

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA VEGETAL

ARTUR MAIA WANDERLEY

ECOLOGIA REPRODUTIVA E INFERÊNCIAS SOBRE A EVOLUÇÃO E
VULNERABILIDADE DE *Ameroglossum pernambucense* Eb Fischer, S. Vogel & A.
Lopes (SCROPHULARIACEAE), ESPÉCIE ENDÊMICA DOS *INSELBERGS* DO NORDESTE
BRASILEIRO E VULNERÁVEL À EXTINÇÃO

RECIFE

2013

ARTUR MAIA WANDERLEY

ECOLOGIA REPRODUTIVA E INFERÊNCIAS SOBRE A EVOLUÇÃO E
VULNERABILIDADE DE *Ameroglossum pernambucense* Eb Fischer, S. Vogel & A.
Lopes (SCROPHULARIACEAE), ESPÉCIE ENDÊMICA DOS *INSELBERGS* DO NORDESTE
BRASILEIRO E VULNERÁVEL À EXTINÇÃO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal., sob a orientação da Prof^ª Dra. Isabel Cristina Machado e coorientação da Prof^ª Dra. Ariadna Valentina Lopes.

RECIFE

2013

Catálogo na fonte
Elaine Barroso
CRB 1728

Wanderley, Artur Maia

Ecologia reprodutiva e inferências sobre a evolução e vulnerabilidade de *Ameroglossum pernambucense* Eb Fischer, S. Voguel & A. Lopes (Scrophulariaceae), espécie endêmica dos *Inselbergs* do Nordeste brasileiro e vulnerável à extinção/ Artur Maia Wanderley– Recife: O Autor, 2013.

68 folhas : il., fig., tab.

Orientadora: Isabel Cristina Machado

Coorientadora: Ariadna Valentina Lopes

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas, Biologia Vegetal, 2013.

Inclui bibliografia e anexo

- 1. Scrophulariaceae 2. Inselbergs 3. Fenologia I. Machado, Isabel Cristina (orientadora) II. Lopes, Ariadna Valentina (coorientadora) III. Título**

583.95

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB- 2013- 328

ARTUR MAIA WANDERLEY

COLOGIA REPRODUTIVA E INFERÊNCIAS SOBRE A EVOLUÇÃO E
VULNERABILIDADE DE *Ameroglossum pernambucense* Eb Fischer, S. Vogel & A.
Lopes (SCROPHULARIACEAE), ESPÉCIE ENDÊMICA DOS *INSELBERGS* DO NORDESTE
BRASILEIRO E VULNERÁVEL À EXTINÇÃO

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco para obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal, sob a orientação da Prof^ª Dra. Isabel Cristina Machado e coorientação da Prof^ª Dra. Ariadna Valentina Lopes.

Aprovado em 23/02/2011

BANCA EXAMINADORA:

Orientadora: Prof^ª. Dra. Isabel Cristina Machado - UFPE

1º Examinador: Prof. Dr. Leandro Freitas – JBRJ

2º Examinador: Prof. Dr. Enrico Bernard – UFPE

1º Suplente: Prof. Dr. Marcelo Tabarelli – UFPE

2ª Suplente: Dra. Elisângela Bezerra - LBFR

AGRADECIMENTOS

Agradeço:

Aos meus pais, por me apoiarem e permitirem chegar até aqui;

À Professora Isabel Cristina Machado, pela paciência e acolhimento;

À Professora Ariadna, pelas críticas ao manuscrito;

A Marcelo Sobral Leite, pela apresentação da espécie estudada e sua ajuda nos trabalhos de campo;

A Oswaldo Cruz-Neto, sem o qual as análises de néctar não teriam sido possíveis;

A Joana Wanderley, minha irmã, pelas ilustrações.

A Seu Luiz, “Guardião” da Pedra do Guariba;

A Seu José e Dona Maria, por me permitirem conduzir parte da pesquisa na sua propriedade (Fazenda Lajedo do Boi);

Ao Dr. Weber Silva, pela identificação de beija-flores;

A Tania Veiga Blanco pela companhia e ajuda em campo;

À FACEPE, pela concessão de bolsa de mestrado;

Ao ITEP/LAMEPE, por ceder os dados meteorológicos.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. (A) Padrão de produção de flores e número de indivíduos floridos em uma população de *Ameroglossum pernambucense*, localizada na Pedra do Guariba (município de Agrestina, PE, Brasil), e de quatro variáveis ambientais, em intervalos de 7 a 10 dias, entre os anos de 2008 e 2010. As variáveis ambientais apresentadas são: (B) radiação solar acumulada (radsol) e precipitação (*prec*); (C) variação do comprimento do dia (Δ durdia) e do horário de ocaso (Δ ocaso). Para explicar o número de flores produzidas, o melhor modelo encontrado por regressão *stepwise* ($F_{3;51}=37,46,75$; R^2 ajustado=0,69; $p<0,0001$) incluiu as variáveis Δ ocaso ($p<0,0001$), *durdia* ($p=0,002$) e *prec* ($p=0,17$). O melhor modelo para explicar o número de indivíduos em flor ($F_{2;52}=33,99$; R^2 ajustado=0,57; $p<0,0001$), por outro lado, incluiu apenas as variáveis Δ ocaso ($p<0,0001$) e radsol ($p=0,14$). Notar (faixas verticais) a relação entre a variação acentuada do horário de ocaso, após o equinócio de março e o padrão de floração da população, assim como a ocorrência do pico da floração sempre quatro meses após o equinócio de março. Setas indicam a estação seca. Para atender aos pressupostos da regressão linear múltipla, as variáveis resposta (número de flores e indivíduos floridos) foram transformados por raiz quadrada.

Figura 2. Valores observados *versus* valores esperados para os melhores modelos encontrados por duas regressões lineares múltiplas *stepwise* para explicar a quantidade de flores produzidas ($F_{3;51}=37,46,75$; R^2 ajustado=0,69; $p<0,0001$; A) e o número de indivíduos em flor ($F_{2;52}=33,99$; R^2 ajustado=0,57; $p<0,0001$; B) ao longo das florações de uma população de *Ameroglossum pernambucense* no *inselberg* Pedra do Guariba entre os anos de 2008 e 2010. As variáveis explicativas utilizadas nos modelos foram: radiação solar acumulada (radsol), precipitação (*prec*), variação do comprimento do dia (Δ durdia) e do horário de ocaso (Δ ocaso). As observações ocorreram em intervalos de 7 a 10 dias e os valores das variáveis respostas foram transformados por raiz quadrada para atender aos pressupostos de regressões lineares múltiplas.

Figura 3. (A) Flor ornitófila de *Ameroglossum pernambucense*; (B) desenho esquemático em corte longitudinal da flor.

Figura 4. Beija-flores polinizando *Ameroglossum pernambucense* na população Pedra do Guariba, Nordeste do Brasil. (A) *Amazilia fimbriata* (Gmelin,1788), principal polinizador e (B) *Phaethornis pretrei* (Lesson & Delattre, 1839). Notar contato da cabeça (A) e bico (B) dos beija-flores com as estruturas reprodutivas.

Figura 5. Padrão de produção de néctar (concentração e volume) de *Ameroglossum pernambucense* da população do *inselberg* Lajedo do Boi, Nordeste do Brasil. A concentração de néctar variou de maneira significativa ao longo da antese (g.l.=7; F=5,79, p=0,0002), sendo mais baixa no início (6h do primeiro dia), mais alta ao final (14h do terceiro dia) e estável no intervalo compreendido entre esses dois momentos da antese. A variação do volume de néctar revelou uma tendência de produção de néctar durante os dois primeiros dias da antese com interrupções noturnas dessa produção. Entretanto, apesar do volume ter variado significativamente ao longo da antese (g.l.=7; F=2,78; p=0,02), estatisticamente a produção de néctar até o segundo dia só pôde ser evidenciada pelas diferenças significativas entre o volume do início da antese e das 14h do segundo dia (p=0,001). A interrupção noturna dessa produção, por sua vez, só foi evidenciada para a primeira noite, onde houve diferenças significativas entre o volume das 6 e 22h do primeiro dia (p=0,049), mas não entre o volume das 6h do primeiro e segundo dias (p=0,13). As barras de erro representam o desvio padrão das médias.

Figura 6. Padrão de secreção de néctar em mg de açúcares/Flor ao longo da antese, na população do *inselberg* Lajedo do Boi, Nordeste do Brasil. Observa-se uma tendência de aumento na produção de néctar durante os dois primeiros dias da antese, havendo interrupção dessa produção durante as duas noites. Entretanto, apesar da detecção de diferenças significativas (g.l.=7; F=3,08; p=0,01), a quantidade de néctar secretada no início da antese só diferiu estatisticamente dos horários posteriores às 6h do segundo dia (p=0,001), Embora também tenha havido diferenças significativas entre as 14h do primeiro dia e 6h do terceiro (p=0,009), a quantidade de néctar não variou das 14 às 22h do segundo dia (p=0,06), o que pode indicar uma interrupção da produção de néctar também na segunda noite. As barras de erro representam o desvio padrão das médias.

Figura 7. Proporção de frutos formados (%) entre os diferentes tratamentos reprodutivos realizados nos indivíduos de *Ameroglossum pernambucense* das populações Pedra do Guariba e Lajedo do Boi, localizadas no Nordeste do Brasil. A ausência de diferenças significativas entre a quantidade de frutos formados nos diferentes tratamentos (g.l.=5; $\chi^2=9,4$; $p=0,14$) revelou que *A. pernambucense* é uma espécie autocompatível e com capacidade de formar frutos espontaneamente. C=controle; EP=eficiência de polinizador; X=xenogamia intra-populacional; XI=xenogamia inter-populacional; AE= autopolinização espontânea; AG=autogamia; GEIT=geitonogamia.

Figura 8. Peso dos frutos maduros coletados após diferentes experimentos de polinizações controladas realizados em indivíduos de *Ameroglossum pernambucense* nas populações dos *inselbergs* Pedra do Guariba e Lajedo do Boi, localizadas no Nordeste do Brasil. O peso dos frutos de autogamia espontânea foi significativamente inferior (g.l.=5; $F=3,07$; $p=0,01$) ao dos frutos dos demais tratamentos, os quais não variaram significativamente entre si. C=controle; EP=eficiência de polinizador; X=xenogamia intra-populacional; XI= xenogamia inter-populacional; AE= autogamia espontânea; AG=autogamia. A linha tracejada no interior das caixas representa as médias e as linhas contínuas as medianas. A margem inferior das caixas representam o 25º percentil, as superiores o 75º e as barras de erro inferiores e superiores o 10º e 90º percentil, respectivamente.

Figura 9. Número de sementes formadas por fruto após diferentes experimentos de polinizações controladas realizados em indivíduos de *Ameroglossum pernambucense* nas populações dos *inselbergs* Pedra do Guariba e Lajedo do Boi, localizadas no Nordeste do Brasil. O número de sementes formadas por autogamia espontânea foi significativamente inferior ao dos demais tratamentos (g.l.=5; $F=3,07$; $p=0,01$), que, por sua vez não diferiram entre si significativamente entre si. C=controle; EP=eficiência de polinizador; X=xenogamia intra-populacional; XI= xenogamia inter-populacional; AE= autogamia espontânea; AG=autogamia. A linha tracejada no interior das caixas representa as médias e as linhas contínuas as medianas. A margem inferior das caixas representam o 25º percentil, as superiores o 75º e as barras de erro inferiores e superiores o 10º e 90º percentil, respectivamente.

Figura 10. Peso das sementes formadas após diferentes experimentos de polinizações controladas realizados em indivíduos de *Ameroglossum pernambucense* nas populações dos *inselbergs* da Pedra do Guariba e Lajedo do Boi, localizadas no Nordeste do Brasil. Não foram encontradas diferenças significativas entre a raiz quadrada do peso das sementes produzidas pelos diferentes tipos de polinização (g.l.=5; F=2,02; p=0,08) C=controle; EP=eficiência de polinizador; X=xenogamia intra-populacional; XI=xenogamia inter-populacional; AE= autogamia espontânea; AG=autogamia. A linha tracejada no interior das caixas representa as médias e as linhas contínuas as medianas. A margem inferior das caixas representam o 25º percentil, as superiores o 75º e as barras de erro inferiores e superiores o 10º e 90º percentil, respectivamente.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1. Sincronia de floração - S_i , índice de Freitas & Bolmgren (2008) e Z , índice de Augspurger (1983) – e comparação entre as datas dos picos de floração das populações de *Ameroglossum pernambucense* da Pedra do Guariba (PG) e do Lajedo do Boi com os dias dos equinócios de março (equi) entre os anos de 2008 e 2010. Notar que os picos ocorreram muito próximos a um intervalo preciso de quatro meses após os (fonte: Observatório Real de Greenwich).

Tabela 2. Médias e desvios-padrão (entre parênteses) do volume (vol.), percentual de concentração (conc.) e miligramas (mg) de açúcares no néctar de flores de *Ameroglossum pernambucense* que sofreram entre uma e oito remoções de néctar ao longo da antese. Não foram detectadas diferenças significativas nem no volume (g.l.=7; F=0,85; p=0,55), nem na massa de açúcares (g.l.=7; F=0,59; p=0,0,76) totais das flores submetidas a diferentes quantidades de remoções de néctar. A ausência de desvios-padrão no último horário de remoção do primeiro grupo se deveu à persistência de apenas uma flor até este horário de retirada. A ausência de dados, no grupo 3 a partir das 6h do 3º dia também se deveu à senescência natural das flores desse grupo antes dos últimos horários de remoção. As análises ocorreram na população do afloramento granítico Lajedo do Boi, município de Agrestina, Pernambuco – Brasil.

SUMÁRIO

AGRADECIMENTOS.....	4
LISTA DE FIGURAS.....	5
LISTA DE TABELAS.....	8
1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA.....	11
1.1. Afloramentos graníticos.....	11
1.1.1. Características gerais.....	11
1.2. Aspectos reprodutivos de plantas rupícolas e de ambientes insulares <i>Inselbergs</i>	11
1.3. <i>Ameroglossum pernambucense</i> , distribuição e <i>status</i> de conservação.....	12
1.4. Implicações conservacionistas do conhecimento da ecologia reprodutiva de plantas ameaçadas de extinção.....	13
1.4.1. Implicações gerais.....	13
1.4.2. Fenologia da floração.....	14
1.4.3. Características do néctar e sua produção: especialização floral aos beija- flores.....	15
1.4.4. Sistema reprodutivo e limitação polínica.....	15
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	16
3. MANUSCRITO.....	23
1. INTRODUÇÃO.....	26
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	28
2.1. Locais de estudo.....	28
2.2. Fenologia da floração.....	28
2.3. Morfologia e biologia floral.....	29
2.4. Visitantes florais.....	30
2.5. Dinâmica de néctar.....	30
2.6. Sistema reprodutivo.....	31
2.7. Análise dos dados.....	32
3. RESULTADOS.....	34
3.1. Fenologia reprodutiva.....	34

3.2. Morfologia e biologia floral.....	35
3.3. Visitantes florais.....	36
3.4. Dinâmica de néctar.....	37
3.5. Sistema reprodutivo.....	38
4. DISCUSSÃO.....	38
4.1. Fenologia reprodutiva.....	38
4.2. Biologia floral de <i>Ameroglossum pernambucense</i> e especialização à ornitofilia.....	40
4.3. Ecologia reprodutiva de <i>A. pernambucense</i> e sua relação com as condições insulares dos afloramentos graníticos.....	43
5. AGRADECIMENTOS.....	46
6. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	46
7. FIGURAS E TABELAS.....	50
RESUMO.....	62
ABSTRACT.....	63
8. ANEXO – Normas de publicação do periódico onde o manuscrito será submetido.....	64

1. FUNDAMENTAÇÃO TEÓRICA

1.1. AFLORAMENTOS GRANÍTICOS

1.1.1. Características gerais

Os afloramentos graníticos são formações antigas com ca. de 50 milhões de anos, que estão dispersos em diferentes paisagens do globo (Porembski *et al.*, 1997). Dependendo de sua forma, os mesmos podem receber diversas denominações, dentre elas, *inselbergs* (Porembski *et al.*, 1997; Porembski 2007a; Michael *et al.*, 2010). O isolamento espacial, somado a altas temperaturas e solos rasos ou ausentes, que têm baixa capacidade de reter água, são características que diferenciam os afloramentos graníticos das matrizes que os entornam e os fazem ser categorizados como ilhas xéricas. Devido a essas características particulares, a vegetação encontrada nesses ambientes é predominantemente xérica, além de ocorrerem inúmeros táxons exclusivos (Biendinger *et al.*, 2000; Michael *et al.*, 2010; Porembski, 2007a; Porembski *et al.*, 1997; Szarzynski, 2000; Wyatt, 1997).

Por serem “ilhas terrestres” e com fronteiras bem delimitadas, as populações de plantas vasculares exclusivas de afloramentos graníticos tendem a ter o seu tamanho limitado pela área do afloramento e, portanto, possuem o tamanho geralmente reduzido (Barbará *et al.*, 2007; Porembski, 2007a; Wyatt, 1997). Vários trabalhos têm relatado altos níveis de diferenciação genética para populações de plantas exclusivas de *inselbergs*, os quais são principalmente atribuídos ao isolamento espacial, ao reduzido tamanho efetivo dessas populações (N_e), à baixa capacidade dos polinizadores promoverem fluxo polínico interpopulacional e ao nível de autogamia de cada espécie (Barbará *et al.*, 2007, 2009; Durka *et al.*, 2004; Palma-Silva *et al.*, 2011; Wyatt, 1997).

1.2. Aspectos reprodutivos de plantas rupícolas e de ambientes insulares

Devido a pouca disponibilidade hídrica dos afloramentos graníticos e o seu isolamento espacial, acredita-se que determinadas estratégias reprodutivas nesse ambiente sejam mais favoráveis do que outras (Biendinger *et al.*, 2000; Wyatt, 1997). A

auto-compatibilidade é frequente, sendo sua ocorrência atribuída à (1) facilidade de colonização de ambientes insulares, (2) garantia reprodutiva em populações pequenas e pouco atrativas para polinizadores, (3) escape à competição por polinizadores e (4) manutenção de genótipos adaptados às condições de estresse dos afloramentos (Baker, 1955; Löhne *et al.*, 2004; Wendt *et al.*, 2001, 2002; Woitke, 2006; Wyatt, 1997). Entretanto, apesar de várias espécies exclusivas desses ambientes apresentarem altos níveis de autocompatibilidade, refletido pela semelhança no número de frutos e sementes formados por autofecundação e xenogamia, atributos alógamos também ocorrem nessas espécies, sugerindo o favorecimento de um sistema reprodutivo misto (Löhne *et al.*, 2004; Wendt *et al.*, 2001, 2002; Wyatt, 1983). A autocompatibilidade é também uma característica compartilhada por espécies rupícolas de distribuição restrita (Wendt *et al.*, 2001; 2002). Sistemas autocompatíveis parecem ter relação com espécies de distribuição restrita, pois reduzem a variabilidade genética e, conseqüentemente, a amplitude de nicho de uma espécie, limitando assim, sua capacidade de ocupar novas áreas (Lowry & Lester, 2006). A autocompatibilidade pode ser também resultado de eventos de dispersão e fragmentação, comuns em plantas raras que exigem habitats específicos (Wendt *et al.*, 2002). Plantas rupícolas que possuem baixa capacidade de dispersão, como *Arenaria* spp. (Caryophyllaceae) devem levar até milhões de anos para que suas sementes alcancem novos afloramentos (Wyatt, 1984). Dessa maneira, a autocompatibilidade pode facilitar a colonização a partir de uma ou poucas sementes, por autogamia ou geitonogamia, em ambientes insulares (Baker, 1955; Wyatt, 1997; Anderson *et al.*, 2001; Bernadello *et al.*, 2004; Löhne *et al.*, 2004).

1.3. *Ameroglossum pernambucense*, DISTRIBUIÇÃO E STATUS DE CONSERVAÇÃO

Ameroglossum é um gênero monotípico cuja única espécie, *A. pernambucense* Eb Fischer, S. Vogel & A. Lopes (Scrophulariaceae), é endêmica dos afloramentos graníticos da Caatinga e dos brejos de altitude (Fischer *et al.* 1999; Giuliatti *et al.*, 2004) - enclaves de floresta Atlântica inseridos no domínio das caatingas (Andrade-Lima, 1960). Na literatura há registro de populações conhecidas apenas para os estados de Pernambuco e Paraíba (Fischer *et al.*, 1999; Giuliatti *et al.*, 2004; Porto *et al.*, 2008; Souza & Giuliatti, 2009). Essa planta é um arbusto perene que compõe a vegetação xérica dos *inselbergs* em que ocorre e cuja síndrome de polinização é a ornitófila

(Fischer *et al.*, 1999). *Ameroglossum pernambucense* foi classificada como espécie vulnerável à extinção pela Fundação Biodiversitas (2005) e encontra-se incluída na lista do Governo Brasileiro de espécies com deficiência de informações e cujos estudos científicos para avaliação do seu *status* de conservação são prioritários (MMA, 2008).

Os afloramentos graníticos estão suscetíveis a diferentes pressões antrópicas, tais como: mineração, pisoteio e pastagem por rebanhos, queimadas, coleta de espécies ornamentais, turismo e atividades recreativas (ex. escaladas e esportes automobilísticos) (Porembski 2007b; Michael *et al.* 2010). Porembski (2007b) afirmou que em regiões tropicais as consequências desses impactos é a extinção das espécies exclusivas dos afloramentos graníticos, as quais são substituídas por espécies ruderais. No Nordeste do Brasil, os afloramentos graníticos também se encontram expostos às pressões acima citadas (Pitrez, 2006; observação pessoal), não havendo legislação específica que assegure a conservação desses ambientes no Brasil (Meirelles *et al.*, 1999).

1.4. IMPLICAÇÕES CONSERVACIONISTAS DO CONHECIMENTO DA ECOLOGIA REPRODUTIVA DE PLANTAS AMEAÇADAS DE EXTINÇÃO

1.4.1. Implicações gerais

No atual cenário de acelerada perda de áreas naturais, as espécies de distribuição restrita e habitat específico são apontadas como mais vulneráveis à extinção quando comparadas às espécies amplamente distribuídas (Kruckeberg & Rabinowitz, 1985). Nesse sentido, diversos autores têm buscado compreender como a história de vida e os atributos ecológicos explicam a especificidade de habitat e distribuição restrita das espécies endêmicas (Bevill & Louda, 1999; Broennimann *et al.*, 2005; Murray *et al.*, 2002). Embora a ecologia reprodutiva muitas vezes não explique a raridade de uma planta (Murray *et al.*, 2002), a fenologia reprodutiva, as interações com os polinizadores e o sistema reprodutivo podem estar relacionados à sua distribuição e vulnerabilidade (Torres *et al.*, 2002; Murray *et al.*, 2002; Parmentier *et al.*, 2005; Lowry & Lester, 2006; Copete *et al.*, 2008). Além disso, conhecer os aspectos reprodutivos de uma espécie pode auxiliar a compreender os fatores que afetam a capacidade reprodutiva de uma população e, conseqüentemente, sua manutenção ou regeneração. Portanto, informações

da ecologia reprodutiva são importantes para a reintrodução e manejo de espécies endêmicas e ameaçadas (Bawa, 1990; Bernardello *et al.*, 2004; Rodríguez-Pérez, 2005).

1.4.2. Fenologia da floração

A duração dos eventos de floração, assim como sua intensidade, são fatores importantes para atração dos polinizadores e para a produção de sementes (Augspurger, 1983; Murray *et al.*, 2002; Torres *et al.*, 2002; Copete *et al.*, 2008). Além do padrão de floração, a sincronia em que os indivíduos de uma população ou de populações adjacentes florescem determinam a quantidade de flores disponíveis aos polinizadores em um determinado tempo e espaço. Dessa maneira, quanto maior a sincronia maior a atração dos polinizadores e as possibilidades de cruzamentos interindividuais, garantindo maior fluxo gênico (Bawa *et al.*, 1990; Gentry, 1974; Kameyama & Kudo, 2009). Entretanto, para florescerem sincronicamente, as plantas devem responder a estímulos ambientais que desencadeiem processos fisiológicos que culminem na floração. Árvores de florestas úmidas da Amazônia, em que há pouca sazonalidade e que o comprimento do dia não varia ao longo do ano devido à baixa latitude, parecem ter sua floração induzida pelas acentuadas variações no horário de alvorada ou ocaso que antecedem os equinócios de verão e inverno (Borchert *et al.*, 2005). Além da regulação fotoperiódica, a precipitação, a temperatura e a intensidade da radiação solar podem ser também fatores determinantes para induzir a floração de plantas tropicais (Günter *et al.*, 2008; Haugassen & Peres, 2005; Yeang, 2007; van Schaik *et al.*, 1993). Outros autores, no entanto, argumentam que em regiões tropicais a floração é uma resposta a vários estímulos ambientais, e não a apenas um (Günter *et al.*, 2008; van Schaik *et al.*, 1993). Por exemplo, Günter *et al.* (2008), comparando o padrão fenológico de árvores ocorrentes em uma área úmida e outra sazonal, tiveram evidências de que a floração era induzida por controle fotoperiódico, radiação solar e precipitação.

1.4.3. Características do néctar e sua produção: especialização floral aos beija-flores

O néctar é o principal recurso floral de plantas polinizadas por animais, estando associado à atração de polinizadores e consequente sucesso reprodutivo das plantas (Galletto & Bernardello, 2004; McDade & Weeks, 2004a). As flores adaptadas à polinização por beija-flores, geralmente possuem quantidades copiosas de néctar com concentrações de açúcares que variam dos 15 aos 30% (McDade & Weeks, 2004a). A disponibilidade de néctar nas flores determina o padrão de forrageio dos beija-flores (Feinsinger, 1976; Feinsinger & Colwell, 1978; Macdade & Weeks, 2004ab). Dessa maneira, flores especializadas em beija-flores devem manter o néctar em quantidade e qualidade suficientes para garantir o interesse dos beija-flores pelas flores (Feinsinger, 1976; Feinsinger & Colwell, 1978).

Além do volume e concentração de açúcares no néctar, a duração de sua produção também deve influenciar o número de visitas que uma flor vai receber. Dessa maneira, flores que produzem néctar ao longo de toda a antese e que não cessam sua produção após a visita de um polinizador, devem receber maior número de visitas (Feinsinger, 1976; Freitas & Sazima 2001; Kato & Sakai, 2008). A densidade de flores disponíveis também influencia a quantidade de néctar disponível e interfere no padrão de forrageio dos beija-flores. Flores com grandes quantidades de néctar em altas densidades estimulam a demarcação de territórios por determinados beija-flores, que impedem ou reduzem as visitas de outros beija-flores, interferindo, portanto, no fluxo polínico (Feinsinger, 1976; Feinsinger & Colwell, 1978; Freitas & Sazima, 2001; Garrison & Gass, 1999).

1.4.4. Sistema reprodutivo e limitação polínica

O sistema reprodutivo de uma planta influencia diretamente a variabilidade genética de suas populações, bem como o nível de dependência dos polinizadores para a produção de sementes (Barret, 1998; Good-Avila *et al.*, 2001; Moeller, 2006). Embora um sistema autoincompatível obrigue a formação de sementes apenas por xenogamia, o que assegura maior potencial adaptativo por aumentar a variabilidade genética de uma população, espécies autocompatíveis são comuns entre as angiospermas (Barret, 1998;

Schemske & Lande, 1985; Stebbins, 1957). Afirma-se que esse sistema reprodutivo pode ser vantajoso por permitir a colonização de áreas distantes sem necessitar a presença de parceiros sexuais nessas novas áreas (Anderson *et al.*, 2001; Baker, 1955; Bernardello *et al.*, 2004; Löhne *et al.*, 2004; Wyatt, 1997). Além disso, sistemas autogâmicos garantem a formação de sementes quando os polinizadores estão escassos ou ausentes (Kalisz *et al.*, 2004; Kalisz & Vogler, 2003). Entretanto, esse sistema reduz a variabilidade genética das plantas, diminuindo assim sua adaptabilidade às variações ambientais (Dudash, 1990; Lowry & Lester, 2006). Uma terceira alternativa reprodutiva às duas anteriores é o sistema reprodutivo misto, que favorece a alogamia, mas garante a produção de sementes quando os polinizadores estão ausentes (Goodwillie *et al.*, 2005; Kalisz *et al.*, 2004).

Uma vez que as plantas podem apresentar diferentes estratégias reprodutivas, que devem estar associadas aos habitats que ocupam, perturbações ambientais devem alterar a dinâmica reprodutiva das populações (Kearns *et al.*, 1998; Knight *et al.*, 2005). Por exemplo, a fragmentação de habitat pode reduzir a disponibilidade de polinizadores e resultar em limitação polínica (Becker *et al.*, 2011; Knight *et al.*, 2005; Neel, 2002). Além disso, populações pequenas e isoladas são, geralmente, pouco atrativas aos polinizadores. Portanto, espécies que se distribuem em pequenas manchas ou tiveram habitat reduzido por ação antrópica estão mais vulneráveis à extinção devido à endogamia, deriva genética e limitação de polinizadores (Ellstrand and Elam, 1993; Kearns *et al.*, 1998; Neel, 2002). Dessa maneira, avaliar o sistema reprodutivo dessas espécies e verificar se as mesmas estão sofrendo algum constrangimento reprodutivo, permite avaliar se suas populações estão sendo afetadas nesta fase do ciclo de vida (Bawa, 1990; Becker *et al.*, 2011, Bernardello *et al.*, 2004; Rodríguez-Pérez, 2005; Philipp and Nielsen, 2010).

2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson G.J., Bernardello G., Stuessy T.F., Crawford D.J. (2001) Breeding system and pollination of selected plants endemics to Juan Fernández Islands. *American Journal of Botany*, **88**, 220-233.

- Andrade-Lima D. (1960) Estudos fitogeográficos de Pernambuco. *Arquivo do Instituto de Pesquisas Agronômicas*, **5**, 305-341.
- Augspurger C.K. (1983) Phenology, flowering synchrony, and fruit set of six Neotropical shrubs. *Biotropica*, **15**, 257-267.
- Baker H.G. (1955) Self-compatibility and establishment after “long distance” dispersal. *Evolution*, **9**, 347-349.
- Barbará T., Martinelli G., Fay M.F., Mayo S., Lexer, C. (2007) Population differentiation and species cohesion in two closely related plants adapted to Neotropical high-altitude “inselbergs”, *Alcantarea imperialis* and *Alcantarea geniculata* (Bromeliaceae). *Molecular Ecology*, **16**, 1981-1992.
- Barret S.C.H. (1998) The evolution of mating strategies in flowering plants. *Trends in Plant Science*, **3**, 335-341.
- Bawa K.S. (1990) Plant-pollinator interactions in tropical Rain Forests. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **21**, 399-422.
- Becker T., Voss N., Durka W. (2011) Pollen limitation and inbreeding depression in an ‘old rare’ bumblebee-pollinated grassland herb. *Plant Biology*, **13**, 857-864.
- Bernardello G., Aguilar R., Anderson G.J. (2004) The reproductive biology of *Sophora fernandeziana* (Leguminosae), a vulnerable endemic species from Isla Robinson Crusoe. *American Journal of Botany*, **91**, 198-206.
- Bevill R.L., Louda S.M. (1999) Comparisons of related rare and common species in the study of plant rarity. *Conservation Biology*, **13**, 493-498.
- Biendinger, N.; Porembski, S. & Barthlott, W. (2000) Vascular plants on Inselbergs: vegetative and reproductive strategies. In: Porembski S., Barthlott W. (Eds), *Inselbergs: biotic diversity of isolated rock outcrops in tropical and temperate regions*, Ecological Studies 146, Berlin: 117-140.
- Broennimann O., Vittoz P., Moser D., Guisan A. (2005) Rarity types among plant species with conservation priority in Switzerland. *Botanica Hevelica*, **115**, 95-108.
- Borchert, R.; Renner, S. S.; Calle, Z.; Navarrete, D.; Tye, A.; Gautier, L.; Spichiger, R. & Hildebrand, P. (2005) Photoperiodic induction of synchronous flowering near the Equator. *Nature* **433**, 627-629.
- Copete M.A., Herranz J.M., Ferrandis, P. (2008) Reproductive biology of the critically endangered endemic Mediterranean plant *Coincya rupestris* subsp. *rupestris*

- (Spain): the effects of competition and summer drought on seedling establishment. *Revista Chilena de Historia Natural*, **81**, 345-359.
- Dudash M.R. (1990) Relative fitness of selfed and outcrossed progeny in a self-compatible, protandrous species, *Sabatia angularis* L. (Gentianaceae): a comparison in three environments. *Evolution*, **44**, 1129-1139.
- Ellstrand N.C., Elam D.R. (1993) Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **24**, 217-242.
- Feinsinger, P. (1976) Organization of a tropical guild of nectarivorous birds. *Ecological Monographs* **46**, 257-291.
- Feinsinger P. & Colwell R.K. (1978) Community organization among Neotropical nectar-feeding birds. *American Zoologist*, **18**, 779-795.
- Fischer E., Vogel S., Lopes A.V. (1999) *Ameroglossum*, a new monotypic genus of Scrophulariaceae-Scrophularioideae from Brazil. *Feddes Repertorium*, **110**, 529-234.
- Freitas L. & Sazima M. (2001) Nectar features in *Estherhazyia macrodonta*, a hummingbird pollinated Scrophulariaceae in Southeastern Brazil. *Journal of Plant Research*, **114**, 187-191.
- Fundação Biodiversitas (2005) Lista da flora brasileira ameaçada de extinção segundo avaliação no Workshop da Fundação Biodiversitas 2005.
- Galetto L. & Bernardello G. (2004) Floral Nectaries, Nectar Production Dynamics and Chemical Composition in Six Ipomoea Species (Convolvulaceae) in Relation to Pollinators. *Annals of Botany*, **94**, 269-280.
- Garrison J.S.E & Gass C.L. (1999) Response of a traplining hummingbird to changes in nectar availability. *Behavioral Ecology*, **10**, 714-725.
- GENTRY A.H. Flowering phenology and diversity in Tropical Bignoniaceae. *Biotropica*, **6**, 64-68. 1974.
- Giulietti A.M., Bocage-Neta A.L., Castro A.A.J.F., Gamarra-Rojas C.F.L., Sampaio E.V.S.B., Virgínio J.F., Queiroz L.P., Figueiredo M.A., Rodal M.J.N., Barbosa M.R.V., Harley R.M. (2004) Diagnóstico da vegetação nativa do bioma Caatinga. In: Silva J.M.C., Tabarelli M., Fonseca M.T., Lins L.V. (Eds), *Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação*, MMA, UFPE,

- Conservation International do Brasil, Fundação Biodiversitas, Embrapa Semi-Árido: 45-131.
- Good-Avila S.V., Frey F., Stephenson A.G. (2001) The effect of partial self-compatibility on the breeding system of *Campanula rapunculoides* L. (Campanulaceae) under conditions of natural pollination. *International Journal of Plant Science*, **162**, 1081-1087.
- Goodwillie C., Kalisz S., Eckert C.G. (2005) The evolutionary enigma of mixed mating systems in plants: occurrence, theoretical explanations, and empirical evidence. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics*, **36**, 47-79.
- Günter S., Stimm B., Cabrera M., Diaz M.L., Lojan M., Odoñez E., Richter M., Weber M. (2008) Tree phenology in montane forests of southern Ecuador can be Explained by precipitation, radiation and photoperiodic control. *Journal of Tropical Ecology* **24**, 247-248.
- Kameyama Y, Kudo G. (2009) Flowering phenology influences seed production and outcrossing rate in populations of na alpine snowbed shrub, *Phyllodoce aleutica*: effects of pollinators and self-incompatibility. *Annals of Botany*, **103**, 1385-1394.
- Kalisz S., Vogler, D.W., Hanley, K.M. (2004) Context dependent autonomous self-fertilization yields reproductive assurance and mixed mating. *Nature* **430**, 884-887.
- Kato S. & Sakai S. (2008) Nectar secretion strategy in three Japanese species: changes in nectar volume and sugar concentration dependent on flower age and flowering order. *Botany*, **86**, 337-345.
- Kearns C.A., Inouye D.W., Waser N.M. (1998) Endangered mutualisms: the conservation of plant/pollinator interactions. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, **28**, 83-112.
- Knight, T.M., Steets J.A., Vamosi J.C., Mazer S.J., Burd M., Campbell D.R., Dudash M.R., Johnston M.O., Mitchell R.J., Ashman T.L. (2005) Pollen limitation fo plant reproduction: pattern and process. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, **36**, 467-497.
- Kruckeberg A.R., Rabinowitz D. (1985) Biological aspects of endemism in higher plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **16**, 447-479.
- Löhne C., Machado I. C., Porembski S., Erbar C., Leins, P. (2004) Pollination biology of a *Mandevilla* species (Apocynaceae) characteristic of NE-brazilian inselberg vegetation. *Botanische Jahrbücher für Systematik*, **125**, 229-243.

- Lowry E., Lester E. (2006). The biogeography of plant reproduction: potential determinants of species' range size. *Journal of Biogeography*, **33**, 1975-1982.
- McDade L.A. & Weeks J.A. (2004a) Nectar in hummingbird-pollinated Neotropical plants I: patterns of production and variability in 12 Species. *Biotropica* **36**, 196-215.
- McDade L.A. & Weeks J.A. (2004b) Nectar in hummingbird-pollinated Neotropical plants II: interactions with flower visitors. *Biotropica*, **36**, 216-230.
- Meirelles S.T., Pivello V.R., Joly C.A. (1999) The vegetation of granite rock outcrops in Rio de Janeiro, Brazil, and the need for its protection. *Environmental conservation*, **26**, 10-20.
- Michael D.R., Lindenmayer D.B., Cunningham. R.B. (2010) Managing rock outcrops to improve biodiversity conservation in Australian agricultural landscapes. *Ecological Management & Restoration*, **11**, 43-50.
- MMA – MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. (2008) *Anexo II. Lista das espécies da flora brasileira com deficiência de dados*. Lista do Ministério do Meio Ambiente, Brasília: 55 pp.
- Moeller D.A. (2006) Geographic structure of pollinator communities, reproductive assurance, and the evolution of self-pollination. *Ecology*, **87**, 1510-1522.
- Murray R.B., Thrall P.H., Gill A.M., Nicotra A.B. (2002) How plant life-history and ecological traits relate to species rarity and commonness at varying spatial scales. *Austral Ecology*, **27**, 291-310.
- Neel, M.C. (2002) Conservation implications of the reproductive ecology of *Agalinis acuta* (Scrophulariaceae). *American Journal of Botany* **89**, 972-980.
- Palma-Silva C., Wendt T., Pinheiro F., Barbará T., Fay M.F., Cozzolino S., Lexer. C. (2011). Sympatric bromeliad species (*Pitcairnia* spp.) facilitate tests of mechanisms involved in species cohesion and reproductive isolation in Neotropical inselbergs. *Molecular Ecology*, **20**, 3185-3201.
- Parmentier I., Stévant T., Hardy O. (2005) The inselberg flora of Atlantic Central Africa. I. Determinants of species assemblages. *Journal of Biogeography*, **32**: 685-696.
- Philipp M., Nielsen L.R. (2010) Reproductive ecology of *Scalesia cordata* (Asteraceae), an endangered species from the Galápagos Islands. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **162**, 496-503.

- Pitrez S.R. (2006) *Florística, fitossociologia e citogenética de angiospermas ocorrentes em inselbergues*. Thesis (Doctorate in Agronomy), Universidade Federal da Paraíba, Areia.
- Porembski S. (2007a) Tropical inselbergs: habitats types, adaptive strategies and diversity patterns. *Revista Brasileira de Botânica*, **30**, 579-586.
- Porembski S. (2007b) Effects of anthropogenic disturbance on the vegetation of granitic and gneissic rock outcrops ('inselbergs') in West Africa. *Nova Hedwigia*, **131**, 237-246.
- Porembski S. Seine R. Barthott W. (1997) *Inselberg* vegetation and the biodiversity of granite outcrops. *Journal of the Royal Society of Western Australia*, **80**, 193-199.
- Porembski S. (2007a) Tropical inselbergs: habitats types, adaptive strategies and diversity patterns. *Revista Brasileira de Botânica*, **30**, 579-586.
- Porto P.A.F., Almeida A., Pessoa W.J., Trovão D., Felix L.P. (2008) Composição florística de um inselbergue no agreste paraibano, município de Esperança, Nordeste do Brasil. *Caatinga*, **21**, 214-223.
- Rodríguez-Pérez J. (2005). Breeding system, flower visitors, and seedling survival of two endangered species of *Helianthemum* (Cistaceae). *Annals of Botany*, **95**, 1229-1236.
- Schemske D.W., Lande R. (1985) The evolution of self-fertilization and inbreeding depression in plants. II. Empirical observations. *Evolution*, **39**, 41-52.
- Souza V.C., Giuliatti A.M. (2009) Levantamento das espécies de Scrophulariaceae *sensu lato* nativas do Brasil. *Botânica*, **60**, 7-288.
- Stebbins G.L. (1957) Self fertilization and population variability in the higher plants. *The American Naturalist*, **91**, 337-354.
- Szarzynski, J. (2000) Xeric islands: environmental conditions on inselbergs. In: Porembski S., Barthlott W. (Eds), *Inselbergs: biotic diversity of isolated rock outcrops in tropical and temperate regions*, Ecological Studies 146, Berlin: 37-48.
- Haugaasen T., Peres C.A. (2005) Three phenology in adjacent Amazonian flooded and unflooded forests. *Biotropica*, **37**, 620-630.
- Torres E., Iriondo J.M., Pérez, C. (2002) Vulnerability and determinants of the narrow endemic *Anthirrinum microphyllum* (Scrophulariaceae). *American Journal of Botany*, **89**, 1171-1179.

- van Schaik C.P., Terborgh J.W., Wright S.J. (1993) The phenology of tropical forests: adaptive significance and consequences for primary consumers. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **24**, 353–377.
- Wendt T., Canela M.B.F., Faria A.P.G., Rios R.I. (2001) Reproductive biology and natural hybridization between two endemic species of *Pitcairnia* (Bromeliaceae). *American Journal of Botany*, **88**, 1760-1767.
- Wendt T., Canela M.B.F., Faria A.P.G., Rios R.I. (2002) Selfing facilitates reproductive isolation among three sympatric species of *Pitcairnia* (Bromeliaceae). *Plant Systematics and Evolution*, **232**, 201-212.
- Woitke W., Wolf W., Hartung W., Heilmeier H. (2006) Flower Morphology of the Resurrection plant *Chamaegigas intrepidus* Dinter and some of its pollinators. *Flora*, **201**, 281-286.
- Wyatt R. (1983) Reproductive biology of the granite outcrop endemic *Sedum pusillum* (Crassulaceae). *Systematic Botany*, **8**, 24-28.
- Wyatt R. (1984) The evolution of self-pollination in granite outcrop species of *Arenaria* (Caryophyllaceae). I. Morphological correlates. *Evolution*, **8**, 804-816.
- Wyatt R. (1997) Reproductive ecology of granite outcrop plants from the Southeastern United States. In: Whitters P.C., Hopper S.D. (Eds), Granite outcrops symposium. *The Journal of The Royal Society of Western Australia* **80**, 123-129.
- Yeang H. Y. (2007) Synchronous flowering of the rubber tree (*Hevea brasiliensis*) induced by high solar radiation intensity. *New Phytologist*, **175**, 283-289.

3. MANUSCRITO

Artigo a ser enviado ao periódico Plant Biology

**ECOLOGIA REPRODUTIVA E INFERÊNCIAS SOBRE A EVOLUÇÃO E
VULNERABILIDADE DE *Ameroglossum pernambucense* Eb Fischer, S. Vogel & A.
Lopes (Scrophulariaceae), ESPÉCIE ENDÊMICA DOS *INSELBERGS* DO NORDESTE
BRASILEIRO E VULNERÁVEL À EXTINÇÃO**

Wanderley, Artur Maia¹; Lopes, Ariadna Valentina^{1,2} & Machado, Isabel
Cristina^{1,2}

¹ Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Laboratório de Biologia
Floral e Reprodutiva, Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco,
Recife – PE, Brasil - artur_mw@hotmail.com

² Departamento de Botânica, Universidade Federal de Pernambuco. Av. Prof^o
Morais Rego, s/n^o Cidade Universitária CEP: 50670-901- Recife - PE, Brasil.

LISTA DE ABREVIACÕES

PG = Pedra do Guariba

LB = Lajedo do Boi

LAMEPE/ITEP = Laboratório de Meteorologia de Pernambuco/Instituto de Tecnologia de Pernambuco

Radsol = radiação solar acumulada

Prec = precipitação

Δdurdia = variação do comprimento do dia

Δocaso = variação do horário de ocaso

X = xenogamia

AG = autogamia

CPTEC = Centro de Previsão do Tempo e Estudos Climáticos

1. INTRODUÇÃO

Espécies cujas populações são pequenas (<100 indivíduos) e isoladas, em razão de fragmentação natural ou de origem antrópica, tendem a ter maior vulnerabilidade à extinção devido à erosão genética decorrente de endogamia, deriva genética ou redução de fluxo gênico por limitação de polinizadores (Becker *et al.*, 2011, Cruzan, 2001; Ellstrand and Elam, 1993; Kearns *et al.*, 1998; Kruckeberg and Rabinowitz, 1985). Nesse contexto, o conhecimento da ecologia reprodutiva das espécies endêmicas e ameaçadas, cujas populações são reduzidas e fragmentadas, é fundamental para compreender os mecanismos envolvidos na geração do produto final da polinização, as sementes, e quais fatores podem afetar este processo (Bawa, 1990; Becker *et al.*, 2011, Bernardello *et al.*, 2004; Philipp and Nielsen, 2010; Zhang *et al.*, 2011).

Os afloramentos graníticos, que a depender da forma, podem receber diferentes denominações, dentre elas *inselberg*, são ambientes que se encontram isolados em diferentes paisagens do globo e abrigam um grande número de espécies endêmicas (Porembski *et al.*, 1997; Porembski 2007a; Michael *et al.*, 2010). As populações de plantas exclusivas dos afloramentos graníticos são isoladas espacialmente, de maneira análoga às populações de ilhas oceânicas (Porembski, 2007a; Wyatt, 1997). Além disso, por terem suas fronteiras extremamente bem delimitadas pela matriz, suas populações, além de isoladas, tendem a ser pequenas (Barbará *et al.*, 2007). Os afloramentos graníticos estão suscetíveis a diferentes pressões antrópicas, tais como: mineração, pisoteio e pastagem por rebanhos, queimadas, coleta de espécies ornamentais, turismo e atividades recreativas (ex. escaladas e esportes automobilísticos) (Porembski 2007b; Michael *et al.* 2010). Porembski (2007b) afirmou que em regiões tropicais as consequências desses impactos são a extinção das espécies exclusivas dos afloramentos graníticos, as quais são substituídas por espécies ruderais. No Nordeste do Brasil, os afloramentos graníticos também se encontram expostos às pressões acima citadas (Pitrez, 2006; observação pessoal), não havendo legislação brasileira específica que assegure a conservação desses ambientes (Meirelles *et al.*, 1999).

Ameroglossum pernambucense Eb Fischer, S. Vogel & A. Lopes (Scrophulariaceae) é um arbusto ornitófilo e endêmico dos afloramentos graníticos inseridos na Caatinga – Grande Área Natural (Mittermeier *et al.*, 2003) - e nos brejos de altitude (Fischer *et al.* 1999; Giuliatti *et al.*, 2004), enclaves de floresta Atlântica – *hot*

spot mundial (Myers *et al.*, 2000) - inseridos no domínio das Caatingas (Andrade-Lima, 1960). Na literatura há registro de populações conhecidas apenas para os estados de Pernambuco e Paraíba (Fischer *et al.*, 1999; Giulietti *et al.*, 2004; Porto *et al.*, 2008; Souza and Giulietti, 2009), entretanto, populações já foram localizadas no estado do Rio Grande do Norte e Alagoas (observação pessoal). Embora *A. pernambucense* esteja incluída em Scrophulariaceae, família cuja filogenia controversa resultou na transferência da maioria dos seus gêneros para Plantaginaceae, Orobanchaceae, Calceolariaceae e Linderniaceae (Souza and Lorenzi, 2008), Souza & Giulietti (2009) afirmaram que esta espécie está proximamente relacionada à *Penstemon* e *Russelia*, gêneros atualmente incluídos em Plantaginaceae (Stevens, 2001 *onwards*). A maioria das populações dessa espécie ocorre em locais superiores aos 500 m de altitude e o número de indivíduos em cada afloramento pode variar de um a poucas centenas (observação pessoal). Em 2005, *A. pernambucense* foi incluída na categoria vulnerável à extinção, junto a mais 1494 espécies vegetais, na Lista da Flora Brasileira Ameaçada de Extinção Segundo Avaliação no *Workshop* da Fundação Biodiversitas (2005), que seguiu os critérios da IUCN (2001), e foi solicitada pelo Ministério do Meio Ambiente para gerar a Lista Oficial de Espécies Ameaçadas da Flora Brasileira (MMA 2008). Entretanto, sem ter sido claramente justificado pelo MMA (Biodiversitas, 2009), *A. pernambucense* e mais 1023 espécies, classificadas em alguma categoria de ameaça foram incluídas apenas na Lista de Espécies da Flora Brasileira com Deficiência de Dados, lista oficial do Governo Federal que discrimina espécies consideradas prioritárias para pesquisas científicas que visem avaliar seu *status* de conservação, mas que não são legalmente protegidas (MMA 2008). Caso semelhante foi recentemente relatado por Versieux (2011) para *Vriesea minarum* L.B. Sm., Bromeliaceae exclusiva do Quadrilátero Ferrífero de Minas Gerais.

Uma vez que populações pequenas e isoladas são mais suscetíveis a graves perdas de variabilidade genética e que o conhecimento da ecologia reprodutiva de espécies endêmicas e ameaçadas permite a predição de eventos que possam limitar sua reprodução (Bernardello *et al.*, 2004; Cruzan, 2001; Ellstrand and Elam, 1993; Kearns *et al.*, 1998; Klank *et al.*, 2010; Kruckeberg and Rabinowitz, 1985; Liao and Reed, 2009; Meredith *et al.*, 2011; Philipp and Nielsen, 2010; Willie and Määtänen, 2011), este trabalho teve como objetivos verificar quatro fatores reprodutivos (fenologia e sincronia da floração, oferta de néctar aos polinizadores e sistema reprodutivo) com

importante papel sobre o fluxo gênico e sucesso reprodutivo de populações de angiospermas (Bawa *et al.*, 1990; Becker *et al.*, 2011, Tschapka and Helversen, 2007; Kameyama and Kudo, 2009; Torres *et al.*, 2002; Sun *et al.*, 2010). Além disso, também se avaliou a presença e o comportamento de forrageio dos polinizadores e se havia limitação reprodutiva em duas populações de *A. pernambucense*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Locais de estudo

O presente estudo foi realizado em duas populações, distantes ca. de 12 km, ocorrentes em dois afloramentos graníticos pertencentes ao Município de Agrestina, Centro-Oeste de Pernambuco, Nordeste do Brasil. Um dos afloramentos, Pedra do Guariba (PG) - 08°22'57,8" S; 35°59'40,5" O, alt. 677 m -, está localizado em um brejo de altitude (floresta Atlântica) e o outro, conhecido como Lajedo do Boi (LB) - 08°28'07,6" S; 35° 55' 05,6" O, alt. 443 m -, em área de Caatinga. Em ambas as populações os indivíduos de *A. pernambucense* vegetavam no solo acumulado em pequenas depressões ou frestas da rocha. Na população PG, o número de indivíduos férteis era ca. de 40 e estavam concentrados na porção sul do afloramento. Na população LB havia ca. de 70 indivíduos férteis, os quais estavam distribuídos mais homogeneamente ao longo da rocha. A precipitação média anual da região em que as populações estão localizadas é de aproximadamente 670 mm, sendo o período de maior precipitação entre os meses de março e julho (fonte: LAMEPE/ITEP).

2.2. Fenologia da floração

Os eventos de floração da população PG foram acompanhados entre os anos de 2008 e 2010 e os da população LB apenas em 2010. Em ambas as populações o acompanhamento fenológico consistiu na contagem, em intervalos de 7 a 10 dias, das flores de todos os indivíduos férteis encontrados durante todo o período da floração (exceto na população LB, nas quais foram excluídos os indivíduos que já estavam em

flor no início do acompanhamento e análise). Ao todo, 41 indivíduos foram monitorados na população PG e 67 na população LB. Para cada ano e população foram obtidos os seguintes parâmetros fenológicos (*modificados de Dafni, 1992*): número total de flores ao longo da floração; duração da floração, tempo entre a primeira e última flor produzida; pico da floração, definido pelo maior número de flores contadas em um censo; número de semanas entre o início e o pico da floração; número de indivíduos férteis; média de flores produzidas por indivíduo ao longo da floração; maior e menor número de flores produzidas por um indivíduo durante a floração e em um único censo.

A partir dos dados fenológicos foram determinadas a sincronia de floração intra e interpopulacionais, através dos índices de Augspurger (1983) e Freitas & Bolmgren (2008). A diferença entre esses dois índices se deve ao fato do primeiro levar em conta apenas o nível de sobreposição dos indivíduos férteis analisados, enquanto o segundo leva em conta também o nível de sobreposição da intensidade de floração desses indivíduos (*ver Freitas and Bolmgren, 2008*). Com os dados fenológicos, verificou-se também o efeito das variáveis ambientais radiação solar acumulada (radsol), variação do horário de ocaso (Δ ocaso), variação da duração do dia (Δ durdia) e precipitação (prec) sobre a quantidade de flores produzidas e o número de indivíduos em flor (*ver tópico 2.8. Análise dos dados*). A escolha dessas variáveis explicativas se baseou em diversos estudos que verificaram respostas significativas dos padrões fenológicos, principalmente de comunidades de árvores tropicais, a estes fatores ambientais (*ver Borchert et al., 2005; Yeang, 2007; Günter et al., 2008*).

2.3. Morfologia e biologia floral

Para a morfometria floral foram tomadas medidas dos verticilos florais, com auxílio de paquímetro digital e estereomicroscópio, de 44 flores pertencentes a 17 indivíduos (máximo de cinco flores coletadas por indivíduo) da população PG. A existência de odores florais foi verificada a partir da inclusão, de 30 flores – 15 para cada população - em frascos separados de vidro e tampados. Após 30 minutos os frascos foram abertos e a presença de odor verificada por distintas pessoas (Dafni, 2005). Para determinação do horário da antese, sua duração e eventos associados, 32 botões em pré-antese de diferentes indivíduos (11 na PG e 21 no LB) foram marcados em campo e acompanhados, em intervalos de 4 h durante o período diurno, até a senescência das

flores. A receptividade estigmática foi determinada em campo com peróxido de hidrogênio (H₂O₂) (Galen and Plowright, 1987), utilizando-se 10 flores de cada população e de indivíduos distintos. A viabilidade polínica foi estimada com carmim acético a 2% (Radford, 1974), a partir da contagem do número de grãos inviáveis (não corados) dentre os primeiros 2000 grãos de pólen observados.

2.4. Visitantes florais

Para determinar a partilha de polinizadores entre as duas populações *A. pernambucense*, seu padrão de forrageio e se os mesmos correspondiam à síndrome de polinização das flores, foram realizadas observações naturalísticas ao longo de todo o dia (Lehner, 1979) na população PG entre 2008 e 2010 (52,5 h) e na população LB em 2010 (10 h). Durante as observações determinou-se a frequência e o comportamento (pilhadores ou polinizadores) dos visitantes florais. A determinação da frequência se deu a cada investida do visitante floral aos indivíduos focais, não sendo contabilizado na frequência o número de visitas que ocorriam em cada uma das investidas. Em duas ocasiões foram feitas observações na população LB ao anoitecer por cerca de 30 min. Foram considerados polinizadores aqueles que ao obter o recurso das flores (néctar) contactavam o estigma e pilhadores os que removiam pólen ou néctar sem contactar esta estrutura.

2.5. Dinâmica de néctar

As análises de néctar foram realizadas na população LB. Em campo, foram obtidos o volume e a concentração das flores de *A. pernambucense* com auxílio, respectivamente, de microseringa e refratômetro de bolso. Posteriormente, com os valores de volume e concentração, foi possível calcular a quantidade de açúcares (mg/flor) das flores amostradas (Galletto and Bernardello, 2005). Foram analisados: (1) o padrão de produção de néctar e (2) o efeito de sucessivas retiradas sobre o volume e massa de açúcares totais produzidos pelas flores. Para este fim, foram utilizados oito grupos de quatro a cinco flores (total = 39 flores), sendo o néctar retirado em intervalos de oito horas (6:00, 14:00 e 22:00 h). Para determinar o padrão de produção, o néctar era retirado, a cada intervalo, de um novo grupo de flores que ainda não havia sido feita

a retirada. Para determinar a capacidade de reposição e a produção total de néctar após a remoção do mesmo, a cada vez que se iniciava a remoção de néctar em um grupo de flores, o mesmo sofria repetidas remoções após cada intervalo (adaptado de Freitas & Sazima, 2001; *ver tabela 2 deste trabalho*). Entre cada remoção, as flores eram isoladas com sacos de *voile* com ~5 μm de malha para evitar a retirada de néctar por visitantes florais. Ao remover o néctar se teve extrema cautela para evitar danos ao nectário e outras partes florais.

2.6. Sistema reprodutivo

O sistema reprodutivo foi determinado em ambas as populações a partir de experimentos de polinizações controladas, utilizando-se flores previamente isoladas de visitantes florais e com o estigma receptivo. Quando necessário, o isolamento das flores dos visitantes florais foi feito com sacos de *voile* (11,5 X 7,0 cm) com ~5 μm de malha. Foram realizados os seguintes testes, modificados a partir de Radford *et al.* (1974): (1) autogamia espontânea ($N_{PG}=31$; $N_{LB}=33$; $\Sigma=64$) - botões intactos foram isolados dos visitantes florais; (2) autogamia ($N_{PG}=20$; $N_{LB}=34$; $\Sigma=54$) - polinização manual com o pólen da própria flor; (3) xenogamia ($N_{PG}=15$; $N_{LB}=33$; total=48) - polinização manual de uma flor com o pólen de outro indivíduo da mesma população; (4) xenogamia interpopulacional ($N_{PG}=20$; $N_{LB}=23$; $\Sigma=43$) - polinização manual cruzada entre flores das populações PG e LB; (5) eficiência de polinizador ($N_{PG}=13$; $N_{LB}=23$; $\Sigma=36$) - botões em pré-antese foram emasculados, sem comprometer a arquitetura floral, e expostos aos visitantes florais; (6) agamospermia ($N_{PG}=20$; $N_{LB}=20$; $\Sigma=40$) - botões em pré-antese foram emasculados e isolados dos visitantes florais; (7) controle ($N_{PG}=25$; $N_{LB}=56$; $\Sigma=81$) - flores foram aleatoriamente marcadas e deixadas expostas aos visitantes florais. Para cada tratamento utilizou-se 1-4 flores por indivíduo e para cada cruzamento interfloral foram utilizadas 2-4 flores doadoras de pólen. As flores utilizadas na xenogamia inter-populacional foram acondicionadas em caixas térmicas umedecidas com lenços de papel e o transporte entre as populações durou ca de 30 min. Após a senescência das flores submetidas aos diferentes tratamentos reprodutivos, os sacos de *voile* foram mantidos para evitar a perda das sementes devido à deiscência dos frutos.

Após os experimentos de polinizações controladas a formação de frutos foi acompanhada semanalmente para a determinação da razão fruto-flor de cada tratamento. Os frutos formados em cada tratamento foram coletados entre 45-60 dias após a realização do experimento e trazidos para o laboratório. Esses frutos foram então desidratados em estufa a 60° C por ca. de quatro dias. Após a desidratação, os frutos e 50 sementes – escolhidas ao acaso - de cada fruto foram pesados separadamente em balança de precisão. Após a pesagem, as sementes oriundas dos frutos formados pelos diferentes tratamentos foram contadas. Devido à força dos ventos, muitos frutos foram perdidos. Assim, para se obter maior número de réplicas, optou-se por analisar conjuntamente os dados de sistema reprodutivo das duas populações.

2.7. Análise dos dados

Para avaliar o efeito das variáveis ambientais sobre a floração de *A. pernambucense* na população PG foram realizadas duas regressões múltiplas *stepwise* em que as variáveis resposta foram: (1) número de flores produzidas ou (2) número de indivíduos em flor. Os valores incluídos nos modelos de regressão para essas variáveis foram os obtidos pelo acompanhamento a cada intervalo de 7 a 10 dias durante as florações de 2008 a 2010, os quais totalizaram 55 observações. Para ambas as regressões as variáveis explicativas foram: radsol, Δ ocaso, Δ durdia e prec. Para evitar problemas de multicolinearidade (Zar, 1996), verificou-se, através do índice de correlação de Spearman, a correlação entre as variáveis explicativas, as quais não apresentaram índices superiores a 0,38.

Uma vez que as plantas apresentam, geralmente, um retardo entre o estímulo ambiental e as respostas fenológicas (Borchert *et al.*, 2005; Yeang, 2007), os dados climáticos e fenológicos foram correlacionados cruzadamente através de análise de séries temporais. Dessa maneira, as maiores correlações entre cada variável explicativa e as variáveis resposta, encontradas em um intervalo de tempo de até 10 semanas anteriores às observações fenológicas, determinavam o retardo com que cada variável explicativa iria ser incluída nos modelos. Após aplicar as correlações cruzadas, os retardos com que as variáveis explicativas foram incluídas nos modelos foram os seguintes: radsol, seis semanas, tanto para o modelo de número de flores produzidas, quanto para o de indivíduos férteis; Δ ocaso, três semanas para o modelo número de

flores produzidas e quatro semanas para o de número de indivíduos férteis; *prec*, seis semanas para o primeiro modelo e sete semanas para o segundo. Como os maiores índices de correlação encontrados para a variável *durdia* foram com retardo de zero semana, esta variável foi incluída em ambos os modelos sem retardo temporal. Os dados de *radsol* foram fornecidos pelo Centro de Previsão do Tempo e Estudos Climáticos (CPTEC), através do site http://sinda.crn2.inpe.br/PCD/historico/consulta_pcdm.jsp. Os dados de precipitação (*prec*) foram cedidos pelo Laboratório de Meteorologia de Pernambuco (LAMEPE), disponíveis no endereço virtual <http://www.itep.br/LAMEPE.asp>. Esses dados são referentes ao município de Caruaru (PE), cidade mais próxima às áreas de estudo - distante 5 km da população PG e 20 km da população LB – cujos dados ambientais estavam disponíveis. Os horários de ocaso e duração dos dias foram obtidos no Anuário Interativo do Observatório Nacional (<http://euler.on.br/ephemeris/index.php>).

Para determinar os polinizadores mais frequentes da população PG, comparou-se o número de visitas/h dos dois beija-flores (*Amazilia fimbriata* e *Phaethornis pretrei*) observados ao longo dos três anos de estudo através de um teste *t* pareado. Uma terceira espécie, *Eupetomena macroura*, foi observada na população PG apenas duas vezes em 2010 e, por isso, não foi incluída na análise. Devido ao menor tempo de observação dos visitantes florais na população LB (10h), não foram realizados testes estatísticos para esta população. Para os dados de sistema reprodutivo foi utilizado o teste de Qui-quadrado para comparar a frequência de frutos formados entre as diferentes polinizações controladas. As médias de peso de frutos e sementes, assim como de número de sementes dos diferentes tratamentos reprodutivos, foram comparadas por ANOVA 1 fator, com teste de Tuckey ou Fischer LSD *a posteriori*.

Para determinar o padrão de produção de néctar, foram comparados por ANOVAs 1 fator o volume, concentração e mg de açúcares obtidos na primeira remoção de cada grupo de flores. Para verificar o efeito de repetidas remoções sobre a produção total de néctar, também foi realizada uma ANOVA 1 fator, em que se comparou o volume e massa de açúcares totais produzidos pelas flores submetidas desde uma até oito remoções.

Para todas as regressões, testes *t* e ANOVAs foram verificados os pressupostos de normalidade dos dados (teste de Kolmogorov-Smirnov) e homogeneidade de variâncias (teste de Levene). Quando as variáveis não atendiam a alguns desses pré-

requisitos os dados foram transformados na sua raiz quadrada (Zar, 1996). Para todos os testes estatísticos o α adotado foi de 5%. As análises foram realizadas no programa computacional Statistica 8.0.

3. RESULTADOS

3.1. Fenologia reprodutiva

O número máximo de flores produzidas ocorreu em 2008, na população PG (9931 flores). A floração de *A. pernambucense* ocorreu de maio a outubro nas duas populações, durando ca. de $20 \pm 1,63$ semanas (2008-2010) (figura 1 A). Na população PG, em 2008, houve o maior pico de floração com 1516 flores e na população LB o pico de floração em 2010 apresentou 1230 flores. As populações atingiram o pico após $8,75 \pm 1,71$ (média \pm desvio padrão) semanas do seu início. O número de indivíduos férteis por ano variou entre 22 e 41 (população PG). A população LB apresentou maior número de indivíduos férteis, 67. A média de flores produzidas por indivíduo em cada floração foi $239,47 \pm 134,26$, podendo haver, no entanto, ampla variação entre os indivíduos. Esta variação pareceu ser influenciada pelo tamanho dos indivíduos, onde os maiores produziram até 2024 flores e os menores chegaram a apresentar apenas uma flor por ano. O tempo médio de floração, por indivíduo, foi $9,47 \pm 1,18$ semanas e o máximo de flores contadas para um indivíduo em um dia de censo foi 283, na população PG em 2008 (tabela 1). Tanto a sincronia de floração intra quanto interpopulacionais, calculadas pelo índice de Augspurger (1983) para ambas as populações, foram superiores a 0,7. Por outro lado, o mesmo não aconteceu com a sincronia da intensidade de floração dos indivíduos, calculada pelo índice de Freitas & Bolmgren (2008), na qual os valores calculados foram próximos ou inferiores a 0,1 (tabela 1).

O melhor modelo encontrado pela regressão *stepwise* ($F_{3,51}=37,457$; R^2 ajustado=0,669; $p<0,0001$) para explicar a quantidade de flores produzidas incluiu três variáveis explicativas, sendo as duas primeiras significativas e a terceira não (figura 2 A). A primeira foi Δ ocaso ($p<0,0001$), a segunda durdia ($p=0,026$) e a terceira foi radsol ($p=0,17$) (figura 1 B e C). Já para explicar a quantidade de indivíduos em flor, o

melhor modelo escolhido ($F_{2,52}=33,99$; R^2 ajustado=0,57; $p<0,0001$; figura 2 B) incluiu apenas duas variáveis, Δ ocaso e radsol, sendo a primeira significativa ($p<0,0001$) e a segunda não ($p=0,14$) (figura 1 B e C). Em nenhum dos dois modelos a variável precipitação foi incluída. Apesar disso, as florações sempre iniciaram durante a estação chuvosa (figura 1 B) e se estenderam até o início da estação seca (indicada pelas setas da figura 1). Durante os três anos de acompanhamento, o pico da floração ocorreu quase que precisamente quatro meses após o equinócio de outono. O intervalo entre esses dois eventos é marcado pela grande variação do horário de ocaso, o qual possui maior variação do que a duração do dia (figura 1 B e C; tabela 1). O mesmo foi observado para a população LB. A maior antecipação registrada do pico da floração foi de cinco dias e o maior atraso foi de oito dias, assumindo que o pico deveria ocorrer quatro meses após o equinócio de outono (fonte: Observatório Real de Greenwich <http://www.nmm.ac.uk/explore/astronomy-and-time/time-facts/equinoxes-and-solstices>) (tabela 1).

3.2. Morfologia e biologia floral

Ameroglossum pernambucense possui flores zigomorfas, nototribicas, inodoras, tubulosas, e predominantemente vermelhas com labelo inferior de cor amarela e voltado para trás (figura 3 A). O comprimento superior da corola é de $48,24 \pm 6,76$ mm, a entrada do tubo tem $15,64 \pm 1,83$ mm de largura e o comprimento desse tubo é de $35,78 \pm 4,92$ mm. Na entrada do tubo da corola há uma constrição, causada pela invaginação da parte inferior do tubo, e logo após isso há uma expansão do mesmo. As flores possuem quatros estames e um estigma, ambos exsertos, e um estaminódio reduzido com $2,53 \pm 1,12$ mm e aparentemente não funcional. O nectário está localizado na base do ovário súpero, sendo o néctar armazenado em uma câmara nectarífera na base da corola (figura 3 B). As flores se dispõem em cimeiras curtas axilares e são sustentadas por um pedicelo relativamente rígido que as mantêm inclinadas para cima ca. de 30° .

Em ambas as populações a antese ocorreu principalmente após o amanhecer ($\sim 5:00$ h), embora fossem observadas flores se abrindo ao longo de todo o dia. Na população PG a antese durou cerca de 60 h para a maioria das flores (81,82%; 9/11 flores) e na população LB a maioria das flores senesceu após ca. de 36 h da antese (66,66%; 14/21 flores). Todas as flores testadas mostraram-se receptivas já no início da

antese, sendo a maioria protogínica (PG: 90,9%; LB: 76%) por algumas horas até tornarem-se funcionalmente hermafroditas após a abertura das anteras. Nesse momento, uma pronunciada hercogamia podia ser notada, onde o estigma se projetava para fora do tubo floral e as anteras permaneciam no seu interior. Entretanto, ao longo da antese, as anteras eram projetadas para o exterior da corola, alcançando o estigma e facilitando a autopolinização espontânea. Entretanto, ao final da antese, as anteras da maioria das flores encontravam-se com pouco pólen. A viabilidade polínica foi alta e apenas $6,62 \pm 11,03\%$ dos grãos de pólen das flores da população PG foram considerados inviáveis.

3.3. Visitantes florais

Os únicos polinizadores observados foram beija-flores nas duas populações estudadas. Na população PG apenas duas espécies foram observadas em 2008 e 2009: *Amazilia fimbriata* (Gmelin, 1788) e *Phaethornis pretrei* (Lesson & Delattre, 1839) (figura 4 A, B). A primeira, mais frequente ($t = -6,01$; g.l. = 11; $p < 0,001$), apresentou comportamento territorialista, permanecendo empoleirada em galhos de árvores próximos à população, visitando as flores de *A. pernambucense* $12,67 \pm 6,34$ vezes/h. *Phaethornis pretrei* não era observado nas imediações da população PG nos intervalos das visitas e apresentou $3,41 \pm 2,06$ visitas/h às flores, sendo quase que invariavelmente perseguido por *A. fimbriata* a cada investida, o que reduzia o número de flores visitadas. Em 2010 outra espécie foi observada visitando as flores da população PG, *Eupetomena macroura* (Gmelin, 1788). Esse beija-flor também apresentou comportamento territorialista, perseguindo tanto *A. fimbriata* quanto *P. pretrei*. Apesar disso, *E. macroura* só foi observado nas imediações da população PG durante algumas semanas (2-3 semanas), após o que não foi mais visto, enquanto as duas outras espécies permaneceram visitando as flores dessa população.

Na população LB foram observadas duas espécies de beija-flores visitando as flores de *A. pernambucense*, *E. macroura* e *Amazilia versicolor* (Vieillot, 1818), não tendo esta última sido observada na população PG. Também não foi observado comportamento antagonístico entre essas espécies de beija-flores. Em ambas as populações o comportamento de todos os beija-flores indicou alta frequência de cruzamentos geitonogâmicos. Durante os trabalhos de campo, outras duas espécies, *Chlorostilbon lucidus* (d'Orbigny & Lafresnaye, 1838) e um Phaetorninae não

identificado foram observados na população LB visitando flores de outras espécies do afloramento.

Além dos beija-flores, foram observadas visitas de pequenos meliponíneos pilhando o pólen das anteras e sem contactar o estigma das flores. Também foram observadas duas visitas de um Lepidoptera pilhando néctar. Apesar do grande número de flores, conspicuidade e abundância de néctar (ver adiante), as flores de *A. pernambucense*, não foram observadas sendo visitadas por abelhas de grande porte como espécies de *Xylocopa* e *Eulaema nigrita* (Lepelletier, 1841), embora estas abelhas tenham sido frequentemente observadas visitando flores melitófilas de espécies simpátricas às duas populações estudadas. Nas duas ocasiões em que foram feitas observações ao anoitecer não foram observadas visitas, embora em uma delas tenham sido observadas repetidas visitas de um esfingídeo às flores de *Mitracarpus frigidus* (Willd. Ex. Roem. & Schult.) K. Schum. (Rubiaceae), próximas aos indivíduos de *A. pernambucense*.

3.4. Dinâmica de néctar

A concentração de açúcares no néctar ao longo da antese variou significativamente (g.l.=7; F=5,79; p=0,0002). Essa variação se deu pela menor concentração ($17,05 \pm 3,67\%$) ao início da antese (6:00h do primeiro dia; p<0,01), quando comparado aos demais horários, e ao final desse período (14:00h do terceiro dia, p<0,0001), cuja concentração foi maior. Entre as 14:00h do primeiro e às 6:00h do terceiro dia, a concentração pareceu se estabilizar ($21,94 \pm 1,55\%$), pois não houve diferenças significativas entre os horários compreendidos nesse intervalo (figura 5). Com relação ao padrão de secreção de néctar ao longo da antese, observou-se que tanto o volume, quanto a massa de açúcares tenderam a aumentar durante os dois primeiros dias, havendo, entretanto, uma interrupção da produção de néctar na primeira e segunda noites (figuras 5 e 6). Entretanto, apesar das diferenças significativas, ao longo da antese, do volume (g.l.=7; F=2,78; p=0,02) e da quantidade de açúcares nas flores (g.l.=7; F=3,08; p=0,01), estatisticamente esse padrão não ficou tão claro. O volume de néctar do início da antese (6:00h do primeiro dia) foi significativamente inferior à maioria dos demais horários, mas não variou em relação às 14:00h do primeiro dia (p=0,42) e às 6:00h do segundo (p=0,13). Portanto, uma vez que houve diferenças entre

os volumes das 6:00 e 22:00h do primeiro dia ($p=0,049$), mas não entre as 6:00h do primeiro e segundo dias, isso pode indicar que a produção de néctar é interrompida durante a primeira noite da antese, sendo, após isso retomada (figura 5). A massa de açúcares ao longo da antese, diferente do volume, só variou significativamente da quantidade inicial a partir das 14:00h do segundo dia ($p=0,001$). Embora a diferença na massa de açúcares entre as 14:00h do primeiro e segundo dias tenha sido claramente significativa ($p=0,009$), entre as 14:00h do primeiro dia e 22:00h do segundo dia essa diferença foi apenas marginalmente significativa ($p=0,059$), o que pode indicar a interrupção ou redução na produção de néctar também durante a segunda noite (figura 6).

A remoção do néctar não interrompeu sua produção, sendo a quantidade média de açúcares por retirada de néctar no grupo em que se realizou oito remoções sucessivas igual a $3,09 \pm 1,56$ mg. O volume total de néctar produzido pelas flores de *A. pernambucense* submetidas a diferentes quantidades de remoções variou de 69,25 a 107,8 μ l e a massa total de açúcares variou entre 16,9 e 24,8 mg. Entretanto, o número de remoções não interferiu significativamente no volume (g.l.=7; $F=0,85$; $p=0,55$) e quantidade de açúcares (g.l.=7; $F=0,59$; $p=0,076$) produzidos pelas flores (tabela 2).

3.5. Sistema reprodutivo

A quantidade de frutos formados não variou significativamente em função do tratamento reprodutivo (g.l.=5; $\chi^2=9,4$; $p=0,14$), revelando que *A. pernambucense* é uma espécie autocompatível e capaz de se autopolinizar espontaneamente (figura 7). Por outro lado, o peso dos frutos (g.l.=5; $F=3,07$; $p=0,011$) e o número de sementes formadas (g.l.=5; $F=3,41$; $p=0,006$) variaram significativamente entre os diferentes tratamentos reprodutivos. Essas diferenças foram causadas pelo menor peso dos frutos e quantidade de sementes formadas apenas por autogamia espontânea (figuras 8 e 9). Não foram detectadas diferenças significativas entre o peso das sementes formadas pelos diferentes tratamentos (g.l.=5; $F=2,02$; $p=0,008$) (figura 10).

4. DISCUSSÃO

4.1. Fenologia reprodutiva

A alta sincronia de indivíduos férteis observada em *A. pernambucense* ao longo de três anos e o grande número de flores com quantidades copiosas de néctar que um indivíduo pode portar, deve ter forte influência na atração dos polinizadores (Stiles, 1978) e no sucesso reprodutivo desta planta. Segundo diferentes autores (Stiles, 1978; Canela and Sazima, 2003), um padrão de floração regular e sincrônico indica a especialização a um determinado grupo de polinizadores, o que foi corroborado pela observação da polinização apenas por beija-flores. Além disso, o fato das populações de *A. pernambucense* terem tamanho reduzido deve torná-las mais suscetíveis à deriva genética (Loveless and Hamrick, 1984). Dessa maneira, quanto maior for a sincronia intra e interpopulacional menores são as chances de haver deriva. Por outro lado, a baixa sincronia da intensidade de floração dos indivíduos deve ser efeito da grande variação na capacidade de produção de flores em função do tamanho do indivíduo (Ollerton and Lack, 1998; Bustamante and Búrquez, 2008).

Diferente da vegetação arbustivo-arbórea dos *inselbergs* do Nordeste sul-americano (Gröger and Huber, 2007) e africanos (Biendinger *et al.*, 2000), *A. pernambucense* não floresceu durante a estação seca. Por outro lado, nos afloramentos de arenito da Chapada Diamantina (Nordeste do Brasil), Conceição *et al.* (2007) observaram correlação positiva entre a floração das plantas desses afloramentos e as chuvas de semanas anteriores, inclusive para espécies ornitófilas. Apesar da semelhança de resultados, o efeito da precipitação não foi incluído em nenhum dos dois modelos gerados pelas regressões *stepwise*. Diversos autores relataram, tanto para florestas tropicais úmidas, quanto secas, que fatores como radiação solar e controle fotoperiódico eram os principais indutores da floração das árvores dessas florestas (Rivera *et al.*, 2002; Borchert *et al.*, 2005; Yeang, 2007). Portanto, a regularidade das variações do horário de ocaso e duração do dia, assim como a evidente relação entre o equinócio de março e o pico de floração, podem explicar a maior influência desses fatores sobre a floração de *A. pernambucense*. Após o equinócio há uma acentuada variação do horário de ocaso, o qual varia de maneira mais acentuada que o comprimento do dia e que se estende até o solstício de junho. Isso deve, portanto, explicar por que a variável Δ ocaso

influenciou mais o número de flores do que durdia. Segundo Borchert *et al.* (2005), as variações no horário do pôr do sol em períodos próximos ao equinócio em latitudes entre 3 e 6° S são maiores que as variações dos horários de alvorada e comprimento do dia e, portanto, devem ser o principal fator a influenciar as florações em árvores ocorrendo nessas latitudes. Padrão semelhante foi encontrado para *A. pernambucense*, cujas populações ocorrem a ca. de 8° S. A ausência de efeito significativo da precipitação parece mostrar a forte influência fotoperiódica sobre a floração desta planta. Populações suscetíveis a efeitos de deriva genética, devido a um tamanho reduzido e ao isolamento espacial devem ser beneficiadas por uma floração sincrônica que aumente as chances de fluxo gênico (Augsburger, 1985). Dessa maneira, uma vez que as chuvas na Caatinga podem oscilar entre os anos (Reis, 1976), fatores mais estáveis como os fotoperiódicos devem ter maior força seletiva na regulação da floração. Além disso, espécies cujas populações podem ocorrer em ambientes microclimaticamente distintos – como é o caso da população PG, que ocorre em uma mata serrana mais úmida e a população LB em área de caatinga -, a regulação da floração por fatores microclimaticamente independentes deve aumentar as chances de fluxo polínico.

Por outro lado, se apenas a regulação fotoperiódica influenciasse a fenologia, seriam esperadas duas florações por ano, já que ocorrem dois equinócios, sendo este o padrão encontrado para muitas espécies arbóreas amazônicas onde há pouca sazonalidade (Borchert *et al.*, 2005). Entretanto, o segundo equinócio do ano na área estudada ocorre durante a estação seca, indicando que um segundo evento de floração no ano deve ser limitado pelos baixos níveis de precipitação. Estes resultados estão de acordo com o afirmado por Günter *et al.* (2008) de que vários fatores, ao invés de apenas um, regulam os padrões fenológicos de plantas.

4.2. Biologia floral de *Ameroglossum pernambucense* e especialização à ornitofilia

Os atributos florais de *A. pernambucense* como cor, forma e ausência de odor são típicos de espécies ornitófilas (*sensu* Faegri and Pijl, 1979). Entretanto, argumenta-se que a corola vermelha, longa, tubulosa e estreita, assim como a ausência de uma plataforma de pouso são características que dificultam mais a visita das flores pelas abelhas do que facilitam o acesso ao néctar pelos beija-flores (Grant and Grant, 1968;

Faegri and Pijl, 1979; Castellanos *et al.*, 2004). Embora ainda haja certa controvérsia quanto à eficiência desses atributos (ex. Lange *et al.*, 2000), não foram observadas visitas por abelhas de médio e grande porte às flores de *A. pernambucense*, nem como pilhadoras, ainda que estas estivessem ativas nos locais de estudo.

Néctar abundante com concentração de açúcares em torno dos 15 e 30%, como o observado em *A. pernambucense*, são também considerados adaptações à polinização por beija-flores (McDade and Weeks, 2004a), uma vez que abelhas preferem néctar com concentrações entre 30 e 50% (Pouvreau, 1974). Entretanto, várias espécies de Scrophulariaceae (*sensu lato*) entomófilas, principalmente polinizadas por abelhas, apresentam néctar com concentrações inferiores a 25% como *Pedicularis palustris* L. (8-19,5%; Macior, 1993), *Rhinanthus minor* L. (14-23%; Kwake *et al.*, 1985) e *Penstemon speciosus* Lindley (20-25%; Castellanos *et al.*, 2002). Apesar de concentrações semelhantes, o que diferencia o néctar dessas flores do néctar de *A. pernambucense* é o volume, o qual pode ser ca. de 80 vezes superior ao de uma flor de *R. minor* (0,25 µl por dia). Stiles & Freeman (1993) afirmaram que o volume, mais do que a concentração, devia ser o principal fator de escolha dos beija-flores. Portanto, uma vez que abelhas podem visitar flores com néctar em concentrações semelhantes às encontradas em *A. pernambucense*, a morfologia de suas flores deve ser a principal barreira impedir o acesso ao néctar pelas abelhas e as quantidades copiosas desse recurso devem ser determinantes para atrair os beija-flores.

Ao contrário da grande variação do volume de néctar encontrado em populações de 12 espécies ornitófilas neotropicais, McDade and Weeks (2004a) observaram a tendência de uma constância nas concentrações do néctar entre os indivíduos de cada espécie. A concentração entre essas espécies variou de 16 a 28%. Similarmente ao observado por estas autoras, o volume e a massa de açúcares encontrados em *A. pernambucense* variaram ao longo da antese e apresentaram alta variância, enquanto a concentração mostrou-se constante ao longo da maior parte da antese e com baixa variância. A constância da concentração do néctar nas flores de *A. pernambucense* indica que embora sua quantidade possa variar entre as flores e o horário de antese, a sua qualidade varia pouco, apesar das altas temperaturas dos afloramentos graníticos (Wyatt, 1997) poderem alterar a concentração devido à evaporação. Portanto, duas podem ser as explicações para a concentração pouco variável: (1) a profundidade do tubo da corola minimiza a evaporação (Corbet, 2002) ou (2) um mecanismo

homeostático é responsável pela regulação da concentração de açúcares nas flores (ex. Nepi and Stipczyńska, 2008). A manutenção de um “padrão de qualidade” do néctar pode ser um importante fator para atrair polinizadores específicos (Nepi and Stipczyńska, 2008) e, conseqüentemente, assegurar o sucesso reprodutivo da planta (Holtkamp *et al.*, 1992; Nepi *et al.*, 2003; Thomson and Plowright, 1980; Zimmerman, 1983). Por exemplo, *Medicago sativa* L. (Fabaceae) e *Linaria vulgaris* (L.) Mill. (Scrophulariaceae *sensu lato*) tiveram o número de sementes diretamente afetado pela quantidade e qualidade do néctar nas flores (Holtkamp *et al.*, 1992; Nepi *et al.*, 2003).

Além da quantidade e qualidade do néctar, seu padrão de produção e o número de flores que um indivíduo pode portar influenciam o padrão de forrageio dos beija-flores à planta e, conseqüentemente, a formação de frutos em espécies que se beneficiam por alogamia (Feinsinger, 1976; Kato and Sakai, 2008; Lara and Ornelas, 2008; Leiss and Klinkhamer, 2005; Macdade and Weeks, 2004ab). Segundo Feinsinger (1976), quanto maior o tempo de produção de néctar em quantidades compensáveis, maior a probabilidade de uma flor ser visitada. Entretanto, além das características do néctar e sua produção, o número de flores que um indivíduo pode suportar ao mesmo tempo, assim como a densidade das plantas, são determinantes na atração dos beija-flores e determinam suas estratégias de forrageio (Feinsinger, 1976; Feinsinger and Colwell, 1978; Freitas and Sazima, 2001; Garrison and Gass, 1999). Com relação ao número de flores oferecidas, Feinsinger (1976) observou que flores de uma espécie de *Cuphea* com pouco néctar e distribuídas espaçadamente eram evitadas por beija-flores territorialistas enquanto as flores de uma espécie de *Inga* também com pouco néctar, mas com grande número de flores por indivíduo eram exploradas por esses beija-flores. Freitas and Sazima (2001), por sua vez, sugeriram que o baixo número de visitas de beija-flores às flores ornitófilas de *Esterhazyia macrodonta* Cham. & Schldl. (Scrophulariaceae *sensu lato*) se devia ao reduzido número de flores nos indivíduos dessa planta (1-4) e a interrupção de sua produção após a remoção. Neste trabalho, a análise de néctar revelou uma produção contínua e crescente ao longo da antese, embora no período noturno as evidências sejam de interrupção na produção. Além da produção contínua, a remoção do néctar das flores não interrompeu sua produção, indicando que após ser visitada a flor persiste enquanto recurso. Levando em conta o número de flores que um indivíduo de *A. pernambucense* pode portar (até 283) e a quantidade média de açúcares nas flores submetidas a oito remoções ($3,09 \pm 1,56$ mg = $12,36 \pm 6,25$ cal, 1mg

de açúcar = 4 cal, Dafni 1992), uma planta pode oferecer ca. de 3,49 kcal. Tendo em vista que a exigência diária de calorias de um beija-flor está entre 6 e 10kcal (Carpenter, 1983), um único indivíduo de *A. pernambucense* pode suprir 1/2 a 1/3 da demanda energética de uma ave, o que explicaria o comportamento territorialista observado na população PG.

Portanto, a soma de diferentes fatores, tais como: morfologia restritiva das flores; produção contínua de um néctar volumoso e constante na qualidade, independente de remoção - somado ao grande número de flores que um indivíduo pode portar – devem ter importante influência sobre a exclusividade da polinização por beija-flores e ausência de limitação polínica evidenciada pelo alto sucesso reprodutivo natural das populações estudadas.

4.3. Ecologia reprodutiva de *A. pernambucense* e sua relação com as condições insulares dos afloramentos graníticos

Os dados obtidos com as polinizações controladas mostraram *A. pernambucense* como uma espécie completamente autocompatível, embora dependa de polinizadores para produzir frutos mais pesados e com maior número de sementes. Apesar disso, a ausência de diferenças significativas entre o número de sementes presentes nos frutos formados naturalmente (controle) e nos frutos das polinizações manuais (xenogamias e autogamia), em que pólen era depositado abundantemente no estigma, mostrou que as populações estudadas não estão sofrendo limitação polínica. Considerando que apenas beija-flores foram observados como polinizadores, concluiu-se que estes têm importante papel na manutenção das duas populações estudadas de *A. pernambucense*.

A presença de autocompatibilidade e a dependência de polinizadores para aumentar a produção de sementes, encontradas em *A. pernambucense*, caracterizam um sistema de reprodução mista (Goodwillie *et al.*, 2005). Essa estratégia reprodutiva é descrita na literatura para várias espécies de Scrophulariaceae de diferentes gêneros (Donnelly *et al.*, 1998; Lange *et al.*, 2000; Neel, 2002; Stewart *et al.*, 1996), sendo considerada uma maneira de assegurar a reprodução em ambientes onde a presença de polinizadores é incerta (Kalisz *et al.*, 2004; Goodwillie *et al.*, 2005). As plantas que possuem sistema reprodutivo misto podem ainda empregar diferentes estratégias para retardar a autopolinização, favorecendo assim a alogamia (Lloyd and Schoen, 1992). É

possível que a autopolinização espontânea ocorra em *A. pernambucense* ao final da antese, onde a hercogamia é reduzida. Entretanto, independente do mecanismo que governa este processo, o reduzido número de sementes formadas espontaneamente, indica que há baixa pressão seletiva sobre esse sistema de polinização e que a maioria dos frutos formados naturalmente são por geitonogamia ou xenogamia, mediadas por beija-flores.

Uma vez que a dispersão de *A. pernambucense* (observ. pess.) é barocórica e os afloramentos graníticos são ilhas terrestres, a colonização de novos afloramentos deve acontecer raramente e por um número reduzido de sementes. A dificuldade de colonização de novos afloramentos, e conseqüente isolamento das populações devido à matriz inóspita para as plantas exclusivas desses ambientes, já foi observada por Wyatt (1984) para *Arenaria uniflora* Muhl. (Caryophyllaceae) e por Parmentier *et al.* (2006), estudando a distribuição de espécies de Poaceae ocorrentes em *inselbergs*. Dessa maneira, um sistema autocompatível, como afirmou Baker (1955), permite a colonização de novas áreas mesmo na ausência de parceiros sexuais. Além disso, a ausência de diferenças significativas entre o sucesso reprodutivo dos tratamentos de autogamia e xenogamias intra e interpopulacionais sugerem que as populações analisadas não estão sofrendo depressão endogâmica, tampouco exogâmica, apesar das evidências de pouco fluxo gênico entre elas e da grande diferenciação genética relatadas na literatura para populações rupícolas (e.g. Barbará *et al.*, 2007, 2009; Durka *et al.*, 2004; Palma-Silva *et al.*, 2011; Wyatt, 1997)

Em contraste, uma vez que o tamanho das populações de *A. pernambucense* é limitado pela fronteira dos afloramentos em que ocorrem, suas populações, além de isoladas, tendem a ser pequenas e, por isso, mais suscetíveis à deriva genética (Loveless and Hamrick, 1984). Uma vez que a deriva pode ser acentuada pela endogamia (Willie and Määttänen, 2011), um sistema predominantemente endogâmico em *A. pernambucense* aumentaria a homogeneidade genética intrapopulacional, reduzindo assim o potencial adaptativo das mesmas. Portanto, o alto valor energético que apenas um ou poucos indivíduos dessa planta podem representar para um beija-flor, pode ser explicado pela ampla capacidade de forrageio desses polinizadores (ca. de 1km ou mais) quando os mesmos forrageiam em *trapline* (Feinsinger, 1976; Feinsinger and Colwell, 1978), o que possibilita o fluxo gênico entre indivíduos de afloramentos vizinhos. Kramer *et al.* (2011) verificaram que as populações espacialmente isoladas de

Penstemon rostriflorus Kellog – espécie polinizada por beija-flores – possuíam menor estruturação genética e maior fluxo gênico do que as populações igualmente isoladas das espécies melitófilas *P. deustus* Douglas ex Lindl. e *P. pachyphyllus* A. Gray ex Rydb. Embora o comportamento territorialista de beija-flores, como foi observado por *A. fimbriata* e *E. macroura* na população PG, possa reduzir a distância de dispersão do pólen, a defesa territorial deve aumentar a distância do fluxo polínico pelos outros beija-flores como *P. pretrei*, que após visitar algumas das flores do território eram afugentados e impelidos a procurar recurso em outro lugar. Portanto, um sistema de polinização especializado à ornitofilia deve aumentar o tamanho efetivo das populações (N_e), por aumentar as chances de cruzamentos entre indivíduos de afloramentos vizinhos, reduzindo as taxas de endogamia e os efeitos da deriva genética.

Concluiu-se que os modelos de regressão revelaram que as acentuadas variações no horário de ocaso que antecedem o equinócio de março foram o principal fator a explicar a floração de *A. pernambucense*. Entretanto, a ocorrência de apenas um evento de floração por ano, que ocorre durante a estação chuvosa, indicam a influência das chuvas sobre a floração, embora esta variável não tenha sido incluída nos modelos gerados. A regulação da floração por fotoperíodo deve ser uma estratégia chave para aumentar a sincronia fenológica e aumentar as chances de fluxo polínico entre subpopulações adjacentes. A alta capacidade de autogamia e o alto valor energético das flores de *A. pernambucense*, somados à ausência de limitação polínica, indicam que as populações, embora dependam de polinizadores para aumentar o sucesso reprodutivo, não estão sendo reprodutivamente afetadas. Entretanto, a possibilidade de autogamia - por autopolinização espontânea ou geitonogamia - e o tamanho limitado das subpopulações potencializam a perda de variabilidade genética por endogamia e deriva. Portanto, para que os possíveis efeitos deletérios causados pela deriva sejam minimizados, subpopulações próximas e que compreendam a área de forrageio de beija-flores devem ser conservadas de maneira a aumentar as possibilidades de cruzamentos e, conseqüentemente, a variabilidade genética.

5. AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem: aos Msc. Oswaldo Cruz-Neto e Msc. Marcelo Sobral Leite, pela ajuda nos trabalhos de campo; ao Dr. Weber Silva, pela identificação de beija-flores; à FACEPE pela, concessão de bolsa de mestrado; ao ITEP/LAMEPE, pela concessão dos dados meteorológicos utilizados nessa pesquisa.

6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Andrade-Lima D. (1960) Estudos fitogeográficos de Pernambuco. *Arquivo do Instituto de Pesquisas Agronômicas*, **5**, 305-341.
- Barbará T., Martinelli G., Fay M.F., Mayo S., Lexer, C. (2007) Population differentiation and species cohesion in two closely related plants adapted to Neotropical high-altitude “inselbergs”, *Alcantarea imperialis* and *Alcantarea geniculata* (Bromeliaceae). *Molecular Ecology*, **16**, 1981-1992.
- Bawa K.S. (1990) Plant-pollinator interactions in tropical Rain Forests. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **21**, 399-422.
- Becker T., Voss N., Durka W. (2011) Pollen limitation and inbreeding depression in an ‘old rare’ bumblebee-pollinated grassland herb. *Plant Biology*, **13**, 857-864.
- Bernardello G., Aguilar R., Anderson G.J. (2004) The reproductive biology of *Sophora fernandeziana* (Leguminosae), a vulnerable endemic species from Isla Robinson Crusoe. *American Journal of Botany*, **91**, 198-206.
- Cruzan M.B. (2001). Population size and fragmentation thresholds for the maintenance of genetic diversity in the herbaceous endemic *Scutellaria montana* (Lamiaceae). *Evolution*, **55**, 1569-1580.
- Ellstrand N.C., Elam D.R. (1993) Population genetic consequences of small population size: implications for plant conservation. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **24**, 217-242.
- Fischer E., Vogel S., Lopes A.V. (1999) *Ameroglossum*, a new monotypic genus of Scrophulariaceae-Scrophularioideae from Brazil. *Feddes Repertorium*, **110**, 529-234.
- Freitas L., Sazima M. (2001) Nectar features in *Estherazyia macrodonta*, a hummingbird-pollinated in Scrophulariaceae in Southeastern Brazil. *Journal of Plant Research*, **114**, 187-191.

- Fundação Biodiversitas (2005) Lista da flora brasileira ameaçada de extinção segundo avaliação no Workshop da Fundação Biodiversitas 2005.
- Fundação Biodiversitas (2009) Nota de esclarecimento da Fundação Biodiversitas em Resposta ao senhor Ministro de Estado de Meio Ambiente Carlos Minc sobre a Lista Brasileira da Flora Ameaçada de Extinção.
http://www.biodiversitas.org.br/noticias/nota_carlosminc.asp
- Giulietti A.M., Bocage-Neta A.L., Castro A.A.J.F., Gamarra-Rojas C.F.L., Sampaio E.V.S.B., Virgínio J.F., Queiroz L.P., Figueiredo M.A., Rodal M.J.N., Barbosa M.R.V., Harley R.M. (2004) Diagnóstico da vegetação nativa do bioma Caatinga. In: Silva J.M.C., Tabarelli M., Fonseca M.T., Lins L.V. (Eds), *Biodiversidade da Caatinga: áreas e ações prioritárias para a conservação*, MMA, UFPE, Conservation International do Brasil, Fundação Biodiversitas, Embrapa Semi-Árido: 45-131.
- Kameyama Y, Kudo G. (2009) Flowering phenology influences seed production and outcrossing rate in populations of an alpine snowbed shrub, *Phyllodoce aleutica*: effects of pollinators and self-incompatibility. *Annals of Botany*, **103**, 1385-1394.
- Kearns C.A., Inouye D.W., Waser N.M. (1998) Endangered mutualisms: the conservation of plant/pollinator interactions. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics*, **28**, 83-112.
- Klank C., Pluess A.R., Ghazoul J. (2010) Effects of population size on plant reproduction and pollinator abundance in a specialized pollination system. *Journal of Ecology*, **98**, 1389-1397.
- Kruckeberg A.R., Rabinowitz D. (1985) Biological aspects of endemism in higher plants. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **16**, 447-479.
- Liao W., Reed D.H. (2009) Inbreeding-environment interactions increase extinction risk. *Animal Conservation*, **12**, 54-61.
- Meirelles S.T., Pivello V.R., Joly C.A. (1999) The vegetation of granite rock outcrops in Rio de Janeiro, Brazil, and the need for its protection. *Environmental conservation*, **26**, 10-20.
- Meredith D.J., Ayers T.J., Allan G.J. (2011) Pollinator-mediated gene flow fosters genetic variability in a narrow alpine endemic, *Abronia alpina* (Nyctaginaceae). *American Journal of Botany*, **98**, 1583-1594.

- Michael D.R., Lindenmayer D.B., Cunningham R.B. (2010) Managing rock outcrops to improve biodiversity conservation in Australian agricultural landscapes. *Ecological Management & Restoration*, **11**, 43-50.
- Mittermeier R.A., Mittermeier C.G., Brooks T. M., Pilgrim J.D., Konstant W. R., Fonseca G.A.B., Kormos C. 2003. Wilderness and biodiversity conservation. *PNAS* (100): 10309-10313.
- MMA – MINISTÉRIO DO MEIO AMBIENTE. (2008) *Anexo II. Lista das espécies da flora brasileira com deficiência de dados*. Lista do Ministério do Meio Ambiente, Brasília: 55 pp.
- Myers N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Fonseca, G.A.B., Kent, J. 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature*, **403**, 853-858.
- Palma-Silva C., Wendt T., Pinheiro F., Barbará T., Fay M.F., Cozzolino S., Lexer. C. (2011). Sympatric bromeliad species (*Pitcairnia* spp.) facilitate tests of mechanisms involved in species cohesion and reproductive isolation in Neotropical inselbergs. *Molecular Ecology*, **20**, 3185-3201.
- Parmentier I., Oumorou M., Pauwels L., Lejoly J. (2006) Comparison of the Ecology and distribution of the Poaceae flora on inselbergs embedded in savannah (Benin) and in rain forest (western central Africa). *Belgian Journal of Botany*, **139**, 65-77.
- Porto P.A.F., Almeida A., Pessoa W.J., Trovão D., Felix L.P. (2008) Composição florística de um inselbergue no agreste paraibano, município de Esperança, Nordeste do Brasil. *Caatinga*, **21**, 214-223.
- Philipp M., Nielsen L.R. (2010) Reproductive ecology of *Scalesia cordata* (Asteraceae), an endangered species from the Galápagos Islands. *Botanical Journal of the Linnean Society*, **162**, 496-503.
- Pitrez S.R. (2006) *Florística, fitossociologia e citogenética de angiospermas ocorrentes em inselbergues*. Thesis (Doctorate in Agronomy), Universidade Federal da Paraíba, Areia.
- Porembski S. (2007a) Tropical inselbergs: habitats types, adaptive strategies and diversity patterns. *Revista Brasileira de Botânica*, **30**, 579-586.
- Porembski S. (2007b) Effects of anthropogenic disturbance on the vegetation of granitic and gneissic rock outcrops ('inselbergs') in West Africa. *Nova Hedwigia*, **131**, 237-246.

- Porembski S., Seine R., Barthott W. (1997) *Inselberg* vegetation and the biodiversity of granite outcrops. *Journal of the Royal Society of Western Australia*, **80**, 193-199.
- Souza V.C., Giuliatti A.M. (2009) Levantamento das espécies de Scrophulariaceae *sensu lato* nativas do Brasil. *Botânica*, **60**, 7-288.
- Souza V.C., Lorenzi H. *Botânica sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG II*, Instituto Plantarum de Estudos da Flora ltd, São Paulo: 603 pp.
- Stiles, F. G. & Freeman, C. E. (1993) Patterns in floral nectar characteristics of somebird-visited plant species from Costa Rica. *Biotropica* **25**, 191-205.
- Stevens P.F. (2001) onwards. Angiosperm phylogeny website. Version 9, June 2008 (and more or less continuously updated since), <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>.
- Sun H.Q., Alexandersson, R., GE S. (2010) Positive effects of flower abundance and synchronous flowering on pollination success, and pollinia dispersal in rewardless *Changnienia amoena* (Orchidaceae). *Biological Journal of the Linnean Society*, **99**, 477-488.
- Torres E., Iriondo J.M., Pérez, C. (2002) Vulnerability and determinants of the narrow endemic *Anthirrinum microphyllum* (Scrophulariaceae). *American Journal of Botany*, **89**, 1171-1179.
- Zhang Z.-Q., Kress W.J., Xie W.-J., Ren P.-Y., Gao J.-Y., Li Q.J. (2011) Reproductive biology of two Himalayan alpine gingers (*Roscoea* spp., Zingiberaceae) in China: pollination syndrome and compensatory floral mechanisms. *Plant Biology*, **13**, 582-589.

6. FIGURAS E TABELAS

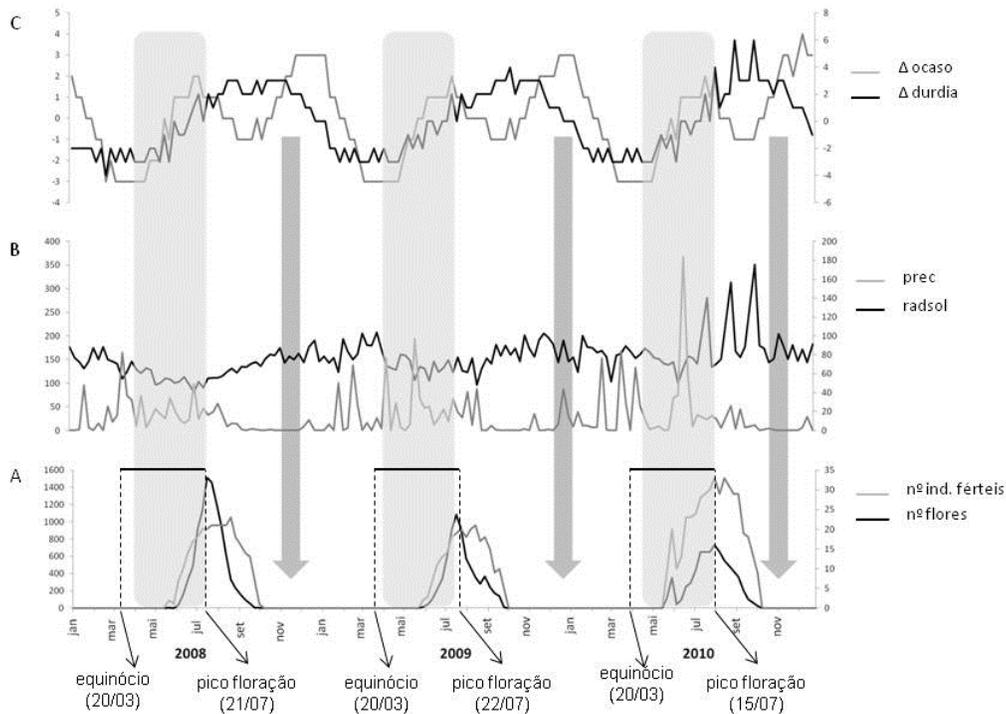


Figura 1. (A) Padrão de produção de flores e número de indivíduos floridos em uma população de *Ameroglossum pernambucense*, localizada na Pedra do Guariba (município de Agrestina, PE, Brasil), e de quatro variáveis ambientais, em intervalos de 7 a 10 dias, entre os anos de 2008 e 2010. As variáveis ambientais apresentadas são: (B) radiação solar acumulada (radsol) e precipitação (*prec*); (C) variação do comprimento do dia (Δ *durdia*) e do horário de ocaso (Δ *ocaso*). Para explicar o número de flores produzidas, o melhor modelo encontrado por regressão *stepwise* ($F_{3;51}=37,46,75$; R^2 ajustado=0,69; $p<0,0001$) incluiu as variáveis Δ *ocaso* ($p<0,0001$), *durdia* ($p=0,002$) e *prec* ($p=0,17$). O melhor modelo para explicar o número de indivíduos em flor ($F_{2;52}=33,99$; R^2 ajustado=0,57; $p<0,0001$), por outro lado, incluiu apenas as variáveis Δ *ocaso* ($p<0,0001$) e radsol ($p=0,14$). Notar (faixas verticais) a relação entre a variação acentuada do horário de ocaso, após o equinócio de março e o padrão de floração da população, assim como a ocorrência do pico da floração sempre quatro meses após o equinócio de março. Setas indicam a estação seca. Para atender aos pressupostos da regressão linear múltipla, as variáveis resposta (número de flores e indivíduos floridos) foram transformados por raiz quadrada.

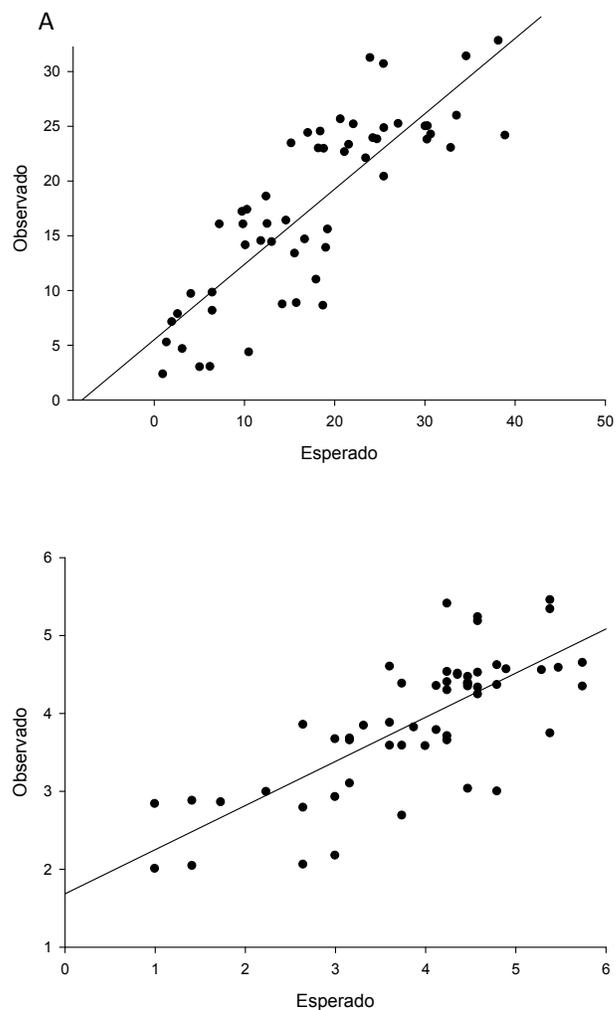


Figura 2. Valores observados *versus* valores esperados para os melhores modelos encontrados por duas regressões lineares múltiplas *stepwise* para explicar a quantidade de flores produzidas ($F_{3;51}=37,46,75$; R^2 ajustado=0,69; $p<0,0001$; A) e o número de indivíduos em flor ($F_{2;52}=33,99$; R^2 ajustado=0,57; $p<0,0001$; B) ao longo das florações de uma população de *Ameroglossum pernambucense* no *inselberg* Pedra do Guariba entre os anos de 2008 e 2010. As variáveis explicativas utilizadas nos modelos foram: radiação solar acumulada (*radsol*), precipitação (*prec*), variação do comprimento do dia (Δ *durdia*) e do horário de ocaso (Δ *ocaso*). As observações ocorreram em intervalos de 7 a 10 dias e os valores das variáveis respostas foram transformados por raiz quadrada para atender aos pressupostos de regressões lineares múltiplas.

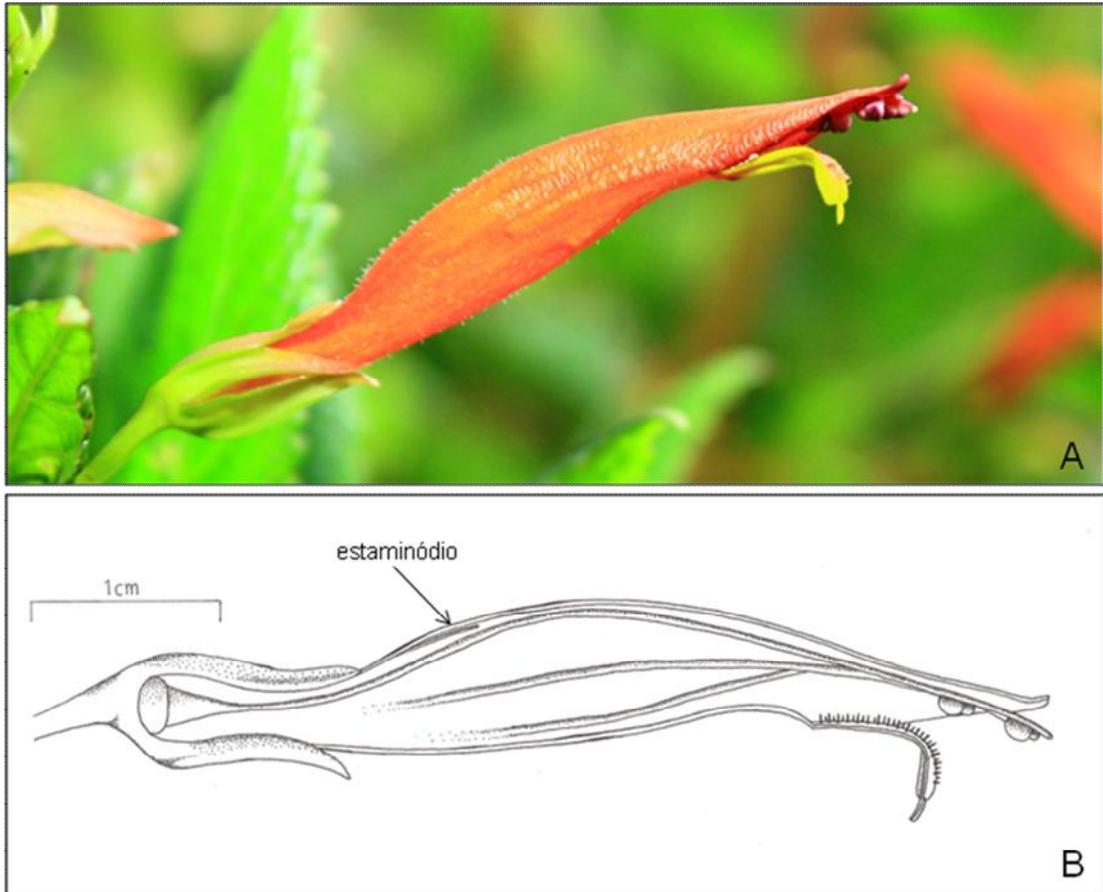


Figura 3. (A) Flor ornitófila de *Ameroglossum pernambucense*; (B) desenho esquemático em corte longitudinal da flor.



Figura 4. Beija-flores polinizando *Ameroglossum pernambucense* na população Pedra do Guariba, Nordeste do Brasil. (A) *Amazilia fimbriata* (Gmelin, 1788), principal polinizador e (B) *Phaethornis pretrei* (Lesson & Delattre, 1839). Notar contato da cabeça (A) e bico (B) dos beija-flores com as estruturas reprodutivas.

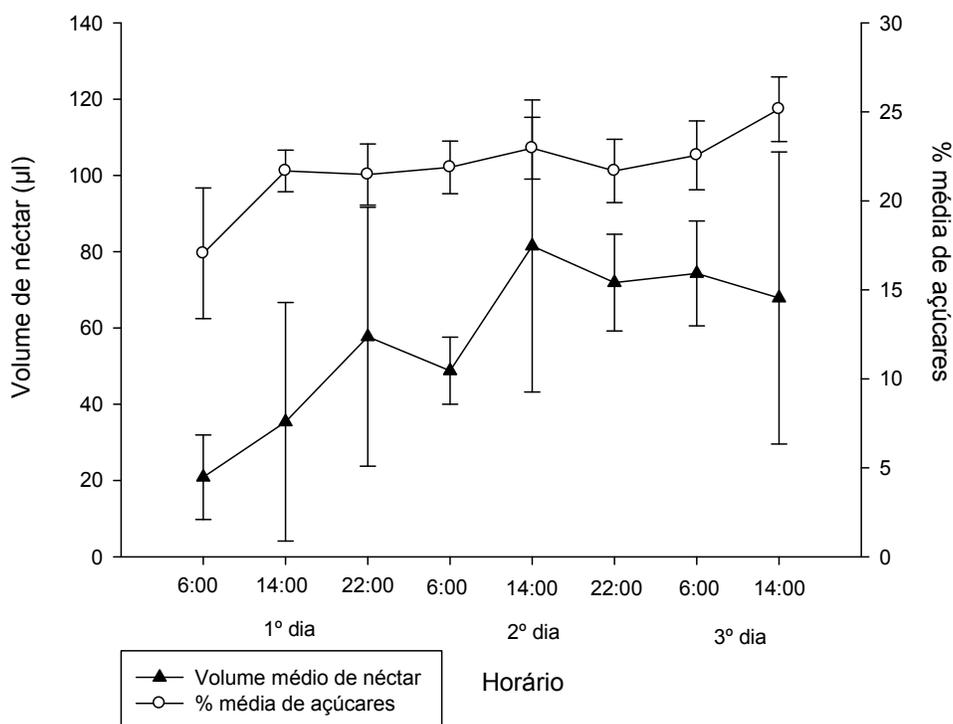


Figura 5. Padrão de produção de néctar (concentração e volume) de *Ameroglossum pernambucense* da população do *inselberg* Lajedo do Boi, Nordeste do Brasil. A concentração de néctar variou de maneira significativa ao longo da antese (g.l.=7; $F=5,79$, $p=0,0002$), sendo mais baixa no início (6h do primeiro dia), mais alta ao final (14h do terceiro dia) e estável no intervalo compreendido entre esses dois momentos da antese. A variação do volume de néctar revelou uma tendência de produção de néctar durante os dois primeiros dias da antese com interrupções noturnas dessa produção. Entretanto, apesar do volume ter variado significativamente ao longo da antese (g.l.=7; $F=2,78$; $p=0,02$), estatisticamente a produção de néctar até o segundo dia só pôde ser evidenciada pelas diferenças significativas entre o volume do início da antese e das 14h do segundo dia ($p=0,001$). A interrupção noturna dessa produção, por sua vez, só foi evidenciada para a primeira noite, onde houve diferenças significativas entre o volume das 6 e 22h do primeiro dia ($p=0,049$), mas não entre o volume das 6h do primeiro e segundo dias ($p=0,13$). As barras de erro representam o desvio padrão das médias.

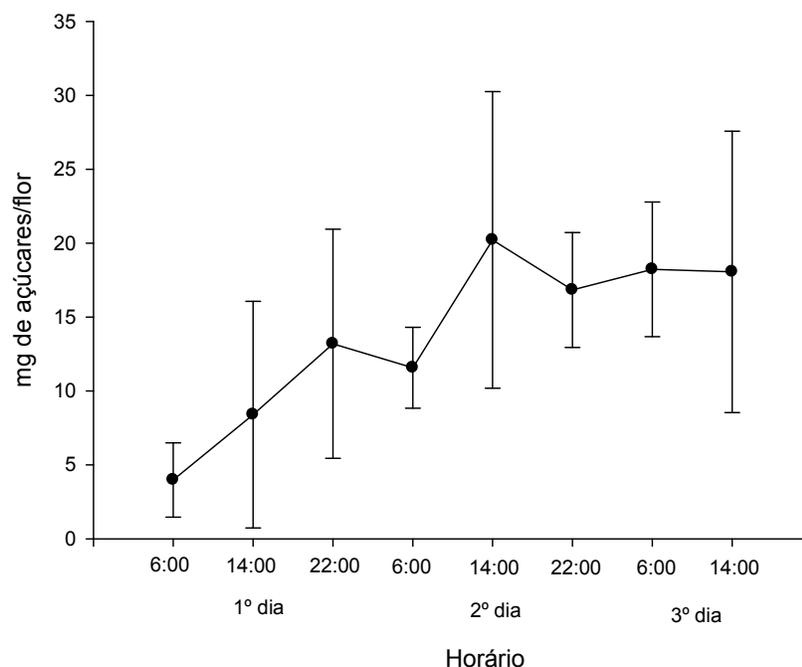


Figura 6. Padrão de secreção de néctar em mg de açúcares/flor ao longo da antese, na população do *inselberg* Lajedo do Boi, Nordeste do Brasil. Observa-se uma tendência de aumento na produção de néctar durante os dois primeiros dias da antese, havendo interrupção dessa produção durante as duas noites. Entretanto, apesar da detecção de diferenças significativas (g.l.=7; F=3,08; p=0,01), a quantidade de néctar secretada no início da antese só diferiu estatisticamente dos horários posteriores às 6h do segundo dia (p=0,001), Embora também tenha havido diferenças significativas entre as 14h do primeiro dia e 6h do terceiro (p=0,009), a quantidade de néctar não variou das 14 às 22h do segundo dia (p=0,06), o que pode indicar uma interrupção da produção de néctar também na segunda noite. As barras de erro representam o desvio padrão das médias.

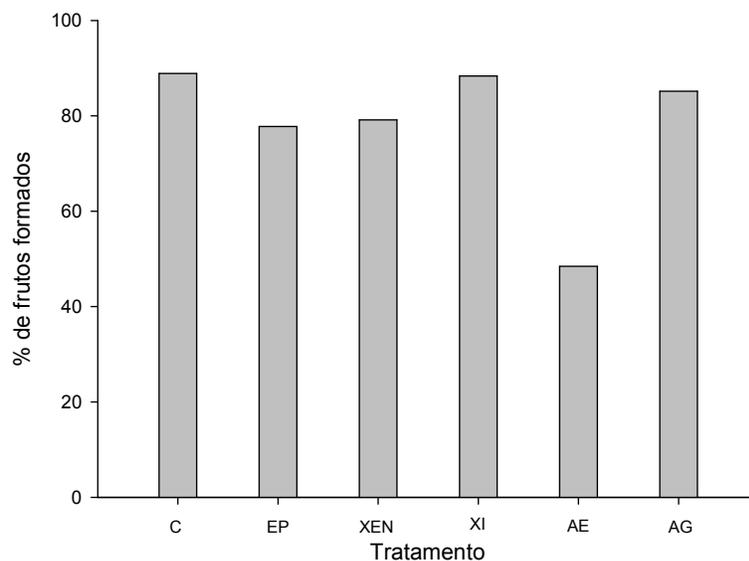


Figura 7. Proporção de frutos formados (%) entre os diferentes tratamentos reprodutivos realizados nos indivíduos de *Ameroglossum pernambucense* das populações Pedra do Guariba e Lajedo do Boi, localizadas no Nordeste do Brasil. A ausência de diferenças significativas entre a quantidade de frutos formados nos diferentes tratamentos (g.l.=5; $\chi^2=9,4$; $p=0,14$) revelou que *A. pernambucense* é uma espécie autocompatível e com capacidade de formar frutos espontaneamente. C=controle; EP=eficiência de polinizador; X=xenogamia intra-populacional; XI=xenogamia inter-populacional; AE= autopolinização espontânea; AG=autogamia; GEIT=geitonogamia.

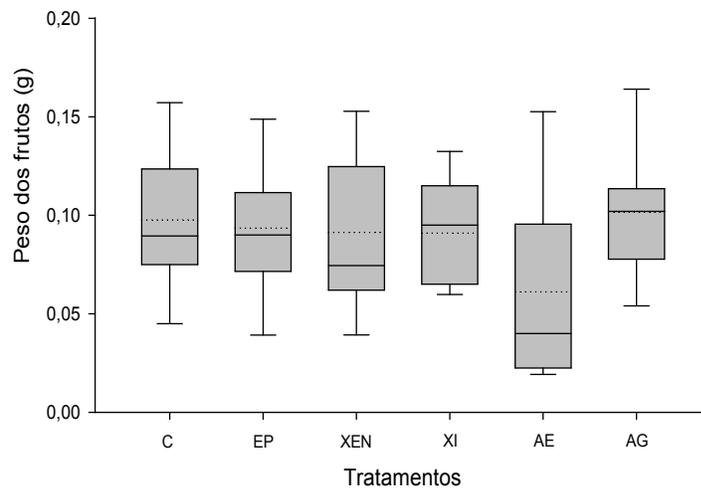


Figura 8. Peso dos frutos maduros coletados após diferentes experimentos de polinizações controladas realizados em indivíduos de *Ameroglossum pernambucense* nas populações dos *inselbergs* Pedra do Guariba e Lajedo do Boi, localizadas no Nordeste do Brasil. O peso dos frutos de autogamia espontânea foi significativamente inferior ($g.l.=5$; $F=3,07$; $p=0,01$) ao dos frutos dos demais tratamentos, os quais não variaram significativamente entre si. C=controle; EP=eficiência de polinizador; X=xenogamia intra-populacional; XI= xenogamia inter-populacional; AE= autogamia espontânea; AG=autogamia. A linha tracejada no interior das caixas representa as médias e as linhas contínuas as medianas. A margem inferior das caixas representam o 25° percentil, as superiores o 75° e as barras de erro inferiores e superiores o 10° e 90° percentil, respectivamente.

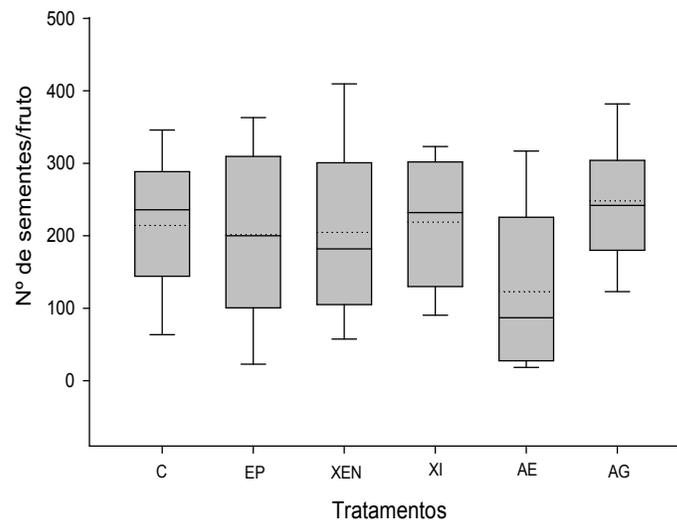


Figura 9. Número de sementes formadas por fruto após diferentes experimentos de polinizações controladas realizados em indivíduos de *Ameroglossum pernambucense* nas populações dos *inselbergs* Pedra do Guariba e Lajedo do Boi, localizadas no Nordeste do Brasil. O número de sementes formadas por autogamia espontânea foi significativamente inferior ao dos demais tratamentos (g.l.=5; $F=3,07$; $p=0,01$), que, por sua vez não diferiram entre si significativamente entre si. C=controle; EP=eficiência de polinizador; X=xenogamia intra-populacional; XI= xenogamia inter-populacional; AE= autogamia espontânea; AG=autogamia. A linha tracejada no interior das caixas representa as médias e as linhas contínuas as medianas. A margem inferior das caixas representam o 25° percentil, as superiores o 75° e as barras de erro inferiores e superiores o 10° e 90° percentil, respectivamente.

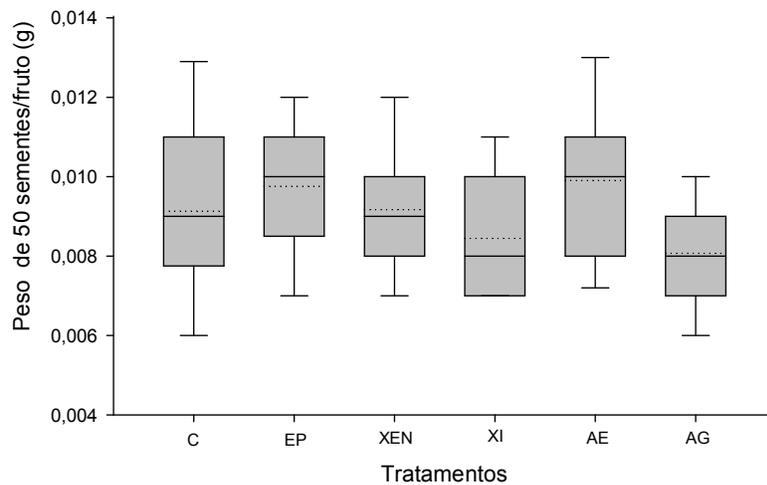


Figura 10. Peso das sementes formadas após diferentes experimentos de polinizações controladas realizados em indivíduos de *Ameroglossum pernambucense* nas populações dos *inselbergs* da Pedra do Guariba e Lajedo do Boi, localizadas no Nordeste do Brasil. Não foram encontradas diferenças significativas entre a raiz quadrada do peso das sementes produzidas pelos diferentes tipos de polinização (g.l.=5; $F=2,02$; $p=0,08$) C=controle; EP=eficiência de polinizador; X=xenogamia intra-populacional; XI=xenogamia inter-populacional; AE= autogamia espontânea; AG=autogamia. A linha tracejada no interior das caixas representa as médias e as linhas contínuas as medianas. A margem inferior das caixas representam o 25° percentil, as superiores o 75° e as barras de erro inferiores e superiores o 10° e 90° percentil, respectivamente.

Tabela 1. Sincronia de floração - S_i , índice de Freitas & Bolmgren (2008) e Z , índice de Augspurger (1983) – e comparação entre as datas dos picos de floração das populações de *Ameroglossum pernambucense* da Pedra do Guariba (PG) e do Lajedo do Boi com os dias dos equinócios de março (equi) entre os anos de 2008 e 2010. Notar que os picos ocorreram muito próximos a um intervalo preciso de quatro meses após os (fonte: Observatório Real de Greenwich).

	2008	2009	2010		
	PG	PG	PG	LB	PG + LB
Z	0,833	0,862	0,755	0,865	0,044
S_i	0,102	0,104	0,061	0,048	0,825
Dia pico	21/07	22/07	15/07	28/07	-
Dia equi	20/03	20/03	20/03	20/03	-

Tabela 2. Médias e desvios-padrão (entre parênteses) do volume (vol.), percentual de concentração (conc.) e miligramas (mg) de açúcares no néctar de flores de *Ameroglossum pernambucense* que sofreram entre uma e oito remoções de néctar ao longo da antese. Não foram detectadas diferenças significativas nem no volume (g.l.=7; F=0,85; p=0,55), nem na massa de açúcares (g.l.=7; F=0,59; p=0,0,76) totais das flores submetidas a diferentes quantidades de remoções de néctar. A ausência de desvios-padrão no último horário de remoção do primeiro grupo se deveu à persistência de apenas uma flor até este horário de retirada. A ausência de dados, no grupo 3 a partir das 6h do 3º dia também se deveu à senescência natural das flores desse grupo antes dos últimos horários de remoção. As análises ocorreram na população do afloramento granítico Lajedo do Boi, município de Agrestina, Pernambuco – Brasil.

Set	1º dia									2º dia						3º day						Total		Nº rem.										
	6:00			14:00			22:00			6:00			14:00			22:00			6:00			14:00			vol.	mg								
	vol.	conc.	mg	vol.	conc.	mg	vol.	conc.	mg	vol.	conc.	mg	vol.	conc.	mg	vol.	conc.	mg	vol.	conc.	mg	vol.	conc.	mg	vol.	conc.	mg	vol.	mg					
1 (N=5)	20.87 (11.01)	17.05 (3.67)	3.98 (2.51)	23 (5.93)	21.42 (0.77)	5.29 (1.35)	20.0 (10.48)	21.58 (0.66)	4.63 (2.48)	12.7 (7.79)	21.6 (1.57)	2.98 (1.96)	14.6 (8.21)	20.92 (1.69)	3.33 (1.89)	4.3 (8.26)	18.33 (2.71)	1.47 (2.19)	7.67 (6.65)	19.4 (0.84)	2.37 (0.03)	1.0 (1.73)	21.0 (-)	0.67 (-)	96.5 (39.96)	21.39 (8.97)	8							
2 (N=5)				35.4 (31.28)	21.68 (1.17)	8.39 (7.67)	25.2 (8.2)	20.26 (2.64)	5.55 (2.14)	15.4 (5.69)	20.5 (1.96)	3.37 (1.26)	17.3 (9.16)	20.8 (2.47)	3.93 (2.16)	8.5 (6.73)	19.3 (1.01)	2.13 (1.01)	4.37 (5.37)	18.6 (1.98)	1.76 (0.83)	3.12 (4.05)	18.9 (0.42)	1.26 (0.67)	107.8 (43.98)	24.16 (10.89)	7							
3 (N=4)							57.7 (33.94)	21.48 (1.72)	13.21 (7.75)	6.2 (5.13)	18.9 (1.64)	1.61 (1.08)	9.9 (9.32)	20.35 (2.17)	2.8 (2.03)	3.75 (5.95)	18.6 (4.81)	0.84 (1.42)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	69.25 (36.51)	16.19 (8.96)	6				
4 (N=5)										48.8 (8.8)	21.88 (1.47)	11.57 (2.73)	12.9 (5.56)	21.16 (2.28)	3.03 (1.57)	8.2 (8.73)	20.27 (2.64)	3.06 (1.8)	4.4 (6.9)	17.4 (2.42)	1.27 (1.29)	3 (4.24)	16.1 (5.8)	1.15 (1.11)	76.7 (17.42)	17.66 (3.71)	5							
5 (N=5)													81.5 (38.29)	22.96 (1.73)	20.22 (10.03)	6.3 (4.99)	21.04 (2.22)	1.4 (1.1)	8.0 (7.87)	20.45 (2.23)	2.29 (1.85)	3.6 (4.98)	21.4 (1.41)	2.1 (0.47)	99.4 (35.19)	24.28 (9.47)	4							
6 (N=5)															71.9 (12.68)	21.68 (1.78)	16.84 (3.89)	5.9 (4.22)	16.1 (5.49)	1.3 (0.82)	5.8 (8.69)	17.2 (6.22)	2.89 (2.31)	83.6 (23.67)	19.03 (6.25)	3								
7 (N=5)																			74.3 (13.75)	22.56 (1.94)	18.23 (4.55)	8.4 (7.3)	21.2 (1.8)	2.37 (1.4)	82.7 (19.27)	20.13 (5.66)	2							
8 (N=4)																													67.87 (44.2)	25.15 (2.1)	18.06 (10.99)	67.87 (44.2)	18.06 (10.99)	1

RESUMO

A fragmentação limita o tamanho populacional e aumenta os riscos de extinção por perdas genéticas. Afloramentos graníticos são ilhas terrestres cujas populações tendem a serem pequenas, isoladas e sofrerem pressões antrópicas. *Ameroglossum pernambucense* é um arbusto ornitófilo, exclusivo dos afloramentos graníticos do Nordeste brasileiro e vulnerável à extinção. Os objetivos deste trabalho foram avaliar em duas populações: os fatores que determinam a floração desta planta; as características do néctar e sua produção; o sistema reprodutivo e sua dependência por polinizadores; e verificar se havia limitação reprodutiva nessas populações. A variação do horário de ocaso foi o principal fator a explicar a floração de *A. pernambucense*, havendo alta sincronia de indivíduos férteis, mas baixa sincronia na sua intensidade. As flores são ornitófilas e beija-flores foram os únicos polinizadores observados. Néctar foi abundantemente produzido ao longo da antese e sucessivas remoções não interrompem sua produção. O sistema reprodutivo mostrou-se autocompatível, embora dependa de polinizadores para produção de mais sementes. Não se verificou limitação polínica nas populações estudadas. Os aspectos reprodutivos analisados mostraram uma alta adaptação de *A. pernambucense* às condições insulares dos afloramentos graníticos. A regulação fenológica por fotoperíodo deve aumentar a sincronia de floração entre os afloramentos. A autocompatibilidade, alto valor energético das flores e exclusiva polinização por beija-flores devem explicar o sucesso reprodutivo natural das populações estudadas e aumentar as chances de cruzamentos entre indivíduos distantes. Portanto, para diminuir as chances de extinções locais por perdas genéticas, planos de manejo devem levar em conta a conservação de subpopulações próximas.

Palavras-chave: *inselbergs*; fragmentação; conservação; fenologia; ornitofilia; dinâmica de néctar; plantas rupícolas.

ABSTRACT

Habitat fragmentation limits population size and increases extinction risks by genetic losses. Granitic outcrops are land islands which populations tend to be small, isolated and under anthropic pressures. *Ameroglossum pernambucense* is an ornithophilous shrub exclusive to Brazilian Northeastern granite outcrops, and classified as vulnerable to extinction. The goals of this research were to investigate in two populations: factors related to flowering of this shrub; its nectar traits and production pattern; the breeding system and pollinator dependence; and verify pollen limitation in the studied populations. Variation in sunset time was the main factor to explain *A. pernambucense* flowering pattern. High synchrony of fertile individuals was observed, although flowering intensity synchrony was low. Flowers are typically ornithophilous and hummingbirds were the sole observed pollinators. Nectar was abundantly produced during flower anthesis and successive removals didn't cease its production. Mating system was full self-compatible, however, pollinators were necessary to increase seed production. Pollen limitation wasn't detected. The reproductive traits analyzed in *A. pernambucense* were interpreted as highly adapted to the insular conditions of granitic outcrops. Phenological photoperiodic regulation may increase flowering synchrony between outcrops and the self-compatibility. High flower energetic value and exclusive pollination by hummingbirds may explain the natural reproductive success of the studied populations and increase the probability of crosses between distant individuals. Therefore, to reduce local extinction risks by genetic losses, conservation plans should considerate preservation of close subpopulations.

Key-words: *inselbergs*; habitat fragmentation; conservation; phenology; ornithophily; nectar dynamics; rupicolous plants.

**8. ANEXO – NORMAS DE PUBLICAÇÃO DO PERIÓDICO ONDE O MANUSCRITO SERÁ
SUBMETIDO**

Length of Papers

Papers should not exceed 8 printed pages or 9,000 words. One printed page in the journal (without figures and tables, with about 3 subheads and paragraphs) usually contains roughly 6200 characters. The number of figures plus tables should not exceed 9. Appendices will be published as Supporting Information rather than in the main text.

References: About 40 to 50 references usually fill one printed page.

New: Page Charge: Starting in 2011, original research papers longer than the guidelines given above when in proof will be subject to a page charge at a rate of GBP 100 per page above the 8-page limit (first 8 pages are free of charge). An invoice will be sent to authors for these charges upon print publication of their article. Invited and review articles are excluded from this rule.

Arrangement

Research papers

Title page: The first page of each paper should indicate: The title, the author's names and affiliations, a short title for use as running head, the name, address, e-mail address, phone and fax number of the corresponding author, and 3 to 7 keywords.

Abbreviation: List with abbreviations where appropriate.

Abstract: The abstract must not exceed 250 words. It should include the hypothesis, explain the novelty of the work, and what it adds to the body of scientific knowledge. The following sections cover the usual contents: Introduction, Materials and Methods, Results, Discussion, Acknowledgements, References (see below), Tables (see below), Figure legends (see below), Illustrations (see below).

In Materials and Methods, Results and Discussion subheadings are possible. If an author chooses to combine sections Results and Discussion, an additional section Conclusions can be added, but this must be brief.

Concise review articles

Choose subheadings as appropriate but do not use a numbering system. Title page, Key words, Abstract and other items as for full length papers.

Tables

Tables must be serially numbered in Arabic numerals and each must carry a brief descriptive heading. Tables reproduced from other publications must state their precise source. Only signs that can be typeset should be used in the tables and legends. Please provide Tables in Word and include them at the end of the manuscript after the References, each on a separate page. Refrain from using both tables and graphs to demonstrate the same results.

Figures and Graphics

Electronic artwork

It is essential that all artwork is provided in electronic format. Please save vector graphics (e.g. line artwork) in Encapsulated Post-script (EPS) format and bitmap files (e.g. half-tones) in Tagged Image Format (TIFF). Detailed information on our digital illustration standards is available

at <http://www.blackwellpublishing.com/bauthor/illustration.asp>.

Please do not embed any tables and/or figures in the text document.

If you should encounter difficulties upon submitting figures and graphics, please contact the editorial office by e-mail under annette.schlierenkamp@ctp.uni-freiburg.de or by telephone under ++ 49/(0)761/203-8300.

Colour illustrations: Authors are required to cover the cost of colour printing.

Therefore, please note that if there is colour artwork in your manuscript when it is accepted for publication, Wiley-Blackwell require you to complete and return a [colour work agreement form](#) before your paper can be published. Colour printing costs €300 per article + VAT. Please supply colour work as eps, tiff or jpg files. The colour work form can be downloaded as a PDF from the internet. [To download PDF files you must have Acrobat Reader installed on your computer. If you do not have this program, this is available as a free download from the following web

address: <http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>. The web address for the form is http://www.blackwellpublishing.com/pdf/PLB_CWAF.pdf.

References

The list of references must include all (but no additional) references quoted. Arrange

references alphabetically according to author name, not chronologically. The name of the journals containing the cited papers should be given in full.

Each article reference should be given as in the following example:

Alfano J.R., Collmer A. (2004) Type III secretion system effector proteins: double agents in bacterial disease and plant defence. *Annual Review Phytopathology*, **42**, 385-414.

Books or other non-serial publications which are quoted in the references must be cited as follows:

Gage J.D., Tyler P.A. (1991) *Deep-sea Biology: A Natural History of Organisms at the Deep-sea Floor*. Cambridge University Press, Cambridge: 504 pp.

Lester R.N., Hasan S.M.Z. (1991) Origin and domestication of the brinjal eggplant, *Solanum melongena*, from *S. incanum*, in Africa and Asia. In: Hawkes J.G., Lester R.N., Nee M., Estrada N. (Eds), *Solanaceae III: Taxonomy, Chemistry, Evolution*. Royal Botanic Gardens, Kew; London, UK: 369-387.

Articles not yet published may only be cited if they have definitely been accepted for publication. They must be denoted by the expression 'in press'.

We recommend the use of a tool such as EndNote or Reference Manager for reference management and formatting.

Units

Plant Biology will follow the system of SI units (Système International d'Unités).

Within a given paper chosen units must be uniform.

Abbreviation

Note that common abbreviations can be used without explanation. Others must be explained. In case of doubt always give an explanation. Use FW = fresh weight and DW = dry weight.

Scientific Names

Scientific names should be cited in their complete form when first mentioned with genus - species - authority - cultivar (cv.) or subspecies (ssp.) where appropriate. Latin names should be underlined or typed in *italics*. Subsequently the generic names should

be abbreviated, but avoid confusion: e.g. use *A. comosus* if the only genus with a first letter A in your paper is *Ananas*; but use unambiguous abbreviations if you have more than one genus with the same first letter, e.g. *Ananas comosus*, *Aechmea nudicaulis* = *A. comosus*, *Ae. nudicaulis*, etc. Common names of organisms must be accompanied by the correct scientific name when first mentioned. For rare or exotic genera it may be useful to give the name of the family and/or higher taxon in brackets when first mentioned.

Copyright

Authors will be required to assign copyright of their paper to the German Botanical Society, Royal Botanical Society of the Netherlands and Blackwell Publishing. Copyright assignment is a condition of publication and papers will not be passed to the publisher for production unless copyright has been assigned. (Papers subject to government or Crown copyright should tick box 3 on the form). Download the [Copyright Assignment Form](#) here. The publishers will not refuse any reasonable request by authors for permission to reproduce their contributions to the journal.

Reprints

A PDF offprint of the online published article will be provided free of charge to the corresponding author, and may be distributed subject to the Publisher's terms and conditions. The corresponding author will be asked to provide up to seven email addresses for early distribution of a PDF offprint by the publisher. Paper offprints of the printed published article may be purchased if ordered via the method stipulated on the instructions that will accompany the proofs. Printed offprints are posted to the correspondence address given for the paper unless a different address is specified when ordered. Note that it is not uncommon for the printed offprints to take up to 8 weeks to arrive after publication of the journal. For further information please contact C.O.S. Printers PTe Ltd, 9 Kian Teck Crescent, Singapore 628875; Fax: +65 6265 9074; E-mail: offprint@cosprinters.com.

Author material archive policy

Please note that unless specifically requested, the Publisher will dispose of all hardcopy or electronic material submitted 2 months after publication. If you require the return of

any material submitted, please inform the editorial office or production editor as soon as possible after the final decision about publication.