que o sexo em *A. guianensis* seja geneticamente determinado e não ambientalmente induzido (Freeman *et al.* 1997, Osunkoya 1999), o que reforça a hipótese de que o agrupamento e desvio da razão sexual nesta população tenham sido causados por reprodução vegetativa.

Como visto em *A. guianensis*, características sexuais secundárias são comuns em plantas dióicas (Grant 1995). Indivíduos masculinos tendem a apresentar maior “display” floral que fêmeas, já que flores estaminadas geralmente são mais abundantes, maiores e mais conspícuas que flores pistiladas (Mayer & Charlesworth 1991, Delph *et al.* 1996, Humeau *et al.* 2003). As flores pistiladas, por sua vez, produzem néctar em maior volume e mais precocemente que as estaminadas (Bawa & Opler 1975, Mayer & Charlesworth 1991), causando uma variação temporal e espacial da produção dos recursos florais.

Polinizadores mais especializados, como abelhas grandes e esfingídeos, tendem a maximizar a obtenção de recursos por unidade de investimento, visitando múltiplas flores numa mesma planta (Heinrich 1983). Pequenas variações na produção dos recursos entre os morfos sexuais, como observado em *A. guianensis*, podem causar um movimento direcionado destes polinizadores.

O tipo de apresentação secundária de pólen observado em *A. guianensis*, no qual o estilete atua como local para deposição do pólen, pode ser classificado como do tipo “pseudo-estame” (Yeo 1993). Apesar de comum a muitas espécies de Rubiaceae na tribo Gardenieae (Robbrecht 1988, Yeo 1993), inclusive associado a espécies dióicas, este mecanismo ainda não havia sido descrito para *A. guianensis* (P. Delprete, comunicação pessoal). Além de taxonomicamente importante, a apresentação secundária de pólen possui grande relevância ecológica, sendo responsável por disponibilizar o pólen de forma mais eficaz, harmonizando os sítios de apresentação e recepção de pólen em flores actinomorfas (Yeo 1993).

Amaioua guianensis possui uma taxa de frutificação muito alta em relação a outras espécies dióicas não apomíticas ou mesmo espécies hermafroditas auto-incompatíveis (ver Sutherland 1986 para um estudo global, mas veja Lenza & Oliveira 2005 para comparação entre espécies de cerrado). A atração de formigas, através da disponibilização de néctar pelos frutos em desenvolvimento, provavelmente é um dos fatores responsáveis pela manutenção dos frutos produzidos (Santos & Del-Claro 2001). Além de um serviço de polinização muito eficaz, a proteção de frutos

e sementes contra predadores parece também contribuir para o sucesso reprodutivo de *A. guianensis*.

A presença de frugívoros especializados como *Antilophia galeta* Lichtenstein, 1823 consumindo frutos de *A. guianensis* corrobora a idéia de associação entre dioécia e ornitocoria (Matallana *et al.* 2005, Renner & Ricklefs 1995, Vamosi *et al.* 2003). A maturação de frutos no início da estação seca, quando a disponibilidade de recursos é menor, foi uma estratégia responsável pela atração de várias espécies de aves. Estas, mesmo que não estritamente frugívoras, como *Pitangus sulphuratus* Linnaeus, 1766 e *Myiozetetes similis* Spix, 1825, podem atuar como bons agentes dispersores (Melo *et al.* 2003), carregando sementes a longas distâncias.

Os resultados apresentados sugerem que *A. guianensis* não possui limitações para reproduzir-se sexualmente, mesmo submetida a fortes perturbações de habitat. A estrutura floral relativamente especializada associada ao tipo de apresentação de pólen e à presença de polinizadores especialistas tornou o sistema de polinização muito eficaz, o que resultou numa alta produtividade de frutos pela espécie. A razão sexual e o padrão espacial de distribuição de indivíduos masculinos e femininos, contudo, parecem ser influenciados pelo efeito da perturbação antrópica. Estudar como outras populações da espécie se comportam em áreas menos antropizadas seria interessante para determinar como a degradação de habitat interfere na biologia reprodutiva de rubiáceas dimórficas.

Agradecimentos – Agradecemos ao Instituto de Biologia da UFU pelo apoio logístico. Ao Laboratório de Climatologia e Recursos Hídricos da UFU, pelo fornecimento dos dados climáticos. A Cecília Lomônaco e a Ana Angélica Barbosa pela leitura do manuscrito e sugestões. A Clesnan Mendes-Rodrigues pelo imprescindível auxílio nas análises estatísticas e sugestões na elaboração do manuscrito. A Solange C. Augusto e a Cláudia Inês da Silva pelo auxílio na identificação das abelhas. Ao CNPq pelo suporte financeiro na concessão de bolsa de Iniciação Científica para o primeiro autor e apoio ao Projeto Integrado 520872/96-7. Parte do estudo foi elaborada no âmbito do projeto FAPEMIG CRA 903/03.

Referências bibliográficas

BATALHA, M.A. & MANTOVANI, W. 2000. Reproductive phenological patterns of cerrado plant species at the Pé-de-Gigante reserve (Santa Rita do Passa Quatro, SP, Brazil): a comparison between the herbaceous and woody floras. *Revista Brasileira de Biologia* 60:129-145.

- BAWA, K.S. 1980. Evolution of dioecy in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematic* 11:15-39.
- BAWA, K.S. & OPLER, P.A. 1975. Dioecism in tropical forest trees. *Evolution* 29:167-179.
- BIERZYCHUDEK, P. & ECKHART, V. 1988. Spatial segregation of the sexes of dioecious plants. *The American Naturalist* 132:34-43.
- CARVALHO, D.A. & OLIVEIRA, P.E. 2003. Biologia reprodutiva e polinização de *Senna sylvestris* (Vell.) H.S. Irwin & Barneby (Leguminosae, Caesalpinoideae). *Revista Brasileira de Botânica* 26:319-328.
- DEL GROSSI, S.R. 1993. A dinâmica climática atual de Uberlândia e suas implicações geomorfológicas. *Sociedade & Natureza* 5:115-120.
- DELPH, L.F., GALLOWAY, L.F. & STANTON, M.L. 1996. Sexual dimorphism in flower size. *The American Naturalist* 148:299-320.
- DIAS, H.C.T. & OLIVEIRA FILHO, A.T. 1996. Fenologia de quatro espécies arbóreas de uma floresta estacional semidecídua em Lavras – MG. *Cerne* 2:66-88.
- FOURNIER, L.A. 1974. Un método cuantitativo para la medición de características fenológicas en árboles. *Turrialba (IICA)* 24:422-423.
- FREEMAN, D.C., DOUST, J.L., EL-KEBLAWI, A., MIGLIA, K.J. & MCARTHUR, E.D. 1997. Sexual specialization and inbreeding avoidance in the evolution of dioecy. *Botanical Review* 63:65-92.
- GENTRY, H.A. 1974. Flowering phenology and diversity in tropical Bignoniaceae. *Biotropica* 6:64-68.
- GRANT, V. 1995. Sexual selection in plants: pros and cons. *Proceedings of the National of Sciences of the United States of America* 92:1247-1250.
- HEINRICH, B. 1983. Insect foraging energetics. *In Handbook of experimental pollination biology* (C. Jones & R.J. Little, eds.). Van Nostrand Reinhold, New York, p.187-214.
- HUMEAU, L., PAILLER, T. & THOMPSON, J.D. 2003. Flower size dimorphism in diclinous plants native to La Réunion Island. *Plant Systematics and Evolution* 240:163-173.
- KEARNS, C.A. & INOUE, D.W. 1993. Techniques for pollination biologists. University Press of Colorado, Niwot.
- LENZA, E. & OLIVEIRA, P.E. 2005. Biologia reprodutiva de *Tapirira guianensis* Aubl. (Anarcadinaceae), uma espécie dióica em mata de galeria do Triângulo Mineiro, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica* 28:180-190.
- LLOYD, D.G. & WEBB, C.J. 1977. Secondary sex characters in plants. *Botanical Review* 42:177-216.
- LORENZI, H. 1992. Árvores brasileiras: Manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas nativas do Brasil, v.1. Editora Plantarum, Nova Odessa.
- MABBERLEY, D. J. 1987. The plant book: a portable dictionary of the vascular plants. Cambridge University Press, Cambridge.
- MARTIN, F.N. 1959. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Technology* 34:125-128.

- MATALLANA, G., WENDT, T., ARAUJO, D.S.D. & SCARANO, F. 2005. High abundance of dioecious plants in a tropical coastal vegetation. *American Journal of Botany* 92:1513-1519.
- MAYER, S.S. & CHARLESWORTH, D. 1991. Cryptic dioecy in flowering plants. *Trends in Ecology and Evolution* 6:320-325.
- MELO, C., BENTO, E.C. & OLIVEIRA, P.E. 2003. Frugivory and dispersal of *Faramea cyanea* (Rubiaceae) in cerrado woody plant formations. *Brazilian Journal of Biology* 63:75-82.
- MILLER, J.S. & VENABLE, D.L. 2003. Floral morphometrics and the evolution of sexual dimorphism in *Lycium* (Solanaceae). *Evolution* 57:74-86.
- OLIVEIRA, P.E. 1996. Dioecy in the cerrado vegetation of central Brazil. *Flora* 191:235-243.
- OLIVEIRA, P.E. & GIBBS, P.E. 2000. Reproductive biology of wood plants in a cerrado community of central Brazil. *Flora* 195:311-329.
- OPLER, P.A. & BAWA, K.S. 1978. Sex ratios in tropical forest trees. *Evolution* 32:812-821.
- OSUNKOYA, O.O. 1999. Population structure and breeding biology in relation to conservation in the dioecious *Gardenia actinocarpa* (Rubiaceae) – a rare shrub of North Queensland rainforest. *Biological Conservation* 88:347-359.
- PERSSON, C. 1996. Phylogeny of the Gardenieae (Rubiaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society* 121:91-109.
- PRIMACK, R.B. & RODRIGUES, E. 2002. Biologia da conservação. Planta, Londrina.
- RENNER, S.S. & RICKLEFS, R.E. 1995. Dioecy and its correlates in the flowering plants. *American Journal of Botany* 82:596-606.
- RIBEIRO, J.F. & CASTRO, L.H.R. 1986. Método quantitativo para avaliar características fenológicas em árvores. *Revista Brasileira de Botânica* 9:7-11.
- ROBBRECHT, E. 1988. Tropical woody Rubiaceae: characteristic features and progressions contributions to a new subfamilial classification. *Opera Botanica Belgica* 1:1-271.
- ROSA, R., LIMA, S.C. & ASSUNÇÃO, W.L. 1991. Abordagem preliminar das condições climáticas de Uberlândia (MG). *Sociedade e Natureza* 3:91-108.
- SANTOS, J.C. & DEL-CLARO, K. 2001. Interações entre formigas, herbívoros e nectários extraflorais em *Tocoyena formosa* (Cham. & Schlecht.) K. Schum. (Rubiaceae) na vegetação do cerrado. *Revista Brasileira de Zoociências* 3:77-92.
- SOKAL, R.R. & ROHLF, J.R. 1981. *Biometry*, 2nd ed. Freeman WH, New York.
- SUTHERLAND, S. 1986. Floral sex ratios, fruit-set, and resource allocation in plants. *Ecology* 67:991-1001.
- TANURDZIC, M. & BANKS, J.A. 2004. Sex-determining mechanisms in land plants. *The Plant Cell* 16:61-71.
- VAMOSI, J.C., OTTO, P.S. & BARRET, C.H. 2003. Phylogenetic analysis of the ecological correlates of dioecy in angiosperms. *Journal of Evolutionary Biology* 16:1006-1018.
- YEO, P.F. 1993. *Secondary pollen presentation: form, function and evolution*. Springer-Verlag, Wien.
- ZAR, J.H. 1984. *Biostatistical Analysis*. 2nd ed. Prentice Hall, Upper Saddle River.