

MARCELO SOBRAL LEITE

**ANTECOLOGIA DE *Apinagia richardiana* (TUL.) VAN ROYEN:
MÚTIPLAS ESTRATÉGIAS REPRODUTIVAS EM
PODOSTEMACEAE NEOTROPICAL**

RECIFE, 2009

MARCELO SOBRAL LEITE

**ANTECOLOGIA DE *Apinagia richardiana* (TUL.) VAN ROYEN:
MÚLTIPLAS ESTRATÉGIAS REPRODUTIVAS EM
PODOSTEMACEAE NEOTROPICAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal, Universidade Federal de Pernambuco, parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Biologia Vegetal, Área de Concentração Ecologia.

Orientadora: Profa. Dra. Isabel C.S. Machado
Co-orientador: Prof. Dr. José A. Siqueira-Filho

RECIFE, 2009

Leite, Marcelo Sobral

Antecologia de *Apinagia richardiana* (TUL.) Van Royen: múltiplas estratégias reprodutivas em Podostemaceae neotropical/ Marcelo Sobral Leite. – Recife: O Autor, 2009.

74 folhas : il., fig., tab.

Orientadora: Isabel C.S. Machado

Co-orientador: José A. Siqueira-Filho

Dissertação (mestrado) – Universidade Federal de Pernambuco, Centro de Ciências Biológicas. Departamento de Botânica, 2009.

Inclui bibliografia e anexo

**1. Fanerógamo 2. Reprodução de plantas 3. Podostemales I.
Título.**

583.82

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2011-201

MARCELO SOBRAL LEITE

“ANTECOLOGIA DE *Apinagia richardiana* (TUL.)
VAN ROYEN: MÚLTIPLAS ESTRATÉGIAS
REPRODUTIVAS EM PODOSTEMACEAE
NEOTROPICAL”

BANCA EXAMINADORA:

Dra. Isabel Cristina Sobreira Machado (Orientadora) - UFPE

Dra. Milene Faria Vieira - UFV

Dra. Ariane Luna Peixoto – Instituto Jardim Botânico -RJ

Recife- PE
2009

*A Célia Ferreira Sobral, Camila Sobral Leite
& Cristina Sobral Leite dedico.*

AGRADECIMENTOS

Agradeço a todos aqueles que me incentivaram e ajudaram no decorrer desta dissertação, em especial ao Sr. J. Campelo e familiares pelo apoio nos trabalhos de campo, a Msc. T.L. Nadia e ao Prof. Dr. A.M.M. dos Santos (UFPE) pelo auxílio com as análises estatísticas, a Msc. Polyhanna Gomes (UFPE) e Regina Carvalho pelo auxílio na confecção das pranchas, a Profa. Dra. A.S. Tavares (UFSC) pela confirmação na identificação de *A. richardiana*, a Msc. Airton Carvalho (UFPE) pela identificação dos visitantes florais, a Profa. Isabel C.S. Machado pela orientação e apoio e a todos os colegas do Laboratório de Biologia Floral e Reprodutiva da UFPE, e finalmente ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

Sumário

1. Apresentação	1
2. Fundamentação teórica	2
2.1. <i>Características gerais das Podostemaceae</i>	2
2.2. <i>Antecologia em Podostemaceae</i>	4
2.3. <i>Visitantes florais</i>	6
2.4. <i>Sistema reprodutivo</i>	7
3. Referências bibliográficas	10
4. Manuscrito	14
5. Resumo	16
6. Introdução	17
7. Material e métodos	18
7.1. <i>Área de estudo</i>	18
7.2. <i>Fenologia</i>	19
7.3. <i>Morfologia e biologia floral</i>	19
7.4. <i>Visitantes florais</i>	20
7.5. <i>Sistema reprodutivo</i>	21
7.6. <i>Sistema de polinização</i>	21
7.7. <i>Análises estatísticas</i>	23
7.8. <i>Espécimes testemunho</i>	23
8. Resultados	23
8.1. <i>Características gerais e fenologia</i>	23
8.2. <i>Morfologia e biologia floral</i>	25
8.3. <i>Visitantes florais</i>	27
8.4. <i>Sistema reprodutivo</i>	28
8.5. <i>Sistema de polinização</i>	28
9. Discussão	29
10. Conclusões	36
11. Agradecimentos	36
12. Referências bibliográficas	37
13. Legendas	42
14. Conclusões	61

15. Resumen	62
16. Abstract	63
17. Anexo	64

Apresentação

As plantas aquáticas estão entre os grupos biológicos mais negligenciados em termos de estudos científicos no Brasil, sendo a maioria dos táxons conhecidos apenas por trabalhos de descrição taxonômica. Em contraste, sua importância ecológica é muito reconhecida, uma vez que as mesmas desempenham papel fundamental na produtividade primária, produção de oxigênio, manutenção da estrutura física de mananciais importantes para o homem, além de servir como local de nidificação, abrigo e alimento para a biota aquática e ecotonal. As Podostemaceae, em particular, constituem o grupo menos conhecido de fanerógamas dulciaquícolas em relação aos aspectos reprodutivos, apesar destes estudos constituírem ferramentas fundamentais em planos de manejo e conservação.

Em virtude da destruição crescente, pressão de uso e manuseio inadequado dos mananciais associados a florestas tropicais onde vivem e do fato de algumas espécies se encontrarem em risco de extinção, foi elaborada uma fundamentação teórica introdutória sobre os aspectos gerais da família Podostemaceae, e.g. distribuição, ecologia, taxonomia, estando dividida em tópicos com informações sobre visitantes florais, biologia e morfologia floral relacionada à polinização e sistemas reprodutivos ocorrentes na família.

Diante desse cenário, a presente dissertação tem como objetivo investigar a fenologia, os mecanismos de polinização e a biologia reprodutiva de *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen, Podostemaceae de distribuição disjuncta Amazônico-Nordestina, que está tornando-se cada vez mais rara na Floresta Atlântica nordestina. Espera-se contribuir de forma expressiva para o conhecimento da biologia da família Podostemaceae, pois os poucos trabalhos disponíveis atualmente a respeito da ecologia da polinização destas macrófitas, ainda não permitem a caracterização de padrões gerais.

Fundamentação teórica

Características gerais das Podostemaceae

Podostemaceae é compreendida por fanerógamas dulciaqüícolas submersas (Sculthorpe, 1967) restritas a ambientes reófilos graníticos que formam cachoeiras e corredeiras em mananciais com ampla flutuação sazonal do nível das águas (van Royen, 1951). Seus representantes não possuem corpo vegetativo dividido de acordo com o modelo clássico raiz-caule (*sensu* Rutishauser & Huber, 1991), sendo que algumas espécies de Podostemaceae apresentam-se talóides com rizóides e flores inconspícuas, sendo confundidas com algas, briófitas e líquens (Hoehne, 1948). Vegetam presas a rochas submersas através de estruturas específicas denominadas hápteros (Warming, 1899), assim como por meio de substâncias poliméricas extracelulares (EPS) de cianobactérias simbióticas (Jäger-Zürn & Grubert, 2000). A alta plasticidade estrutural exibida pelas Podostemaceae lhes confere extrema adaptabilidade e dominância nestes ambientes aquáticos, adversos para a maioria das angiospermas (Rutishauser, 1995; Philbrick & Novelo, 1995).

As Podostemaceae englobam espécies-chave em águas oligotróficas (Hill & Webster, 1984; Philbrick & Novelo, 1995; Santos *et al.* 1996), sendo a principal fonte de carbono autóctone (Quiroz *et al.* 1997; Hutchens & Wallace, 2004). Desta maneira, suas comunidades nos neotrópicos são alimento, abrigo e local de nidificação para vários peixes das famílias Anostomidae, Loricariidae, Characidae e Pimelodidae (e.g. Collart *et al.* 1996; Tavares *et al.* 1998; Hutchens & Wallace, 2004; Jégu & Keith, 2005; Jégu & Zuanon, 2005) e artrópodes aquáticos como Chironomidae, Diptera (e.g. Dejoux, 1984) e Libellulidae, Anisoptera (e.g. Fleck, 2004). A crescente destruição de seus habitats (Grubert, 1991; Moham Ram & Sehgal, 1992; Philbrick & Novelo, 1995; Tavares, 1997; Tur 1997; Lino & Dias, 2003; 2005; Sobral Leite *et al.* 2007), torna alguns de seus representantes potencialmente ameaçados de extinção, a exemplo de *Castelnavia lindmaniana* Warm., *Mourera fluviatilis* Aubl. e *Podostemum saldanhanum* (Warm.) Philbrick & Novelo, atualmente na Lista Oficial das Espécies da Flora Brasileira Ameaçadas.

Podostemaceae *sensu strictu* possui 48 gêneros e 270 espécies com distribuição subcosmopolita (Cook, 1990; Philbrick, 2004). A maior riqueza de espécies encontra-se nas zonas tropicais, embora alguns gêneros, e.g. *Cladopus*, *Hydrobryum* e *Podostemum*, alcancem as zonas temperadas (Ameka *et al.* 2003; Philbrick, 2004). Os principais centros de

especiação e diversidade da família são as regiões neotropical, com 156 espécies, e a africana equatorial, com 85 espécies (Ameka *et al.* 2003; Rutishauser *et al.* 2004), sendo que a primeira é reconhecida como centro de origem da família (van Royen, 1951).

Todos os representantes de Podostemaceae possuem flores bissexuais, ovário súpero e perigônio inconspícuo formado de tépalas escamiformes, com exceção de *Weddellina squamulosa* Tul., cujas tépalas são vistosas e de coloração branca (Willis, 1902; van Royen, 1951; Jäger-Zürn, 1997). Podostemaceae *sensu strictu* compreende as subfamílias, Podostemoideae e Tristichoideae que se subdividem em duas tribos cada (Philbrick, 2004). Tristichoideae está dividida na tribo Tristicheae, cujos representantes apresentam perianto trilobado, ovário trilocular e estames de um a três (e.g. *Tristicha trifaria* (Bory ex Willd.) Sprengel) e Weddellinae com perianto pentalobado, ovário bilocular e estames entre cinco e 25 (*W. squamulosa*) (van Royen, 1951; Philbrick, 2004). Em Podostemoideae, a tribo Mourereae é formada pelos gêneros *Lonchostephus*, *Mourera* e *Tulasneantha*, caracterizados por inflorescência do tipo monocásio espiciforme, e Eupodostemeae que abrange todos os outros táxons que não apresentam inflorescência em monocásio, e.g. *Apinagia*, *Crenias*, *Wettsteiniola*, *Marathrum* (van Royen, 1951; 1953; 1954; Philbrick, 2004). Em virtude de diferenças apresentadas no desenvolvimento embriológico e morfológicas de alguns táxons, Willis (1926) e Cusset & Cusset (1988a; b; c) preferem dividir Podostemaceae em três subfamílias, Podostemoideae, Tristichoideae e Weddellinoideae. No entanto, essa classificação não é aceita pela maioria dos autores.

Apinagia é o gênero de Podostemaceae com maior número de espécies – cerca de 50 – distribuídas nas regiões norte, central e nordeste da América do Sul (van Royen, 1951; Cook, 1990; Philbrick, 2004). Apresentando algumas espécies, a exemplo de *A. richardiana* (Tul.) P. Royen, populações relictuais de distribuição disjunta Amazônico-Nordestina (*sensu* Andrade-Lima, 1966). Compreende ervas dicotômicas de folhas membranáceas pertencentes a subfamília Podostemoideae, tribo Eupodostemeae formada por plantas com botões florais envoltos por espatela membranácea, perianto escamiforme, um ou mais estames e ovário bicarpelar (van Royen, 1951; Cook, 1990). De acordo com van Royen (1951) o gênero se divide em três seções: *Euapinagia*, *Hymenolacis* e *Wentia*. *Apinagia richardiana* pertence à seção *Euapinagia*, cujas espécies apresentam ovário e cápsula com 0-8 nervuras longitudinais e anteras introrsas, consideradas características basais dentro do gênero (van Royen, 1951; Schnell, 1967). É uma das espécies mais polimórficas e amplamente distribuídas entre as neotropicais, ocorrendo no norte e nordeste do Brasil (Schnell, 1967).

Moham Ram & Sehgal (1992) comentam que a dificuldade em se estudar as Podostemaceae na natureza se deve às condições extremas a que essas plantas estão submetidas, e.g. correntezas rápidas e fortes, sol pleno e ambientes rochosos de deslocamento difícil. Ecossistemas aquáticos lóticos, em áreas florestais muito densas de difícil acesso e distantes de agrupamentos humanos são condições comumente enfrentadas pelos pesquisadores que buscam estas plantas (Philbrick & Novelo, 1995). Ao mesmo tempo, as técnicas de cultivo *in vitro* ainda estão no início, não permitindo aos pesquisadores acessarem determinadas informações como mecanismos de incompatibilidade e crescimento de tubos polínicos em laboratório (Moham Ram & Sehgal, 1992; Philbrick & Novelo, 1995). A partir da literatura disponível, verificamos que os dados sobre biologia reprodutiva, polinização e visitantes florais em Podostemaceae, encontram-se dispersos em trabalhos cujo enfoque principal aborda temas muito variados da biologia destas plantas como morfologia, embriologia, sistemática e taxonomia.

Antecologia em Podostemaceae

O ciclo vital das Podostemaceae é determinado pelo nível das águas dos rios, pois durante a estação chuvosa essas macrófitas permanecem submersas, em pleno crescimento vegetativo (Willis, 1902; van Royen, 1951). Durante a estação seca a diminuição do nível das águas pode permitir a exposição das flores ao meio aéreo (Philbrick & Novelo, 1995), limitando as Podostemaceae aos mananciais que apresentem tal dinâmica hidrológica (Willis, 1902; Hoehne, 1948; van Royen, 1951). Em função disso, a floração e frutificação destas plantas costumam ser rápidas, abundantes e regulares anualmente (Accorsi, 1951; Tavares, 1997; Philbrick & Novelo, 1998). Gentry (1974) explica que plantas com tal padrão fenológico “explosivo” atraem visitantes florais oportunistas, entre eles abelhas das famílias Apidae e Halictidae, dispostos a alterar sua rota de forrageamento em virtude da repentina oferta de recursos.

Os estudos dos sistemas reprodutivos e de polinização de plantas são fundamentais para a compreensão da dinâmica populacional e das relações evolutivas (Faegri & Pijl, 1979; Bawa & Beach, 1981; Barrett *et al.* 1993; Endress, 1994), bem como em planos de manejo e conservação (Murcia, 1995; Primack & Rodrigues, 2001). No entanto, o conhecimento acerca dos sistemas reprodutivos, ocorrência de autocompatibilidade e tipos de polinizadores é incipiente em Podostemaceae (Cook, 1988; 1990; Philbrick & Novelo, 1995; 1998). Inferências sobre o modo de polinização baseadas na morfologia e disposição de partes florais

(e.g. Philbrick, 1981; Philbrick & Bogle, 1988; Khosla & Moham Ram, 1993), estrutura dos grãos de pólen e razão pólen-óvulo (e.g. Bezuidenhout, 1964; Okada & Kato, 2002) e estudos de caso (Philbrick, 1984; Philbrick & Novelo, 1998; Khosla *et al.* 2000; 2001) sugerem que a autogamia predomina e que a anemofilia é o principal sistema de polinização. Em contraste, registros de visitantes florais em Podostemaceae são constantes na literatura (e.g. Went, 1926; Gessner & Hammer, 1962; Mukkada, 1969; Grubert, 1974; Tavares, 1997; Okada & Kato, 2002), sugerindo que alogamia pode ocorrer mediada por vetores bióticos. Evidências experimentais recentes em Podostemaceae neotropicais, sugerem que alogamia mediada por abelhas (Okada & Kato, 2002; Sobral Leite *et al. in prep.*) e a presença de mecanismos de auto-incompatibilidade parcial são atuantes em algumas espécies (Sobral Leite *et al. in prep.*), constituindo-se estratégias reprodutivas favorecedoras de polinização cruzada (Zapata & Arroyo, 1978; Heslop-Harrison, 1982).

As flores de Podostemaceae variam entre actinomorfas e zigomorfas, apresentando ampla variação no número de estames e óvulos (Willis, 1902; van Royen, 1951). Willis (1902) levantou a hipótese de um gradiente de polinização entre as espécies de Podostemaceae, perceptível pelas diferenças no número e disposição das partes florais, e.g. estames, óvulos, estigmas. Segundo este autor, a poliandria e a variação no número de óvulos em Podostemaceae estariam correlacionados às mudanças na família, da entomofilia como caráter basal, para anemofilia como derivado.

Mukkada (1969) verificou que a perturbação mecânica das flores de *Dalzellia zeylanica* (Gardner) Wight, provocando dispersão massiva de pólen pelo ar, aliada à sua morfologia floral, com estames dispostos em apenas um lado da flor, possibilita ocorrência de anemofilia em adição à entomofilia para esta espécie.

O polimorfismo floral foi investigado em cinco populações de *Podostemum ceratophyllum* A. Michaux do Nordeste dos Estados Unidos por Philbrick & Bogle (1988). Diferenças entre as populações como variação no número e na posição de tépalas e anteras foram encontradas, sugerindo, segundo os autores, que fatores ambientais e genético-reprodutivos têm importância no controle destas variações.

Tavares (1997) encontrou em *Rhyncholacis hydrocichorium*, áreas de emissão de odor nas flores a partir da coloração com o vermelho neutro, além de zonas de reflexão de ultravioleta. Estas características, segundo a autora, são evidências de melitofilia. A mesma autora, comentou a existência de variação intra-específica no comprimento dos estames em *Apinagia* spp., relacionando aos modos de polinização diferenciados entre as populações, que

permitem autofertilização ou causam sua supressão de acordo com as variações na estrutura floral apresentada.

Philbrick & Novelo (1998) concluíram através de observações do desenvolvimento das flores em antese de *Marathrum rubrum* Novelo & Philbrick que a disposição dos estames da espécie, tocando os estigmas no final da antese, viabiliza sua autopolinização. Rutishauser *et al.* (1999) atribuem à possibilidade de ocorrência de entomofilia em *M. rubrum* e *M. schiedeanum* (Cham.) Tul., a partir de inferências da variação floral intra-específica nestas espécies. Estes autores, explicam que, além da visita ocasional de insetos como possibilidade, a ocorrência de morfo-florais com estames em verticilo completo e coloração avermelhada, atraente a insetos, seriam evidências de adaptação na utilização de vetores bióticos de pólen.

Visitantes florais

Went (1926) destaca a frequência constante de abelhas da tribo Trigonini (Apidae), nas flores aromáticas de *Apinagia staheliana* (Went) van Royen, nativa do Rio Corantyne na Guiana Inglesa. Gessner & Hammer (1962), durante expedição às corredeiras do Rio Caroni na Venezuela, observaram *Trigona* (*Tetragona*) *clavipes* (F.) (Apidae, Trigonini), visitando flores de *Apinagia exilis* (Tul.) van Royen, *A. multibranchiata* (Matth.) van Royen, *Mourera fluviatilis* Aubl., *Rhyncholacis macrocarpa* Tul. e *Rhyncholacis* sp. Anos mais tarde, Grubert (1974), confirmou ocorrência de *Trigona* spp. visitando flores das mesmas espécies de Podostemaceae no Rio Caroni, observadas por Gessner & Hammer (1962), acrescidas de *Rhyncholacis penicillata* Matthiesen e *Weddellina squamulosa* Tul. Citações de visitas de abelhas Trigonini às flores das Podostemaceae do Rio Caroni foram feitas também por Jäger-Zürn (1997) para *W. squamulosa*, Rutishauser & Grubert (1999) para *M. fluviatilis* e Rutishauser & Grubert (2000) em *A. multibranchiata*.

Tavares (1997) constatou que *Rhyncholacis hydrocichorium* Tul. do Rio Urubu, Amazônia brasileira, tem suas flores assiduamente visitadas por *Apis mellifera* L., *Centris* sp. e *Geotrigona* sp. (Apidae). A autora observou mudança de coloração nas flores de *R. hydrocichorium* após a visita das abelhas, passando de brancas para cremes. Após a captura das abelhas e a retirada do pólen aderido aos seus corpos, verificou-se tratar exclusivamente do pólen de *R. hydrocichorium* (Tavares, 1997). Em *Marathrum rubrum* Novelo & Philbrick e *M. schiedeanum* (Cham.) Tul., Rutishauser *et al.* (1999) verificaram visitas ocasionais de abelhas semelhantes à *Trigona* spp. nas flores destas Podostemaceae nativas dos Rios Horcones e Atoyac no México. Okada & Kato (2002) enfatizaram a alta constância de abelhas

Halictidae, *Melipona* spp. (Apidae) e *Trigona* spp. forrageando pólen nas flores de *Apinagia* sp. e *Rhyncholacis* sp. do Rio Essequibo na Guiana.

As populações de *Mourera fluviatilis* Aubl. do Rio Pirangi, Nordeste do Brasil tem suas flores visitadas com frequência por *Apis mellifera*, *Trigona spinipes* F. (Apidae), *Augochlora* sp. e *Augochloropsis* sp. (Halictidae) que forrageiam pólen durante todo o período de floração da espécie que vai de setembro a dezembro (Sobral Leite, 2005). Segundo este autor, *Apis mellifera* pilha as flores de *M. fluviatilis* na localidade, pois foi observada coletando pólen antes da deiscência das anteras, exaurindo todo o conteúdo de pólen das flores. Mukkada (1969) sugere o papel de moscas (Diptera) como polinizadores de *Dalzellia zeylanica* (Gardner) Wight, a partir das visitas destes insetos em populações do Rio Manimala, na Índia. Segundo este autor, apesar de *D. zeylanica* não possuir características entomófilas usuais, a presença marcante destes insetos em ramos floridos sugere seu papel como polinizadores. Concomitantemente as visitas de abelhas às flores de *Marathrum rubrum* Novelo & Philbrick e *M. schiedeanum* (Cham.) Tul., Rutishauser *et al.* (1999) constataram visitas ocasionais de pequenos Diptera nestas Podostemaceae. Besouros *Torridincola* sp. (Torridincolidae, Coleoptera) foram considerados atuantes na polinização de *Leiothylax quangensis* Warming, nativa das quedas Tshopo, no Zaire (Hauman, 1948; Leonard, 1993).

Sistema reprodutivo

Willis (1902) conduziu inúmeras investigações a respeito do sistema reprodutivo de Podostemaceae nativas da Índia e do Ceilão. Este autor concluiu que a maioria das espécies, e.g. *Dalzellia zeylanica* (Gardner) Wight, *Farmeria metzgerioides* Willis, *Indotristicha ramosissima* (Wight) van Royen e *Podostemum barberi* Willis apresentam autogamia e cleistogamia como sistemas reprodutivos predominantes ou polinização anemófila. Ele sugere que a ausência de insetos em função das condições inóspitas das corredeiras, exerce pressão seletiva sobre o desenvolvimento de flores autopolinizadas ou que utilizam preferencialmente meios abióticos.

Accorsi (1946) fez importantes descobertas sobre o sistema reprodutivo das espécies nativas do Salto de Piracicaba, sudeste do Brasil como *Crenias weddelliana* (Tul.) C.D.K. Cook & Rutishauser e *Wettsteiniola accorsii* (Toledo) van Royen. Nestas espécies neotropicais, a ausência de insetos visitantes florais provavelmente favorecem estratégias abióticas de reprodução ou autogamia através do contato entre anteras e estigma em final de antese (Accorsi, 1946).

Philbrick (1984) conduziu experimentos acerca do sistema reprodutivo em três populações de *Podostemum ceratophyllum* A. Michaux, da América do Norte, constatando autogamia e cleistogamia com espatela irrompida, como sistemas reprodutivos predominantes. O autor acredita que, embora a possibilidade de polinização cruzada na espécie seja pequena, estudos detalhados devem ser conduzidos para verificar sua ocorrência e frequência. A partir de análises morfológicas e de desenvolvimento floral em duas variedades de *Polypleurum stylosum* var. *laciniata* (Wight) Hall e var. *stylosum*, Khosla & Moham Ram (1993 e Khosla *et al.* (2000) concluíram que estes táxons são predominantemente autógamos.

Jäger-Zürn (1997) e Okada & Kato (2002) encontraram indícios de que a autopolinização espontânea pode ocorrer em *Weddellina squamulosa* Tul. através da constatação de anteras deiscetes próximas aos estigmas em flores recém abertas. No entanto, a possibilidade da cleistogamia, foi refutada por Jäger-Zürn (1997), pois *W. squamulosa* não apresenta grãos de pólen desenvolvidos antes do rompimento da espatela, impossibilitando a polinização cleistogâmica.

Rutishauser (1997), em estudo de revisão sobre aspectos morfológicos em Podostemaceae, comenta que os representantes da subfamília Tristichoideae com flores de poucos estames, dispostos em um dos lados da flor, tendem a autogamia, podendo utilizar mecanismos anemófilos ou mesmo cleistogamia. Suas observações corroboram as hipóteses de Willis (1902) sobre a relação da morfologia floral e dos sistemas reprodutivos em Podostemaceae.

A partir de observações em *Rhyncholacis lineares* Tul., Tavares (1997) sugeriu a ocorrência de cleistogamia em Podostemaceae neotropicais. A autora relata a presença de frutos bem desenvolvidos em *R. lineares* submersos em plena estação chuvosa, que após repiquete, encontraram-se expostos ao meio aéreo, podendo ser observados frutificados.

Philbrick & Novelo (1998) constataram que embora a autogamia seja predominante em *Marathrum rubrum* Novelo & Philbrick, a formação de sementes em polinização cruzada (10%), sugere a ocorrência de alogamia na população. Os autores alertaram sobre a necessidade de estudos genéticos que possam elucidar o papel da polinização cruzada para as populações de *M. rubrum*.

Recentemente, Okada e Kato (2002) inferiram o sistema reprodutivo de 20 espécies pertencentes a 15 gêneros das duas subfamílias de Podostemaceae a partir da razão pólen-óvulo. Os autores concluíram que táxons que apresentaram log P/O acima de 2.5 são alógamos e abaixo de 2.0 autógamos. Com base nestas conclusões, as espécies de

Tristichoideae foram classificadas como autógamas e os táxons de Podostemoideae variaram entre alógamos, autógamos e cleistógamos.

A partir de experimentos sobre o sistema reprodutivo e a polinização, Sobral Leite *et al.* (*in prep.*), registraram que *Mourera fluviatilis* Aubl. é preferencialmente alógama, sendo polinizada tanto por abelhas, quanto pelo vento, sendo caracterizada, portanto, como ambófila (*sensu* Stelleman, 1984).

Referências bibliográficas

- ACCORSI, W.R. 1946. Contribuição para o estudo biológico das Podostemaceae do Salto de Piracicaba II. Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz 3: 399-424.
- ACCORSI, W.R. 1951. Contribuição para o estudo biológico e ecológico das Podostemaceae do Salto de Piracicaba III. Anais da Escola Superior de Agricultura Luiz de Queiroz 8: 747-768.
- AMEKA, G.K.; CLERK, G.C.; PFEIFER, E. & RUTISHAUSER, R. 2003. Development morphology of *Ledermanniella bowlingii* (Podostemaceae) from Ghana. Plant Systematics and Evolution 237: 165-183.
- ANDRADE-LIMA, D. 1966. Contribuição ao estudo do paralelismo da flora Amazônico-Nordestina. Boletim técnico do I.P.A. 19: 1-33.
- BARRETT, S.C.H.; ECKERT, D.G. & HUSBAND, B.C. 1993. Evolutionary processes in aquatic plant populations. Aquatic Botany 44: 105-145.
- BAWA, K.S. & BEACH, J.H. 1981. Evolution of sexual systems in flowering plants. Annals of the Missouri Botanical Garden 68: 254-274.
- BEZUIDENHOUT, A. 1964. The pollen of African Podostemaceae. Pollen et Spores 6: 463-478.
- COLLART, O.O.; JÉGU, M.; TATCHER, V. & TAVARES, A.S. 1996. Les prairies aquatiques de l'Amazonie brésilienne. ORSTOM Actualites 49: 8-14.
- COOK, C.D.K. 1988. Wind pollination in aquatic Angiosperms. Annals of the Missouri Botanical Garden 75: 768-777.
- COOK, C.D.K., 1990. Aquatic Plant Book. The Hague, SPB Academic Publishing.
- CUSSET, G. & CUSSET, C. 1988a. Etudes sur les Podostemales. 9. Délimitations taxonomiques dans les Tristichaceae. Adansonia 10: 149-177.
- CUSSET C. & CUSSET C. 1988b. Etudes sur les Podostemales: 10. Structures florales et vegetatives des Tristichaceae. Adansonia 10: 179-218.
- CUSSET, G. & CUSSET, C. 1988c. Etudes sur les Podostemopsida. 11. Repartition et evolution des Tristichaceae. Adansonia 10: 223-262.
- ENDRESS, P.K. 1994. Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge, Cambridge University Press.
- DEJOUX, C. 1984. Contribution to the knowledge of West African Chironomidae (Diptera – Nematocera). Chironomids from the Guinean Republic. Aquatic Insects 6: 157-167.
- FAEGRI, K. & PIJL, van der. 1979. The principles of pollination ecology. Oxford, Pergamon Press.
- FLECK, G. 2004. Contribution à la connaissance des Odonates de Guyane Française. Les larves de *Macrothemis pumila* Karsch, 1889 et de *Brechmorhoga praedatrix* Calvert, 1909. Notes biologiques et consequences taxonomiques (Anisoptera: Libellulidae). Annales des Société Entomologique de France 40: 177-184.
- GENTRY, A.H. 1974. Flowering phenology and diversity in tropical Bignoniaceae. Biotropica 6: 64-68.
- GESSNER, F. & HAMMER, L. 1962. Ökologisch-physiologisch Untersuchungen an den Podostemaceen des Caroni. Internationale Revue der Geramten Hydrobiologie 47: 497-514.
- GRUBERT, M. 1974. Podostemaceen-Studien. Teil 1. Zur Ökologie einiger venezolanischer Podostemaceen. Beiträge zur Biologie der Pflanzen 50: 321-391.
- GRUBERT, M. 1991. Ecologia de fanerógamas de saltos tropicales adaptadas en forma extrema. Natúra 91: 54-61.
- HAUMAN, L. 1948. Podostemaceae. Flore Congo Belge et Ruanda-Urundi 1: 219-226.

- HESLOP-HARRISON, J. 1982. Pollen-stigma interaction and cross-incompatibility in the grasses. *Science* 215: 1358-1364.
- HILL, B.H. & WEBSTER, J.R. 1984. Productivity of *Podostemum ceratophyllum* in the New River, Virginia. *American Journal of Botany* 71: 130-136.
- HOEHNE, F.C. 1948. Plantas Aquáticas. São Paulo, Instituto de Botânica.
- HUTCHENS JR., J.J. & WALLACE, J.B. 2004. Role of *Podostemum ceratophyllum* Michx. in structuring benthic macroinvertebrate assemblages in a Southern Appalachian river. *Journal of the North American Benthological Society* 23: 713-727.
- JÄGER-ZÜRN, I. 1997. Embryological and floral studies in *Weddellina squamulosa* Tul. (Podostemaceae, Tristichoideae). *Aquatic botany* 57: 151-182.
- JÄGER-ZÜRN, I. & GRUBERT, M. 2000. Podostemaceae depend on sticky biofilms with respect to attachment to rocks in waterfalls. *International Journal of Plant Sciences* 161: 599-607.
- JÉGU, M. & KEITH, P. 2005. Threatened fishes of the world: *Tometes lebaili* (Jégu, Keith & Belmont-Jégu 2002) (Characidae: Serrasalminae). *Environmental Biology of Fishes* 72: 378.
- JÉGU, M. & ZUANON, J. 2005. Threatened fishes of the world: *Ossubtus xinguense* (Jégu 1992) (Characidae: Serrasalminae). *Environmental Biology of Fishes* 73: 414.
- KHOSLA, C. & MOHAM RAM, H.Y. 1993. Morphology of flower, fruit and seed in *Polypleurum stylosum*. *Aquatic Botany* 46: 255-262.
- KHOSLA, C.; SHIVANNA, K.R. & MOHAM RAM, H.Y. 2000. Reproductive biology of *Polypleurum stylosum* (Podostemaceae). *Aquatic Botany* 67: 143-154.
- KHOSLA, C.; SHIVANNA, K.R. & MOHAM RAM, H.Y. 2001. Cleistogamy in *Griffithella hookeriana* (Podostemaceae). *South African Journal of Botany* 67: 320-324.
- LEONARD, J. 1993. Etude phytosociologique des chutes de la Tshopo (Kisangani: Zaire). *Bulletin du Jardin Botanique National de Belgique* 62: 283-347.
- LINO, C.F. & DIAS, H. 2003. Águas e florestas da Mata Atlântica: Por uma gestão integrada. Conselho Nacional da Reserva da Biosfera da Mata Atlântica, São Paulo.
- LINO, C.F. & DIAS, H. 2005. Águas da Mata Atlântica, Programa águas e florestas da Mata Atlântica. UNESCO, South-South Cooperation Programme, Paris, France.
- MOHAM RAM, H.Y. & SEHGAL, A. 1992. Podostemaceae – The strange family of aquatic Angiosperms. *Palaeobotanist* 41: 192-197.
- MUKKADA, A.J. 1969. Some aspects of the morphology, embryology and biology of *Terniola zeylanica* (Gardner) Tulasne. *New Phytologist* 68: 1145-1158.
- MURCIA, C. 1995. Forest fragmentation and the pollination of neotropical plants. Pp.19-36. In: SCHELLAR, J. & GREENBERG, R. (Eds.), *Forest patches in tropical landscapes*. London, Island Press.
- OKADA, H. & KATO, M. 2002. Pollination systems inferred from pollen-ovule ratios of some species of Podostemaceae. *Acta Phytotaxonomica et Geobotanic* 53: 51-61.
- PHILBRICK, C.T. 1981. Some notes regarding pollination in a New Hampshire population of *Podostemum ceratophyllum* Michx (Podostemaceae). *New England Notes* 48: 319-321.
- PHILBRICK, C.T. 1984. Aspects of floral biology, breeding system, and seed and seedling biology in *Podostemum ceratophyllum* (Podostemaceae). *Systematic Botany* 9: 166-174.
- PHILBRICK, C.T. 2004. Podostemaceae (River-Weed family). 2004. Pp. 302-304. In: SMITH, N.; MORI, S.A.; HENDERSON, A.; STEVENSON, D.W. & HEALD, S.V. (Eds.), *Flowering Plants of Neotropics*. Princeton and Oxford, Princeton University Press.
- PHILBRICK, C.T. & BOGLE, A.L. 1988. A survey of floral variation in five populations of *Podostemum ceratophyllum* Michx. (Podostemaceae). *Rhodora* 90: 113-121.
- PHILBRICK, C.T. & NOVELO, R.A. 1995. New world Podostemaceae: ecological and evolutionary enigmas. *Brittonia* 47: 210-222.

- PHILBRICK, C.T. & NOVELO, R. A. 1998. Flowering phenology, pollen flow, and seed production in *Marathrum rubrum* (Podostemaceae). *Aquatic Botany* 62: 199-206.
- PRIMACK, R.B. & RODRIGUES, E. 2001. *Biologia da Conservação*. Londrina, Editora Vida.
- QUIROZ, A.F.; NOVELO, A.R. & PHILBRICK, C.T. 1997. Water chemistry and the distribution of Mexican Podostemaceae: a preliminary evaluation. *Aquatic Botany* 57: 201-212.
- RUTISHAUSER, R. 1995. Developmental patterns of leaves in Podostemaceae compared with more typical flowering plants: saltational evolution and fuzzy morphology. *Canadian Journal of Botany* 73: 1305-1317.
- RUTISHAUSER, R., 1997. Structural and developmental diversity in Podostemaceae (river-weeds). *Aquatic botany* 57: 29-70.
- RUTISHAUSER, R. & GRUBERT, M. 1999. The of *Mourera fluviatilis* (Podostemaceae): developmental morphology of inflorescences, flowers and seedlings. *American Journal of Botany* 86: 907-922.
- RUTISHAUSER, R. & GRUBERT, M. 2000. Developmental morphology of *Apinagia multibranchiata* (Podostemaceae) from the Venezuelan Guyanas. *Botanical Journal of the Linnean Society* 132: 299-323.
- RUTISHAUSER, R. & HUBER, K.A. 1991. The developmental morphology of *Indotristicha ramosissima* (Podostemaceae, Tristichoideae). *Plant Systematics and Evolution* 178: 195-223.
- RUTISHAUSER R.; NOVELO, A. & PHILBRICK, C.T. 1999. Developmental morphology of New World Podostemaceae: *Marathrum* and *Vanroyenella*. *International Journal of Plant Sciences* 160: 29-45.
- RUTISHAUSER R., PFEIFER E. & BERNHARD A. 2004. Podostemaceae of Africa and Madagascar: keys to genera and species, including genera descriptions, illustrations to all species known, synonyms, and literature list. Version 15-09-04. Internet <<http://.systbot.unizh.ch/podostemaceae>>. Acesso em: 25 de novembro de 2008.
- SANTOS, G.M.; JÉGU, M. & LIMA, A.C. 1996. Novas ocorrências de *Leporinus pachycheilus* Britsky, 1976 e redescrição de uma espécie nova do mesmo grupo na Amazônia brasileira (Osteichthys, Anostomidae). *Acta Amazonica* 26: 265-280.
- SCHNELL, R. 1967. Etudes sur l'anatomie et la morphologie des Podostémacées. *Candollea* 22: 157-225.
- SCULTHORPE, M.A.O. 1967. *The Biology of Aquatic Vascular Plants*. London, Edward Arnold.
- SOBRAL LEITE, M. 2005. Fenologia e biologia reprodutiva de *Mourera fluviatilis* Aubl. (Podostemaceae) no Complexo Catende, Pernambuco. Monografia de conclusão de curso. Universidade Federal Rural de Pernambuco, Recife, 63p.
- SOBRAL LEITE, M.; DANTAS, L.G. & OLIVEIRA JR., J.B. DE. 2007. Redescoberta, distribuição e conservação de *Tristicha trifaria* (Bory ex Willd.) Sprengel (Podostemaceae) em Pernambuco. *Revista Brasileira de Biociências* 5: 765-767.
- STELLEMAN, P. 1984. Reflections on the transition from wind pollination to ambophily. *Acta Botanica Neerlandica* 33: 497-508.
- TAVARES, A.S. 1997. Podostemaceae de alguns rios de água preta do Estado do Amazonas. 1997. Tese (Doutorado em Biologia Vegetal) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia & Universidade do Amazonas, Manaus, 217p.
- TAVARES, A.S.; ENRICONE, A. & COLLART, O.O. 1998. Insect communities associated with aquatic macrophytes Podostemaceae in Amazonian waterfalls. *Verhandlungen der Internationalen Vereinigung für theoretische and angewandte Limnologie* 26: 2158-2161.
- TUR, N. M. 1997. Taxonomy of Podostemaceae in Argentina. *Aquatic Botany* 57: 213-241.

- WARMING, E. 1899. Familien Podostemaceae V. Mémoires de l'Academie Royale des Sciences et des Lettres de Danemark 2: 105-154.
- WENT, F.A.F.C. 1926. Untersuchungen über die Podostemaceen III. Verhandelingen der Koninklijke Nederlandsche Akademie von Wetenschappen Amsterdam 25: 1-59.
- WILLIS, J.C. 1902. Studies in the morphology and ecology of Podostemaceae of Ceylon and India. Annals of Royal Botanical Gardens 1: 268-465.
- WILLIS, J.C. 1926. The evolution of the Tristichaceae and Podostemaceae. Annals of Botany 40: 349-367.
- van ROYEN, P. 1951. The Podostemaceae of the new world. Part I. Mededeelingen van het botanisch museum en herbarium van de rijks Universiteit te Utrecht 107: 1-150.
- van ROYEN, P. 1953. The Podostemaceae of the new world. Part II. Acta Botanica Neerlandica 2: 1-20.
- van ROYEN, P. 1954. The Podostemaceae of the new world. Part III. Acta Botanica Neerlandica 3: 215-263.
- ZAPATA, T.R. & ARROYO, M.T.K. 1978. Plant reproductive ecology of a secondary deciduous tropical forest in Venezuela. Biotropica 10: 221-230.

Antecologia de *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen: múltiplas
estratégias reprodutivas em Podostemaceae neotropical

Manuscrito a ser enviado ao periódico Aquatic Botany

Antecologia de *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen: múltiplas estratégias reprodutivas em Podostemaceae neotropical¹

Marcelo Sobral Leite^{2, 4}, José Alves de Siqueira-Filho³ & Isabel C.S. Machado²

1. Parte da dissertação de mestrado do primeiro autor.

2. Universidade Federal de Pernambuco – UFPE. Centro de Ciências Biológicas, Laboratório de Biologia Floral e Reprodutiva. Av. Prof. Moraes Rego, 1235 – Cidade Universitária, Recife, PE, CEP 50670-901.

3. Universidade Federal do Vale do São Francisco – UNIVASF. Centro de Referência para a Recuperação de Áreas Degradadas da Bacia Hidrográfica do Rio São Francisco – CRAD/UNIVASF, Campus de Ciências Agrárias, BR 407, km 12, lote 543, Distrito de Irrigação Senador Nilo Coelho, Zona Rural, Petrolina – PE, CEP: 56.300-990.

4. msobralleite@yahoo.com.br

Resumo - As Podostemaceae são as fanerógamas dulciaquícolas menos conhecidas com relação aos aspectos reprodutivos. *Apinagia richardiana* é amplamente distribuída apresentando distribuição disjunta Amazônico-Nordestina. No nordeste do Brasil são encontradas populações em mananciais associados à Floresta Atlântica. Os objetivos deste estudo foram: (i) verificar a estratégia fenológica, (ii) descrever sua biologia floral e (iii) determinar seu sistema reprodutivo e de polinização. A espécie foi estudada no Rio Pirangi, nordeste do Brasil, onde sua floração inicia em outubro e se estende até janeiro. Correlações significativas entre número de indivíduos floridos e o fator ambiental precipitação-nível das águas nos dois ciclos fenológicos acompanhados (2007, $r_s = -0,78$, $p = 0,001$ e 2008, $r_s = -0,73$, $p = 0,01$), evidenciam a adoção da estratégia fenológica anual e regular, semelhante a outras Podostemaceae. *Apinagia richardiana* apresenta padrão fenológico explosivo ou cornucópia em nível individual e cornucópia em nível populacional em virtude da massiva produção de flores em períodos de oito dias a seis semanas. Entre os visitantes florais estão abelhas poliléticas *Apis mellifera* (Apidae), *Augochlora* sp. e *Augochloropsis* sp. (Halictidae), além de *Tabanus* sp. (Tabanidae, Diptera) e libélulas (Caegrionidae, Odonata). A baixa frequência destes insetos sugere que alogamia por vetores bióticos seja ocasional na espécie. O aumento significativo no comprimento dos filetes ($t = 15,38$, g.l. = 47, $p = 0,00$), atingindo os estigmas promove a autofertilização. Houve elevado sucesso na formação de frutos (<90%) em todos os experimentos do sistema reprodutivo. A espécie é autocompatível não havendo diferença significativa no número de sementes entre os tratamentos ($F = 2,65$, g.l. = 2, $p = 0,07$). Os tubos polínicos penetram as micrópilas dos óvulos em todos os tratamentos, no entanto, maior quantidade de tubos atingem os óvulos na autopolinização manual, sugerindo, além da ausência de mecanismos de auto-incompatibilidade, favorecimento da autofecundação. Os experimentos do sistema de polinização, não apresentaram diferenças significativas entre si ($F = 0,13$, g.l. = 2, $p = 0,87$), o que aliado aos atributos florais, e.g. flores dorsiventrals, e estruturais, como crescimento agrupado e alta densidade de flores por unidade de área ($\bar{x} = 111,35 \pm 40,01$, $0,10 \text{ m}^2$ de área) indicam a intensa ocorrência de anemofilia como meio reprodutivo. Autogamia e alogamia também ocorrem em *A. richardiana*, caracterizando a multiplicidade de estratégias reprodutivas empregadas pela espécie, respostas a condições ambientais favoráveis a cada uma destas estratégias reprodutivas.

Palavras-chave: ecologia da polinização, sistemas generalistas, Floresta Atlântica, plantas aquáticas, autogamia.

1. Introdução

Podostemaceae é composta por fanerógamas dulciaquícolas submersas fixas (Sculthorpe, 1967) restritas a habitats graníticos ou gnáissicos de cachoeiras com dinâmica hidrológica de ampla flutuação sazonal do nível das águas (van Royen, 1951). Considerada a maior família de angiospermas aquáticas, com cerca de 48 gêneros e 280 espécies (Ameka et al., 2003; Philbrick, 2004), apresenta distribuição pantropical, embora o principal centro de especiação e diversidade seja os neotrópicos com 156 espécies (Ameka et al., 2003). *Apinagia* é o gênero com maior número de espécies (cerca de 50) com distribuição restrita as partes norte, central e nordeste da América do Sul (Cook, 1990; Philbrick, 2004). *Apinagia richardiana* é uma das espécies mais polimórficas e amplamente distribuídas apresentando distribuição disjunta Amazônico-Nordestina (van Royen, 1951; Fig. 1A). No nordeste do Brasil são encontradas populações relictuais no Centro de Endemismo Pernambuco (*sensu* Santos et al., 2007).

Os representantes de Podostemaceae não possuem corpo vegetativo dividido de acordo com o modelo clássico raiz-caule (Rutishauser & Huber, 1991), sendo que algumas espécies são talóides, portando rizóides e flores pequenas e inconspícuas, confundidas, freqüentemente, com algas, líquens e briófitas (Hoehne, 1948). Exibem alta plasticidade estrutural que lhes confere extrema adaptabilidade e dominância em ambientes reófilos, inóspitos para a maioria das angiospermas (Rutishauser, 1995; Philbrick & Novelo, 1995).

O conhecimento acerca da natureza dos sistemas reprodutivos, ocorrência de autocompatibilidade e tipos de polinizadores ainda é incipiente na família (Cook, 1988; 1990; Philbrick & Novelo, 1998). Inferências sobre o modo de polinização baseadas na morfologia e disposição de partes florais (e.g. Philbrick, 1981; Philbrick & Bogle, 1988; Khosla & Moham Ram, 1993), dimensões e estrutura dos grãos de pólen e razão pólen-óvulo (e.g. Bezuidenhout, 1964; Lobreau-Callenat et al., 1998; Okada & Kato, 2002), além de poucos estudos de caso (ver Mukkada, 1969; Philbrick, 1984; Tavares, 1997; Jäger-Zürn, 1997; Philbrick & Novelo, 1998; Khosla et al., 2000; 2001; Philbrick et al., 2006) sugerem que a autogamia predomina e que a anemofilia é o principal sistema de polinização.

É reconhecido que o ciclo reprodutivo em Podostemaceae é determinado pelo nível das águas dos rios (Hoehne, 1948; Philbrick & Novelo, 1995) e que durante a estação chuvosa, essas macrófitas permanecem submersas, em pleno crescimento vegetativo. Na estação seca, com o refluxo das águas, as plantas emergem, expondo as flores aos agentes polinizadores (Willis, 1902; van Royen, 1951). Em função dessa dinâmica ambiental, a

floração e frutificação das espécies de Podostemaceae costumam ser rápidas, abundantes e regulares anualmente (Gessner & Hammer, 1962; Grubert, 1974; Tavares, 1997; Philbrick & Novelo, 1998). Segundo Gentry (1974), espécies vegetais que apresentam tal padrão fenológico atraem ampla gama de visitantes florais, principalmente insetos oportunistas, entre eles abelhas das famílias Apidae e Halictidae, dispostos a alterar sua rota de forrageamento em virtude da grande e repentina oferta de recursos.

Registros de visitantes florais em Podostemaceae são constantes na literatura (ver Willis, 1902; Gessner & Hammer, 1962; Mukkada, 1969; Grubert, 1974; Tavares, 1997; Okada & Kato, 2002), sugerindo que a alogamia pode ocorrer mediada por vetores bióticos. Gessner & Hammer (1962) e Grubert (1974) observaram espécies de *Trigona* (Apidae, Meliponinae) visitando flores de *Apinagia exilis* (Tul.) van Royen e de *A. multibranchiata* (Matth.) van Royen na Amazônia venezuelana. No entanto, a ausência de dados de frequência e observação sistemática do comportamento dos visitantes florais nestes estudos, não esclarece seu papel como polinizadores efetivos ou pilhadores.

A partir da base teórica disponível, levantamos as seguintes hipóteses a respeito da antecologia de *Apinagia richardiana*: (i) o padrão fenológico (*sensu* Gentry, 1974) e a regularidade fenológica (*sensu* Newstrom et al., 1994) da espécie são explosivo e anual e regular, respectivamente, (ii) os insetos visitantes das flores são abelhas poliléticas (*sensu* Michener, 1979) das famílias Apidae e Halictidae e (iii) *Apinagia richardiana* é autocompatível, mas tem maior sucesso reprodutivo – maior número de sementes formadas – a partir de polinizações cruzadas. Nossos objetivos foram discutir estas questões a partir de experimentos e observações de campo e análises em laboratório, ampliando o conhecimento acerca dos aspectos da polinização em Podostemaceae.

2. Material e métodos

2.1. Área de estudo

O Centro de Endemismo Pernambuco (Fig. 1B) corresponde a Floresta Atlântica Ombrófila Densa de Terras baixas e formações vegetacionais associadas localizadas ao norte do Rio São Francisco (*sensu* Santos et al., 2007). É considerado um dos centros de endemismo mais importantes da América do Sul por abrigar espécies raras e pouco estudadas, incluindo populações relictuais de espécies de distribuição disjunta Amazônico-Nordestina

(Cavalcanti & Tabarelli, 2004). Está inserido ainda em uma das 25 regiões de maior diversidade biológica do planeta e prioritárias para a conservação (ver Myers et al., 2000).

As observações de campo foram feitas nas corredeiras do Rio Pirangi (Fig. 1C), um dos afluentes da margem esquerda do Rio Una (8°48' S e 35°50' W, 250m de altitude) no município de Maraial (Fig. 1C) a 170 km de Recife, capital do Estado de Pernambuco. Para fins experimentais, a área de estudo foi dividida em três estações, engenhos Florestal (estação I), Curtume (estação II) e corredeiras “Caldeirão da Nêga” (estação III). Cada estação de estudo dista entre si cerca de 900 metros, estando situadas sob relevo acidentado com predominância de granitos, sendo os solos mais comuns na região os Podzólicos vermelho-eutrófico com pouca influência do Podzólico vermelho-amarelo distrófico (IBGE, 1985).

O clima local é tropical quente e úmido com temperatura média anual em torno de 22-24 °C com quatro a cinco meses de estação seca entre outubro e fevereiro e chuvosa de março a setembro (IBGE, 1985) com precipitação pluviométrica anual média de 1300 mm (ITEP, 2008). O ambiente de entorno ao Rio Pirangi se caracteriza como Formação Ribeirinha Típica ou Floresta Ciliar, um subtipo da Floresta Ombrófila Densa (Veloso et al., 1991) com vários trechos desmatados, assoreados e inseridos em uma matriz de cana de açúcar, banana e pastagens para pecuária (M. Sobral Leite *obs. pess.*).

2.2. Fenologia

Durante o período de agosto de 2007 a janeiro de 2008 e agosto a dezembro de 2008, trinta indivíduos de *A. richardiana* foram monitorados quinzenalmente a partir do início do aparecimento dos botões florais, até o fim da floração. Em função da dificuldade na determinação de plantas individuais, assumiu-se como indivíduo cada agrupamento da espécie sobre uma rocha isolada. Foram observados: a) período de floração/indivíduo; b) período de floração/população; c) número de flores/ramo; d) número de flores abertas/ramo/dia. O padrão fenológico da espécie foi determinado conforme as classificações de Gentry (1974) e Newstrom et al. (1994).

Após o término da floração os mesmos indivíduos continuaram sendo monitorados quinzenalmente durante todo o período de frutificação até a deiscência das cápsulas, início da dispersão dos diásporos e estabelecimento de plântulas, observando-se: a) período de frutificação/indivíduo; b) período de frutificação/população; c) número de frutos/indivíduo; d) dispersão dos diásporos a olho desarmado ou com o auxílio de lentes de aumento, e) início do estabelecimento de novas plântulas.

2.3. *Morfologia e biologia floral*

Foram registradas informações sobre cor das flores, emissão ou não de odor e localização de osmóforos, horário de início e duração da ântese, dimensões e disposição das peças florais, período de disponibilidade de pólen, a partir dos indivíduos de todas as três estações de estudo.

A morfometria de botões florais e flores foi feita com o auxílio de paquímetro digital. A receptividade estigmática foi testada no campo com peróxido de hidrogênio (Galen & Plowright, 1987) e permanganato de potássio (Robinson, 1924) e observada com o auxílio de lente de aumento. O número de grãos de pólen por antera foi estimado utilizando-se microscópio óptico e câmara de Neubauer (Maêda, 1985). Para o cálculo da razão pólen-óvulo (Cruden, 1977) foram utilizados dez botões em pré-ântese fixados em etanol 70%. A viabilidade polínica foi testada através da técnica de coloração do citoplasma por carmin acético 1,2% (Radford et al., 1974), utilizando-se pólen de dez botões ($N = 10$ indivíduos) em fase de pré-ântese. O período de disponibilidade de pólen foi verificado a partir da coleta e análise de dez flores ($N = 10$ indivíduos) para cada período em diferentes horários (3, 6, 9, 12h), após o início da ântese. As flores foram acondicionadas em tubos de Ependorf contendo 1ml de ácido láctico e glicerol (3:1) cada. Posteriormente, foram levadas ao laboratório onde os grãos de pólen foram estimados em câmara de Neubauer.

A verificação de locais de emissão de odor foi feita no campo em 30 flores ($N = 30$ indivíduos) em início de ântese e com os estigmas receptivos, a partir da coloração pelo vermelho neutro (Vogel, 1963). Paralelamente, foram acondicionadas dez flores ($N = 10$ indivíduos) em recipiente de vidro opaco e hermeticamente fechado, o qual foi aberto após cerca de duas horas (Dafni et al., 2005) para verificar a emissão de odor.

Para análises morfométricas e morfológicas do pólen de *A. richardiana*, os grãos foram acetolisados segundo método de Erdtman (1969). Os dados morfométricos obtidos representam 25 medidas para o diâmetro polar e equatorial de grãos de pólen oriundos de 25 flores de indivíduos diferentes. A classificação dos grãos de pólen também seguiu Erdtman (1969).

2.4. *Visitantes florais*

As observações dos visitantes florais foram feitas em plantas focais de *A. richardiana*, formando agrupamento com cerca de 1m². Durante as sessões de observação, conduzidas entre as 5:00h e 17:00h, foram registrados o tipo, o período, a duração e o comportamento de visita dos visitantes florais, bem como suas interações com indivíduos da mesma ou de outras espécies. O comportamento dos visitantes florais foi estudado a partir de observações naturalísticas (Lehner, 1979), nas três estações de estudo e complementados por análises fotográficas.

Alguns insetos foram capturados com auxílio de rede entomológica ou recipientes de vidro e montados à seco para identificação e inspeção dos locais de deposição de pólen em seus corpos com o auxílio de lente de mão e estereomicroscópio. Os espécimes testemunho foram depositados na coleção entomológica do Laboratório de Biologia Floral e Reprodutiva do Departamento de Botânica da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE).

2.5. Sistema reprodutivo

Para análise do sistema reprodutivo, foram realizados no campo os experimentos de autopolinização manual, polinização cruzada e verificação de agamospermia (Radford et al., 1974). A autopolinização manual consistiu no isolamento das plantas férteis com sacos de *voile*, sendo os botões em pré-ântese submetidos à autopolinização no dia seguinte por ocasião do início da ântese. O pólen de uma flor foi colocado manualmente no estigma da mesma flor, através da fricção das anteras deiscientes nas áreas receptivas dos estigmas com o auxílio de uma pinça. A polinização cruzada foi feita encobrindo-se as plantas férteis, cujos botões foram previamente emasculados e submetidos à polinização no dia seguinte. Neste experimento, flores provenientes de indivíduos de outra estação foram utilizadas como doadoras de pólen na proporção de 1:1. Para verificar a existência de agamospermia, botões em pré-ântese foram emasculados, sendo as plantas isoladas com sacos de *voile*.

Paralelamente, com o objetivo de avaliar a ocorrência de mecanismos de auto-incompatibilidade e tempo de crescimento dos tubos polínicos em cada tratamento, foram feitas análises do crescimento de tubos polínicos. Efetuaram-se 30 polinizações para cada tratamento e controle ($N = 30$ indivíduos por tratamento, $N_{total} = 90$ indivíduos), sendo dez pistilos coletados por tratamento em três diferentes horários: 8, 24 e 48h, após a polinização. Na ocasião da coleta, os pistilos foram acondicionados em tubos de Ependorf contendo FAA (formol 5%, ácido acético 5% e etanol 70%, 5:5:90). A preparação do material seguiu Martin (1959) e as observações foram feitas sob microscopia ótica de fluorescência. Foram contados

os primeiros 200 óvulos de cada ovário, quanto à presença ou ausência de penetração de tubos polínicos.

2.6. Sistema de polinização

Para análise do sistema de polinização, foram realizados no campo os experimentos de exclusão de vento (que também exclui insetos), exclusão de insetos e controle para análise dos vetores atuantes na polinização, vento ou insetos. Para o experimento de exclusão de vetores bióticos foram usados protetores de madeira vazados (dimensões 20 cm de comprimento, 15 cm de largura e 15 cm de altura), sobre cada indivíduo fértil, envoltos em tela de nylon de 0,5mm de abertura. A tela impediu o acesso dos visitantes florais, mas permitiu a passagem do vento. O experimento de exclusão do vento diferiu do anterior pelo uso de sacos de voile (0,02mm de abertura) sobre os protetores, ao invés da tela, restringindo a passagem de ambos, vento e visitantes florais. O controle consistiu na marcação, observação e acompanhamento de 30 indivíduos selecionados ao acaso nas três estações de estudo, sendo que estes permaneceram expostos a todos os vetores de pólen atuantes.

Para todos os experimentos do sistema reprodutivo e sistema de polinização foram marcados entre 50 e 100 indivíduos por tratamento, selecionados ao acaso, sendo utilizadas até o máximo de três flores por indivíduo para cada tratamento. A formação e o desenvolvimento dos frutos foram acompanhados semanalmente. Os frutos maduros foram coletados e acondicionados separadamente em tubos de Ependorf de 2ml com etanol 70%. A contagem das sementes foi feita com o auxílio de estereomicroscópio, papel milimetrado e contador manual. As sementes de cada fruto foram distribuídas uniformemente em lâminas histológicas contendo duas gotas de solução de ácido láctico e glicerol (3:1).

A densidade das flores por unidade de área foi verificada utilizando-se um quadrado de madeira de 10 x 10 cm (0,10 m² de área), a partir do qual foi feita a contagem manual das flores de 34 indivíduos (agrupamentos) de *A. richardiana* selecionados ao acaso na população. O quadrado foi lançado no centro de cada agrupamento, sendo a densidade de flores contada com auxílio de contador manual com esforço variando entre cinco a dez minutos por indivíduo.

Para verificar a ocorrência de pólen transportado pelo vento em *A. richardiana*, foram instalados dez coletores de vidro circulares de 10 cm de diâmetro por 2 cm de altura, contendo 2 ml de glicerina cada. As distâncias em que os coletores foram instalados em dez agrupamentos da espécie selecionados ao acaso na população, variaram entre 10 e 20

centímetros. Os coletores foram colocados as 5:00h e retirados as 17:00. O material proveniente dos coletores foi depositado em tubos de Ependorf. No laboratório, o material foi repassado para tubos de ensaio, centrifugado em velocidade de 4.000 rotações/min por 10 minutos, retirado o sobrenadante e acrescido 1 ml de água morna. Este procedimento foi repetido duas vezes até que só restasse a água. O material no fundo do tubo de ensaio foi coletado com o auxílio de gelatina para posterior montagem em lâminas para verificação da presença dos grãos em microscópio óptico.

2.7. Análises estatísticas

A normalidade dos dados dos sistemas reprodutivo e de polinização, assim como dos dados de morfometria floral foram testados com o Teste de Shapiro-Wilk e a homocedasticidade com o Teste de Levene. Uma ANOVA um fator com Teste de Tukey *post hoc* foi usada para testar a hipótese de maior sucesso reprodutivo em cruzamentos do tipo xenogamia em *A. richardiana*, assim como na detecção de diferença significativa no número de sementes produzidas nos experimentos do sistema de polinização. Para verificar a existência de diferença significativa dos dados morfométricos das partes florais de *A. richardiana* foi utilizado o Teste T. A Correlação de Spearman foi utilizada para verificar a existência de correlação entre o número de flores produzidas pela espécie e a diminuição da precipitação na localidade (Ayres et al., 2003). Em todos os testes o nível de significância assumido foi $\alpha = 5\%$ ($p \leq 0.05$). As análises foram feitas com o auxílio do programa computacional BioEstat® versão 3.0.

2.8. Espécimes-testemunho

Material botânico das populações estudadas foi herborizado e depositado no Herbário Geraldo Mariz da Universidade Federal de Pernambuco (UFP 44879 e 47768) como espécimes-testemunho.

3. Resultados

3.1. Características gerais e fenologia

Apinagia richardiana é uma erva submersa fixa obrigatória anual ou perene e no Rio Pirangi está restrita a trechos de cachoeiras e corredeiras de fundo rochoso granítico (Fig. 2A e B). Cada indivíduo possui comprimento médio de 345,09 mm ($\pm 173,78$ mm, $N = 30$) e crescimento vegetativo na fase submersa em padrão dicotômico de produção de ramos (Fig. 2C). Os espécimes adultos, em fase de pré-floração, podem sustentar de 2 a 27 ramos ($\bar{x} = 14,9 \pm 7,54$, $N = 30$). Cada ramo possui entre 24,92 e 164,25 mm de comprimento ($\bar{x} = 72,42 \pm 34,93$ mm, $N = 37$) e portam nas extremidades, folhas membranáceas e translúcidas de formato rombiforme a retangular, as quais podem exibir matizes coloridas variando do vermelho ao verde-claro.

Os agrupamentos de *A. richardiana* se dispõem sobre rochas e troncos submersos em padrão de distribuição aparentemente aleatório, sendo raramente encontrados indivíduos isolados. Na área de estudo, *A. richardiana* forma densas comunidades com *Mourera fluviatilis* Aubl. e *Tristicha trifaria* (Bory ex Willd.) Sprengel (Fig. 2D.). Estas três Podostemaceae sincronopátricas são as únicas macrófitas submersas na localidade.

Os resultados morfométricos e merísticos de *A. richardiana* estão sumarizados na tabela 1. A floração populacional de *A. richardiana* teve duração de cerca de três a quatro meses nos dois episódios reprodutivos observados. Tanto em 2007, quanto em 2008, a floração iniciou em outubro, estendendo-se até meados de janeiro, correspondendo ao período de menor precipitação na região (Fig. 3A), existindo correlação significativa entre floração e diminuição da precipitação tanto em 2007 ($r_s = -0,7804$, $p = 0,0010$), quanto em 2008 ($r_s = -0,7382$, $p = 0,0147$). O período de floração individual de *A. richardiana* alternou entre períodos de oito dias até cerca de cinco a seis semanas (Fig. 3B).

Foram identificadas cinco fenofases em *A. richardiana* (I) Fase submersa. Presença de ramos talóides de crescimento simpodial que portam folhas em suas extremidades. Nessa fase, os ramos talóides encontram-se fixos às raízes (figs. 4A e 2D). (II) Início de fase emersa. Redução do limbo foliar e surgimento de gemas florais axilares e basais no corpo talóide, próximo a raiz (Fig. 4B). (III) Início de floração. Restante do limbo foliar e parte dos ramos talóides em ambiente aéreo. Presença de botões florais desenvolvidos. Rompimento da espatela em alguns botões emersos (Fig. 4C). (IV) Pico de floração. Presença maciça de flores, frutos sendo formados nos ramos emersos primeiramente (Fig. 4D). (V) Frutificação. Ramos talóides reduzidos a feixes vasculares ressecados (Fig. 4E). Primeiras cápsulas formadas em deiscência. A figura 4F corresponde às plantas mortas e ao banco de sementes.

Cada ramificação de *A. richardiana* abre em média $8,57 \pm 8,21$ flores ($N = 37$ indivíduos) diariamente, numa seqüência de antese da base para o ápice do ramo e variação de

1 a 45 flores/dia (Fig. 5A). O período de floração por ramo (Fig. 5B) varia entre 2-8 dias ($\bar{x} = 4,43 \pm 1,84$, $N = 37$). As ramificações de um mesmo indivíduo podem florescer e frutificar sincronicamente ou sequencialmente com produção de flores, variando entre uma e 102 flores (Fig. 5C). Entretanto, foi verificado que cada indivíduo pode manter-se em floração entre 8-92 dias ($N = 58$). A dispersão dos diásporos e o estabelecimento das plântulas ocorrem concomitantemente ao período de floração. Após a floração, os espécimes de *A. richardiana* permanecem entre 8-90 dias ($\bar{x} = 38,3 \pm 16,03$, $N = 30$) frutificados. As últimas cápsulas puderam ser observadas até meados de fevereiro de 2008. Posteriormente, o que pode ser visto é a acumulação das plantas adultas mortas e de matéria orgânica alóctone do rio, onde outrora se encontravam os agrupamentos, compondo o banco de sementes. A liberação das sementes se dá próxima às plantas progenitoras. Secundariamente, estas podem ser dispersas a curtas distâncias pelo vento ou pela água. Registrou-se a presença de plântulas crescendo vigorosamente em trechos ao longo das margens rochosas que permaneceram submersas mesmo durante a estação seca pronunciada.

3.2. Morfologia e biologia floral

Os resultados morfométricos e merísticos dos botões, flores, partes florais, grãos de pólen e frutos, assim como número de grãos de pólen por antera, por flor e razão pólen-óvulo estão sumarizados nas tabelas 2 e 3. Os botões de *A. richardiana* se desenvolvem de gemas localizadas ao longo da base e das ramificações simpodiais - bifurcações - do corpo talóide da planta. O botão encontra-se envolvido por uma espatela membranácea, de formato oval, infundibuliforme ou irregular (Fig. 6A e B). A espatela tem como função proteger o botão da água e de choques mecânicos antes da ântese da flor, não persistindo no fruto (Fig. 6C). O pedicelo no botão apresenta comprimento médio de $2,42 \pm 0,74$ mm ($N = 30$), aumentando para $11,26 \pm 2,98$ mm ($N = 20$) na flor em ântese, sendo que esses valores apresentam diferença significativa entre si ($t = 15,3898$, g.l. = 47, $p = 0,0000$). Esse aumento provoca o rompimento da espatela, permitindo a exposição da flor aos agentes polinizadores, marcando o início da ântese. No botão, o pedicelo possui coloração branca a acinzentada, enquanto que na flor em ântese varia do verde-claro ao marrom-claro.

As flores de *A. richardiana* (Fig. 6A e Fig. 7) são zigomorfas, hermafroditas com perigônio formado por 2 a 5 tépalas dispostas em verticilo incompleto. As tépalas possuem coloração idêntica a do pedicelo e podem apresentar formato triangular, lanceolado ou falciforme, sendo este último menos comum. O ovário é súpero e bilocular de formato

globoso a subcilíndrico, apresentando coloração verde oliva na base, mudando para marrom-avermelhado ou verde-escuro à medida que se aproxima da região estilar dos lobos estigmáticos. O estigma é formado por dois lobos estigmáticos cilíndricos, unidos nos botões, mas separados nas flores em ântese por uma distância média de $1,48 \pm 0,80$ mm ($N = 35$). Estes se encontram receptivos simultaneamente logo após o rompimento da espatela, antes da deiscência das anteras, demonstrando breve protoginia.

Os estames se dispõem em verticilo incompleto em número de dois a cinco, alternos com as tépalas. Os filetes das flores em ântese exibem coloração amarelada e alcançam comprimento médio de $4,15 \pm 0,54$ mm ($N = 29$), excedendo o comprimento médio dos filetes nos botões que é de $1,52 \pm 0,52$ mm ($N = 20$), sendo que estes valores apresentam diferença significativa entre si ($t = 35,8204$, g.l. = 139, $p = 0,0000$). O aumento no comprimento dos filetes permite que os estames se mantenham no mesmo nível das áreas de receptividade estigmática ou acima destas em média $0,46 \pm 0,07$ mm ($N = 20$). As anteras são cordatas ou sagitadas, têm deiscência longitudinal e liberação introrsa de pólen, apresentando coloração amarela que muda para branca, durante a deiscência. No botão, as anteras encontram-se adjacentes aos filetes, mudando para uma posição perpendicular aos filetes durante a ântese da flor. Posteriormente, as anteras voltam à posição original durante a liberação de pólen que ocorre entre duas e meia a três horas depois de iniciada a ântese. O desenvolvimento da ântese floral inevitavelmente tem como consequência a autopolinização da flor no final da ântese, com os estigmas tocando as áreas de receptividade estigmática (Fig. 7). *Apinagia richardiana* possui grãos de pólen esferoidais em mônades tricólpadas com escultura da exina reticulada (Fig. 8), cuja viabilidade nas flores em pré-ântese é de 98,2% ($N = 10$). Os dados de disponibilidade de pólen (tabela 4), evidenciam acentuada diminuição no número de grãos de pólen desde o início da deiscência das anteras até o final da ântese.

A ântese de *A. richardiana* dura entre 12-18 horas e tem início em horários variados ao longo do dia. No entanto, a maioria das flores encontra-se aberta entre 5:00-5:30h, e outras no decorrer do dia, até o entardecer. As flores que iniciam a ântese no fim da tarde, já se encontram receptivas por volta das 5:00h da manhã do dia seguinte. Embora não seja percebido odor nas flores, puderam-se observar áreas coradas pelo vermelho neutro, como tépalas, espatelas e extremidades anteriores das anteras em suas porções apicais.

O murchamento dos filetes e tépalas, deiscência plena das anteras, ausência de pólen, ligeiro intumescimento e surgimento de nervuras longitudinais no ovário, sinalizam o início da senescência da flor e da frutificação. A identificação das flores que abriram no dia anterior

pode ser feita pela diminuição no número de estames e seu aspecto ressecado, murchamento e ressecamento dos lobos estigmáticos e mudanças na coloração do ovário, tornando-se fosca.

O ovário começa a adquirir aspecto de fruto, cerca de dois a três dias após o início da senescência da flor. Os filetes, tépalas e lobos estigmáticos ressecados e distorcidos podem persistir no fruto. O fruto é seco do tipo cápsula (Fig. 6C) com seis ou oito nervuras longitudinais no exterior do epicarpo, que se tornam gradualmente proeminentes no decorrer da maturação do fruto. Entre 15-20 dias após a ântese, as cápsulas iniciam a deiscência que é longitudinal a partir dos pontos de inserção entre duas nervuras adjacentes. As valvas da cápsula se desprendem e se enrolam, permitindo a liberação das sementes (Fig. 7H).

3.3. Visitantes florais

As observações dos visitantes florais perfizeram um total de 50 horas. De maneira geral, pôde-se perceber que os insetos visitantes foram pouco freqüentes e mesmo ausentes durante a maior parte do período de floração. As visitas às flores ocorreram ao longo do dia com maior freqüência registrada para o período da manhã (Fig. 9A).

Apinagia richardiana foi visitada por seis espécies de insetos entre abelhas, moscas e libélulas. Dentre as abelhas, duas espécies pertencem à família Halictidae, gêneros *Augochlora* sp. e *Augochloropsis* sp. e *Apis mellifera* Lepeletier, 1836 da família Apidae. *Apis mellifera* iniciou às atividades de visitas às flores a partir das 7:00h, quando após um vôo de reconhecimento sobre as flores, esses insetos pousavam prontamente sobre os estames. O peso da abelha frequentemente provocava o deslocamento da flor em função do dobramento do pedicelo, tendo como conseqüência desse movimento o lançamento dos grãos de pólen evidenciado pela formação de pequenas nuvens de pólen. As visitas por flor duravam cerca de cinco a dez segundos, sendo o pólen coletado com as pernas anteriores, transferido para as pernas medianas e depositado nas corbículas localizadas nas pernas posteriores, tendo sido raramente observado em outra parte do corpo da abelha.

Augochlora sp. e *Augochloropsis* sp. iniciavam suas atividades nas flores por volta das 7:00h, pousando sobre os estames sem nenhum vôo de reconhecimento. *Augochlora* sp. permaneceu entre 20 e 30 segundos em cada flor, deslocando-se em seguida para outras flores do mesmo indivíduo, tendo sido raramente observada indo para outros indivíduos próximos de *A. richardiana*. Grãos de pólen aderidos ao abdômen e pernas posteriores foram vistos com freqüência sendo depositados nas áreas de receptividade estigmática. *Augochloropsis* sp. permaneceu cerca de dez a 15 segundos nas flores, deslocando-se por todas as anteras de uma

mesma flor e todas as flores de um mesmo indivíduo, propiciando freqüentemente a deposição de pólen sobre os estigmas.

Apenas uma espécie de mosca, *Tabanus* sp. (Tabanidae, Diptera), foi observada sobre as flores em ântese, permanecendo a maior parte do tempo parada sobre estas, indicando papel irrelevante na transferência de pólen entre as flores. Duas espécies de libélulas (Caegriionidae, Odonata) foram visitantes constantes às flores de *A. richardiana*, mas o comportamento de ambas, a maior parte do tempo imóveis, não indica que estes insetos atuem como vetores de pólen. No entanto, em ocasião de seu pouso nas flores e durante interações agonísticas constantes entre os representantes da mesma espécie, esses insetos provocavam estímulos físicos nas flores, promovendo deslocamento de grãos de pólen até flores próximas.

3.4. Sistema reprodutivo

Os resultados do sucesso na formação de frutos e número de sementes produzidas nos tratamentos para análise do sistema reprodutivo estão sumarizados na tabela 5. *Apinagia richardiana* apresenta elevado sucesso na formação de frutos, acima de 94% nos tratamentos do sistema reprodutivo e no controle. Entretanto, na agamospermia, as cápsulas não formaram sementes, uma vez que todos os óvulos abortaram (tabela 5).

O índice de auto-incompatibilidade – ISI – foi de 0,94, o índice de autopolinização automática – IAS – foi igual a um (*sensu* Zapata and Arroyo, 1978) e a razão pólen-óvulo (*sensu* Cruden, 1977) foi de $291 \pm 49,8$ ($N = 10$). A espécie é autocompatível não havendo diferença significativa na produção de sementes entre os tratamentos do sistema reprodutivo e entre estes e o controle ($F = 2,6576$, g.l. = 2, $p = 0,0710$). Os experimentos de crescimento do tubo polínico evidenciaram que na autopolinização manual 48h, o tubo cresce e penetra a micrópila do óvulo (Fig. 10) em menos tempo que na xenogamia e no controle, pois nos demais horários – oito e 24 horas - não foram encontrados óvulos penetrados com exceção da autopolinização manual. Isso sugere que, além da ausência de mecanismos de auto-incompatibilidade, a autofecundação pode estar sendo favorecida como estratégia reprodutiva.

3.5. Sistema de polinização

Os resultados do sucesso na formação de frutos e de sementes, amplitude, média e desvio padrão do número de sementes dos experimentos de exclusão de vento e insetos e do controle estão sumarizados na tabela 5.

Verificou-se elevado sucesso na formação de frutos nos experimentos de exclusão de vento e insetos, além do controle em *A. richardiana*, acima de 94% (tabela 5). No entanto, não houve diferença significativa na produção de sementes entre os diversos tratamentos do sistema de polinização e entre estes e o controle ($F = 0,1368$, g.l. = 2, $p = 0,8724$). A densidade de flores por $0,10\text{m}^2$ é $111,35 \pm 40,01$ ($N = 34$) e a velocidade do vento variou entre 4,58-45,52 m/s ($\bar{x} = 18,62 \pm 19,29$, $N = 4$ meses) em 2007 e 48,65-51,1 m/s ($\bar{x} = 50,29 \pm 1,11$, $N = 4$ meses) em 2008 durante a época de floração de *A. richardiana* (Fig. 11). Foram encontrados grãos de pólen de *A. richardiana* em todas as lâminas produzidas a partir dos coletores com glicerina, sugerindo a ocorrência de fluxo de pólen local entre os indivíduos.

4. Discussão

A correlação positiva significativa entre o número de indivíduos floridos e a diminuição da precipitação durante episódios reprodutivos consecutivos, indicam a influência da precipitação na floração de *A. richardiana*. Por sua vez, a menor incidência de chuva na estação seca propicia o refluxo das águas do Rio Pirangi, a emersão das plantas e a exposição de suas flores ao ar. Em espécimes submersos (fenofases I e II) apesar do adiantado desenvolvimento dos botões florais, estes ainda encontram-se dentro da espatela. Apenas em espécimes emersos (fenofase III e IV), as flores rompem a espatela, expondo-se ao ambiente aéreo. Nossas evidências sugerem, portanto, que a redução do nível das águas na estação seca é o estímulo ambiental primário que desencadeia a floração de *A. richardiana* no Rio Pirangi, semelhante ao observado em *Mourera fluviatilis* no mesmo local (Sobral Leite et al., *in prep.*).

Opler et al. (1976) e Rathcke & Lacey (1985) explicam que, em plantas terrestres, fatores ambientais como estresse hídrico, mudanças de temperatura e fotoperíodo relacionam-se à floração por demarcar estações que afetam a produção de flores e/ou disponibilidade de polinizadores. De acordo com Sculthorpe (1967), embora sejam macrófitas submersas, as Podostemaceae tem flores aéreas que encontram durante o período da vazante dos rios a oportunidade de serem polinizadas pelo vento e, ou por insetos. Dessa forma, embora *A. richardiana* seja aquática, a emersão de suas flores, durante a baixa do rio, indica que sua polinização independe da água.

A influência da precipitação-nível das águas na floração e mudança das fenofases em *A. richardiana* indica a adoção da estratégia fenológica anual e regular (*sensu* Newstrom et al., 1994) pela espécie, corroborando nossa hipótese (i). Registros de floração anual em

Podostemaceae, associada à diminuição do nível dos rios a partir de evidências pontuais, são freqüentes na literatura (e.g. Willis, 1902; Van Royen, 1951; Rutishauser, 1997; Philbrick & Novelo, 1998).

Grubert (1974; 1991) observou que a formação dos botões e a floração das Podostemaceae do rio Caroni, Amazônia venezuelana, foram associadas à precipitação e a profundidade da água em relação às plantas na estação seca. Grubert (1974) associa profundidade da água a estágios de desenvolvimento floral até a emersão dos espécimes e floração em *Mourera fluviatilis*, *Apinagia multibranchiata*, *Rhyncholacis penicillata* e *Weddellina squamulosa*. Suas informações indicam o caráter anual do ciclo fenológico nestas Podostemaceae, semelhante ao verificado em *A. richardiana*. Newstrom et al. (1994) esclareceram que o padrão anual caracteriza-se como o mais regular e consistente dos padrões fenológicos, tanto em nível populacional, quanto individual.

Devido à expressiva produção de flores concentrada em períodos de dois a oito dias até cerca de cinco a seis semanas, *A. richardiana* enquadra-se no padrão fenológico explosivo em nível individual (*sensu* Gentry, 1974). Gentry (1974) e Augspurger (1983) comentam que em espécies com padrão explosivo, a floração ocorre na estação seca com marcada sincronização entre os indivíduos, de maneira que, o florescimento populacional dura poucos dias. Apesar disso, verificamos um marcado assincronismo entre alguns espécimes e agrupamentos de *A. richardiana* em função da ampla heterogeneidade topográfica do leito rochoso. Rochas em diferentes profundidades, trechos convexos e sulcos permitem o aporte de água em pontos do rio ou sua supressão, influenciando negativamente a sincronia intra-populacional entre as fenofases, agindo como fator secundário sobre a fenologia. Dessa forma, espécimes em flor de *A. richardiana* podem ser encontrados na localidade durante três a quatro meses. Este período de floração e o número de flores produzidas classificam a espécie no padrão fenológico cornucópia em nível de população (*sensu* Gentry, 1974).

De acordo com Grubert (1991) e Rutishauser & Grubert (2000) as Podostemaceae do baixo Rio Caroni, florescem apenas durante a estação seca, que dura de outubro a março. De setembro a dezembro, período correspondente à estação seca, as espécies do Salto de Piracicaba em São Paulo, *Wettsteiniola accorsii*, *Crenias weddelliana*, *Tristicha trifaria* e *M. aspera* são encontradas em flor (Accorsi, 1946). Para *Marathrum rubrum*, endêmica do México, a floração corresponde à época da estiagem que vai de março a maio (Philbrick & Novelo, 1998). As espécies indianas *Indotristicha ramosissima*, *Polypleurum stylosum* e *Griffithella hookeriana* começam a florescer em setembro e continuam até dezembro, época que corresponde a estação seca (Rutishauser & Huber, 1991; Khosla et al., 2000; 2001). Em

contraste aos períodos de florescimento populacional apresentados por estas espécies, em nível individual, a floração varia entre um e dois dias (Grubert, 1991; Accorsi, 1944; 1946; 1951), sugerindo outros fatores atuantes na fenologia das Podostemaceae, além da relação precipitação-nível das águas.

Accorsi (1944; 1946; 1951) observou que, em virtude da configuração irregular do bloco rochoso diabásico sobre o qual as Podostemaceae se desenvolvem, as espécies apresentam desenvolvimento fenológico compatível com a exposição ao ambiente aéreo. Em função do grau de exposição, têm-se diferentes estágios de submersão, florescimento e frutificação no mesmo período. Grubert (1991) explica que mesmo durante a estação seca pronunciada no Caroni, nos pontos em que a água continua correndo sobre sulcos na rocha, podem ser encontradas Podostemaceae ainda vegetativas e em floração. Os dados mostram que o tempo de floração populacional em Podostemaceae, mesmo diante de ampla distribuição geográfica das espécies, é semelhante ao verificado em *A. richardiana*. Estas informações sugerem que pressões seletivas análogas e sutis podem estar atuando, a exemplo da conformação topográfica do leito rochoso, influenciando a velocidade e o ritmo dos ciclos fenológicos intra-populacionais em Podostemaceae.

Apesar das altas taxas na formação de frutos e sementes entre os tratamentos do sistema de polinização e estes não apresentarem diferenças significativas entre si (ver tabela 5), evidências sugerem tendência anemófila em *A. richardiana*. Grãos de pólen obtidos através da coleta por recipientes contendo glicerina instalados próximos aos agrupamentos, evidenciaram o fluxo polínico anemófilo local em *A. richardiana*. Sincronia fenológica, baixa frequência de visitantes florais, crescimento agrupado, elevada densidade de flores são atributos anemófilos (Whitehead, 1969; Stebbins, 1970; Regal, 1982; Crane, 1986; Endress, 1994) encontrados em *A. richardiana*.

Endress (1994) reconhece que a floração em massa e sincrônica é uma estratégia relacionada às plantas polinizadas pelo vento, à exemplo das espécies anemófilas de Poaceae e Cyperaceae. Esta estratégia também se relaciona à polinização por insetos oportunistas cujo comportamento de forrageio denso dependente os incita à prospecção de novas flores (Gentry, 1974; Opler et al., 1976; Augspurger, 1983). Entre estes insetos, reconhecem-se abelhas Apidae e Halictidae como *Apis mellifera*, *Augochlora* sp. e *Augochloropsis* sp. (Gentry, 1974; Augspurger, 1983) observados como visitantes florais de *A. richardiana*. Entretanto, a baixa frequência de visitas às flores de *A. richardiana* por estas abelhas, limitadas ao período de floração da Podostemaceae sincronopátrica *Mourera fluviatilis* (Sobral Leite et al., *in prep.*) sugere seus papéis de polinizadores ocasionais apenas durante este período. Segundo Rathcke

& Lacey (1985), a sincronopatria pode ser vantajosa se alguma facilitação ocorrer entre espécies que partilham da mesma guilda de visitantes florais, como por exemplo, o aumento na frequência de visitas e consequentemente dos níveis de alogamia intra-específica. Nossas observações indicam que é o que ocorre entre *Apinagia richardiana* e *Mourera fluviatilis*, onde a visitas de insetos as flores da primeira espécie ocorrem até o período do pico de floração da segunda, sugerindo maior alogamia por vetores bióticos em *A. richardiana* durante este período.

Apesar de insetos aquáticos não serem atraídos às flores em busca de pólen e néctar (Mukkada, 1969; Philbrick & Les, 1996.), os registros de frequência e comportamento de libélulas em *A. richardiana* representam dados interessantes. O comportamento e a frequência das duas espécies de libélula (Odonata: Caegrionidae) em *A. richardiana* sugere seus papéis potenciais indiretos na polinização por provocarem deslocamento mecânico das flores, ocasionando dispersão de pólen em flores próximas.

Mukkada (1969) relata que quando as flores de *Dalzellia zeylanica* são mecanicamente perturbadas por insetos aquáticos, massiva quantidade de grãos de pólen seco é dispersa pelo vento, sendo essa provavelmente a forma de polinização da espécie. De forma semelhante às flores de *A. richardiana*, as flores de *D. zeylanica* não apresentam coloração vistosa, aromas ou nectários necessários à atração de animais polinizadores (Faegri & Pijl, 1979; Endress, 1994). Philbrick & Les (1996) explicam que insetos aquáticos têm histórias de vida vinculadas a plantas aquáticas, usando suas flores para acasalamento, abrigo e proteção contra predadores. Esses autores acreditam que estes organismos podem desempenhar parte importante da polinização de plantas aquáticas e exercer pressões seletivas sobre sua evolução floral. Nossas observações corroboram essa hipótese e sugerem que os insetos aquáticos encontrados desempenham papel na polinização de *A. richardiana*.

Whitehead (1969) e Regal (1982) comentam que a curta distância entre co-específicos e a elevada densidade de flores por unidade de área facilitam o fluxo polínico pelo vento entre os indivíduos, aumentando as chances de polinização. De acordo com Cox (1983) a anemofilia é um mecanismo abiótico de transferência de pólen inerentemente desperdiçador, e, por essa razão, a proximidade entre os indivíduos diminuiria as perdas de pólen transportado randomicamente. Para Accorsi (1951) o crescimento agrupado de *Crenias weddelliana* e *Wettsteiniola accorsi*, aliado a ausência de insetos, elevada densidade de flores e presença abundante de pólen dispersável pelo ar, são indícios de anemofilia nestas Podostemaceae. Philbrick & Novelo (1998) obtiveram através da emasculação e exposição

das flores de *Marathrum rubrum*, formação de sementes, mostrando que a anemofilia, aliada à autogamia, encontra-se entre os sistemas de polinização em Podostemaceae.

Atributos ambientais relacionados à polinização pelo vento, tais como ocorrência em áreas abertas, com baixa diversidade de espécies e velocidade do vento superior a 10 m/s na estação seca (Whitehead, 1969; Endress, 1994; Philbrick & Novelo, 1998) são encontrados na localidade de *A. richardiana*. Endress (1994) comenta que a anemofilia é mais proeminente em ambientes secos ou periodicamente secos, desde que chuvas não impeçam a dispersão do pólen pelo ar. Para Philbrick & Novelo (1998) rios tropicais de corredeiras e cachoeiras são ambientes favoráveis à polinização pelo vento, uma vez que são áreas abertas na estação seca, onde o refluxo das águas é o estímulo para floração em massa.

Em contraste às inferências de que as espécies de *Apinagia* têm flores melitófilas (Grubert, 1974; Rutishauser, 1997; Rutishauser & Grubert, 2000; Okada & Kato, 2002), as flores de *A. richardiana* exibem atributos favoráveis à anemofilia e à autogamia em detrimento à entomofilia. Ausência de perianto vistoso, odor perceptível, néctar e presença de pólen seco e pulverulento são atributos florais associados à polinização abiótica (Faegri & Pijl, 1979; Proctor et al., 1996). Passarelli et al. (2002) discutem que o transporte de pólen mediado por insetos em *A. glaziovii*, *A. riedelii* e *A. yguazuensis* é improvável, em função das dimensões das flores, perigônio inconspícuo e ausência de odores, refletindo sua baixa atratividade. A respeito do baixo número de grãos de pólen produzidos, aliado aos outros atributos florais, essas autoras presumem que a autogamia seja o modo de polinização destas espécies. De fato, os valores de razão-pólen óvulo (*sensu*, Cruden, 1977) apresentados neste trabalho para *A. richardiana* a classificam como autógena, e este resultado confirma nossas observações sobre ocorrência de autofertilização na espécie.

Relatos da visita de abelhas em *Apinagia* spp. restringem-se aos táxons cujas flores tem odores melitófilos, estames em verticilo completo e filetes e pedicelos de cores vistosas como lilás e rósea (Went, 1926, Gesner & Hammer, 1962; Grubert, 1974; Passarelli et al., 2002). Gesner & Hammer (1962) e Grubert (1974) observaram *Trigona* (*Tetragona*) *clavipes* (Apidae, Meliponinae) visitando flores de *A. exilis* e *A. multibranchiata*, táxons cujos caracteres florais os enquadram entre as Podostemaceae entomófilas (Willis, 1902; Rutishauser 1997).

Deiscência introrsa das anteras, androceu no mesmo nível ou superior ao gineceu e ampla área de receptividade estigmática, permitem que o pólen seja liberado sobre as áreas receptivas no final da ântese, tornando inevitável a autofertilização em *A. richardiana*. Deste modo *A. richardiana* pode ser considerada autógena tardia (*sensu* Lloyd & Schoen, 1992). O

fato do número de frutos e sementes formados nos experimentos do sistema reprodutivo não apresentarem diferença significativa entre si, também apóiam autopolinização na espécie. Jäger-Zürn (1997) cita que a produção de sementes controle em *Weddellina squamulosa* (Subfamília Weddellinoideae) ser freqüentemente de 100% é evidência de sua morfologia favorável à autogamia e de autocompatibilidade. Rutishauser (1997) reporta que autogamia em Podostemaceae parece ser típica na subfamília Tristichoideae devido à morfologia floral favorável a autopolinização e a aparente ausência de mecanismos de auto-incompatibilidade. A partir de inferências baseadas em razão pólen-óvulo, Okada & Kato (2002) concluíram que representantes de Weddellinoideae e Tristichoideae seriam autógamos e cleistógamos, enquanto Podostemoideae seriam autógamos, cleistógamos e alógamos. Para estes autores o grupo formado por *Apinagia*, *Mourera* e *Rhyncholacis* seria predominantemente alógamo polinizado por abelhas. O crescimento profuso dos tubos polínicos e a penetração destes nas micrópilas dos óvulos em todos os experimentos do sistema reprodutivo em *A. richardiana*, expressam ausência de mecanismos de autoincompatibilidade. Segundo Heslop-Harrison et al. (1975) mecanismos de autoincompatibilidade expressam-se como falhas na germinação ou crescimento anormal do tubo polínico acompanhado da inabilidade de entrar no estigma e iniciar crescimento no estilete. Autogamia é interpretada como a forma de reprodução sexuada relacionada a ambientes cujas oportunidades de ocorrência de polinização cruzada biótica sejam restritas (Stebbins, 1957; Lloyd & Schoen, 1992; Sculthorpe, 1967; Philbrick & Les, 1996). A autogamia é amplamente reconhecida como forma de reprodução sexual predominante em plantas aquáticas (Sculthorpe, 1967; Philbrick & Les, 1996).

É interpretada como resposta a: situações ecológicas desfavoráveis a polinização cruzada (Stebbins, 1957; Lloyd & Schoen, 1992; Philbrick & Les, 1996; Philbrick & Novelo, 1995; 1998), conservação de complexos genéticos adaptados (Les, 1988; Lloyd & Schoen, 1992) e estabilidade ambiental (Cruden, 1977; Les, 1988). Les (1988) e Philbrick & Les (1996) reconhecem estabilidade ambiental não somente em termos de características de variação de curto prazo, mas também em termos evolutivos. Nesse sentido, estabilidade reflete consistentemente características ambientais previsíveis em longo prazo (Les, 1988; Philbrick & Les, 1996). Para estes autores, as Podostemaceae ilustram este conceito, pois crescem em rios tropicais, que embora a intensa correnteza a que estão submetidas pareça ecologicamente instável, as sazonalmente altas e baixas do nível das águas fazem deste habitat estável.

O movimento de separação dos lobos estigmáticos verificado em *A. richardiana* pode ser percebido em outras Podostemaceae como *Podostemum ceratophyllum* (Philbrick, 1984),

M. rubrum (Philbrick & Novelo, 1998), *Polypleurum stylosum* (Khosla et al., 2000) e *M. fluviatilis* (Sobral Leite et al., *in prep.*). Essa separação dos lobos em Podostemaceae durante a ântese, indubitavelmente propicia o aumento da superfície exposta das áreas receptivas dos estigmas. Esse movimento pode ser interpretado como adaptação que maximiza a fertilização por permitir o aumento do número de grãos de pólen capturados pelos estigmas, independente de que tipo de vetores – bióticos ou abióticos - os tenha transportado ou mesmo mediante autopolinização espontânea. Sabe-se que plantas consideradas anemófilas típicas, e.g. Poaceae (*Zea* spp.), Cyperaceae (*Carex* spp.) e Ranunculaceae (*Thalictrum* spp.), apresentam frequentemente estigmas que aumentam a capacidade de captura de pólen transportado pelo vento (Faegri & Pijl, 1979; Endress, 1994; Proctor et al., 1996). O fato de *P. ceratophyllum*, *M. rubrum* e *P. stylosum*, espécies consideradas primariamente autógamas e possivelmente anemófilas (ver Philbrick, 1984; Philbrick & Novelo, 1998; Khosla et al., 2000) e *M. fluviatilis* que é ambófila (Sobral Leite et al., *in prep.*), apresentarem movimento de separação dos lobos estigmáticos durante a ântese, suporta nossa hipótese.

Utilização de múltiplas estratégias reprodutivas, incluindo autogamia, anemofilia e entomofilia são citadas para Podostemaceae (Mukkada, 1969; Rutishauser, 1997; Okada & Kato, 2002). Mukkada (1969) comenta com base em observações de campo e de morfologia floral que *Dalzellia zeylanica* possivelmente é polinizada pelo vento e insetos. Okada & Kato (2002) e Rutishauser (1997) relatam que *Weddellina squamulosa* apresenta pétalas vistosas atrativas para insetos, ao mesmo tempo em que a autogamia ocorre como consequência da antese floral. Em outras plantas aquáticas também se reconhece utilização dual de vetores de pólen ou tendência evolutiva a mecanismos de polinização co-ocorrentes. Osborn & Schneider (1988) acreditam que a polinização ocasional de *Brasenia schreberi* (Nymphaeaceae) por *Notiphila cressoni* (Diptera, Ephydriidae) e o encurtamento dos estigmas, sugerem mudanças evolutivas da anemofilia para entomofilia nessa macrófita. Sculthorpe (1967) comenta que em *Alisma plantago aquatica* (Alismataceae) a secreção de néctar para atração de moscas e a liberação do pólen de todas as anteras simultaneamente, tornam esta espécie potencialmente anemófila.

Sistemas de polinização bióticos e abióticos são usualmente considerados separadamente em estudos científicos, sendo rara a avaliação de ambos os sistemas (Faegri & Pijl, 1979; Stelleman, 1984a, b; Proctor et al., 1996; Culley et al., 2002). Pode-se deduzir, portanto, que estes sistemas generalistas têm sua ocorrência subestimada (Stelleman, 1984b; Culley et al., 2002). Plantas que utilizam ambos os vetores polínicos são chamadas ambófilas (Stelleman, 1984b; Culley et al., 2002), sendo fenômeno recentemente reconhecido em

distintas famílias de espermatófitas como Cycadaceae (Kono & Tobe, 2007), Eriocaulaceae (Ramos *et al.* 2005) Piperaceae (Figueiredo & Sazima, 2000) Plantaginaceae (Stelleman, 1984a) e Salicaceae (Tamura & Kudo, 2000). Esse reconhecimento tem demonstrado a importância da combinação da entomofilia e da anemofilia em sistemas generalistas de polinização (Culley *et al.*, 2002). Nossos resultados sustentam a hipótese que *A. richardiana* apresenta sistema de polinização generalista relacionado à disponibilidade de vetores de pólen bióticos e vento variáveis, com a autogamia atuando de maneira a garantir a produção de sementes.

5. Conclusões

Apinagia richardiana apresenta padrão fenológico explosivo ou cornucópia em nível individual e cornucópia em nível populacional. As correlações significativas encontradas entre número de indivíduos floridos de *A. richardiana* e o fator ambiental precipitação-nível das águas, evidenciam a adoção pela espécie da estratégia de regularidade fenológica anual e regular. Entre os visitantes florais foram encontradas abelhas poliléticas das famílias Apidae e Halictidae, corroborando nossa hipótese alternativa. *Apinagia richardiana* é autocompatível, porém não houve diferença significativa na produção de sementes entre a xenogamia e os demais tratamentos, refutando parcialmente a nossa hipótese. Os resultados dos experimentos de polinização, aliados aos atributos florais e estruturais sugerem a ocorrência de anemofilia e autogamia, além de alogamia por vetores bióticos, caracterizando a multiplicidade de estratégias reprodutivas empregadas pela espécie, respostas a condições ambientais favoráveis a cada uma destas estratégias reprodutivas.

Agradecimentos

Os autores agradecem ao Sr. J. Campelo e familiares pelo apoio nos trabalhos de campo, a Dra. T.L. Nadia e ao Prof. Dr. A.M.M. dos Santos (UFPE) pelo auxílio com as análises estatísticas, a Msc. P. Gomes (UFPE) e R. Carvalho pelo auxílio na confecção das pranchas, a Profa. Dra. A.S. Tavares (UFPR) pela confirmação na identificação de *A. richardiana*, ao Msc. A. Carvalho (UFPE) pela identificação dos visitantes florais e ao CNPq pela concessão da bolsa de estudos ao primeiro autor.

Referências Bibliográficas

- Accorsi, W.R., 1944. Contribuição para o estudo biológico das Podostemaceae do Salto de Piracicaba I. An. Esc. Super. Agric. Luiz Queiroz 1, 50-106.
- Accorsi, W.R., 1946. Contribuição para o estudo biológico das Podostemaceae do Salto de Piracicaba II. An. Esc. Super. Agric. Luiz Queiroz 3, 399-424.
- Accorsi, W.R., 1951. Contribuição para o estudo biológico e ecológico das Podostemaceae do Salto de Piracicaba III. An. Esc. Super. Agric. Luiz Queiroz 8, 747-768.
- Ameka, G.K., Clerk, G.C., Pfeifer, E. & Rutshauser, R., 2003. Development morphology of *Ledermanniella bowlingii* (Podostemaceae) from Ghana. Plant Syst. Evol. 237, 165-183.
- Augsburger, C.K., 1983. Phenology, flowering synchrony, and fruit set of six neotropical shrubs. Biotropica 15(4), 257-267.
- Ayres, M., Ayres Jr. M., Ayres, D.L. & Santos, A.S., 2003. BioEstat 3.0. Aplicações estatísticas nas áreas das ciências biológicas e médicas. Sociedade Civil Mamirauá / MCT-CNPq / Conservation International.
- Bezuidenhout, A., 1964. The pollen of African Podostemaceae. Pollen Spores 6, 463-478.
- Cavalcanti, D., Tabarelli, M., 2004. Distribuição das plantas Amazônico-Nordestinas no Centro de Endemismo Pernambuco: Brejos de Altitude vs. Floresta de Terras Baixas. In: Pôrto, K.C., Cabral, J.J.P., Tabarelli, M. (Eds.), Brejos de Altitude em Pernambuco e Paraíba. Ministério do Meio Ambiente, Brasília, pp. 285-296.
- Cook, C.D.K., 1988. Wind pollination in aquatic Angiosperms. Ann. Missouri Bot. Gard. 75, 768-777.
- Cook, C.D.K., 1990. Aquatic Plant Book. SPB Academic Publishing, The Hague, The Netherlands.
- Cox, P.A., 1983. Search theory, random motion, and convergent evolution of pollen and spore morphology in aquatic plants. Amer. Naturalist 121, 9-31.
- Crane, P.R., 1986. Form and function in wind dispersed pollen. In: Blackmore, S., Ferguson, I.K. (Eds.), Pollen et Spores. Academic Press, Symposium Series 12, London, pp. 179-202.
- Cruden, R.W., 1977. Pollen-ovule ratios: a conservative indicator of breeding systems in flowering plants. Evolution 31, 32-46.
- Culley, T.M., Weller, S.G., Sakai, A.K., 2002. The evolution of wind pollination in angiosperms. Trends Ecol. Evol. 17, 361-369.
- Dafni, A.; Kevan, P.G. & Husband, B.C., 2005. Practical pollination biology. Enviroquest Ltda Press, Canada.

- Endress, P.K. 1994. Diversity and evolutionary biology of tropical flowers. Cambridge University Press, Cambridge, United Kingdom.
- Erdtman, G., 1969. Handbook of Palynology. Hafner Publishing, New York, USA.
- Faegri, K., Pijl, van der, 1979. The principles of pollination ecology. Pergamon Press, Oxford.
- Figueiredo, R.A. & Sazima, M., 2000. Pollination biology of Piperaceae species in Southeastern Brazil. Ann. Bot. 85, 455-460.
- Galen, C., Plowright, R.C., 1987. Testing the accuracy of using peroxidase activity to indicate stigma receptivity. Can. j. bot. 65, 107-111.
- Gentry, A.H., 1974. Flowering phenology and diversity in tropical Bignoniaceae. Biotropica 6, 64-68.
- Gessner, F., Hammer, L., 1962. Ökologisch-physiologisch Untersuchungen an den Podostemaceen des Caroni. Int. Rev. Gesamten Hydrobiol. 47, 497-541.
- Grubert, M., 1974. Podostemaceen-Studien. Teil 1. Zur Ökologie einiger venezolanischer Podostemaceen. Beitr. biol. pflanz. 50, 321-391.
- Grubert, M., 1991. Ecologia de fanerógamas de saltos tropicales adaptadas en forma extrema. Natúra 91, 54-61.
- Heslop-Harrison, J., Heslop-Harrison, Y. & Barber, J., 1975. The stigma surface in incompatibility responses. Proc. R. Soc. Lond.. B. Biol. sci.. Series B, Biological Sciences 188, 287-297.
- Hoehne, F.C., 1948. Plantas Aquáticas. Instituto de Botânica, São Paulo.
- IBGE 1985. Atlas Nacional do Brasil: Região Nordeste. IBGE, Rio de Janeiro.
- ITEP. 2008. ITEP - Instituto de Tecnologia de Pernambuco. Available online: <<http://www.itep.br/LAMEPE.asp>>. Accessed on 28 Ago 2008, 17:29.
- Jäger-Zürn, I., 1997. Embryological and floral studies in *Weddellina squamulosa* Tul. (Podostemaceae, Tristichoideae). Aquat. bot. 57, 151-182.
- Jäger-Zürn, I., Grubert, M., 2000. Podostemaceae depend on sticky biofilms with respect to attachment to rocks in waterfalls. Int. j. plant sci. 161, 599-607.
- Khosla, C., Moham Ram, H.Y., 1993. Morphology of flower, fruit and seed in *Polypleurum stylosum*. Aquat. bot. 46, 255-262.
- Khosla, C., Shivanna, K.R., Moham Ram, H.Y., 2000. Reproductive biology of *Polypleurum stylosum* (Podostemaceae). Aquat. bot. 67, 143-154.
- Khosla, C., Shivanna, K.R., Moham Ram, H.Y., 2001. Cleistogamy in *Griffithella hookeriana* (Podostemaceae). S. Afr. J. Bot. 67, 320-324.

- Kono, M. & Tobe, H., 2007. Is *Cycas revoluta* (Cycadaceae) wind-or insect-pollinated? *Am. J. Bot.* 94, 847-855.
- Lehner, P.N., 1979. *Handbook of ethological methods*. Garland STPM Press, New York.
- Les, D.H., 1988. Breeding systems, population structure, and evolution in hydrophilous Angiosperms. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 75, 819-835.
- Lobreau-Callenat, D., Thomasbt, A., Suarez-Cervera, M., 1998. Caractères ultrastructuraux du pollen de quelques Podostémales. Affinités avec les Rosidae évoluées. *C. R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie / Life Sciences* 321, 335-345.
- Lloyd, D.G. & Schoen, D.J., 1992. Self-and cross-fertilization in plants. I. Functional dimensions. *Int. j. plant sci.* 153, 358-369.
- Maêda, J.M., 1985. *Manual para uso de Câmara de Neubauer para contagem de grãos de pólen em espécies florestais*. Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
- Martin, F.W., 1959. Standing and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Technology* 34, 125-128.
- Michener, C.D., 1979. Biogeography of the bees. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 66, 277-347.
- Mukkada, A.J., 1969. Some aspects of the morphology, embryology and biology of *Terniola zeylanica* (Gardner) Tulasne. *New Phytol.* 68, 1145-1158.
- Myers, N., Mittermeier, R.A., Mittermeier, C.G., Fonseca, G.A.B., Kent, J., 2000. Biodiversity hotspots for conservation priorities. *Nature* 403, 853-858.
- Newstrom, L.E., Frankie, G.W, Baker, H.G., 1994. A new classification for plant phenology based on flowering patterns in lowland tropical rain forest tree at La Selva, Costa Rica. *Biotropica* 26, 141-159.
- Okada, H., Kato, M., 2002. Pollination systems inferred from pollen-ovule ratios of some species of Podostemaceae. *Acta Phytotax. Geobot.* 53, 51-61.
- Opler, P.A., Frankie, G.W. & Baker, H.G., 1976. Rainfall as a factor in the release, timing, and synchronization of anthesis by tropical trees and shrubs. *J. biogeogr.* 3, 231-236.
- Osborn, J.M. & Schneider, E.L., 1988. Morphological studies of the Nymphaeaceae *sensu lato*. XVI. The floral biology of *Brasenia schreberi*. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 75, 778-794.
- Passarelli, L.M., Girarde, S.B. & Tur, N.M., 2002. Palynology of South American Podostemaceae. I. *Apinagia* Tul. *Grana* 41, 10-15.
- Philbrick, C.T., 1981. Some notes regarding pollination in a New Hampshire population of *Podostemum ceratophyllum* Michx (Podostemaceae). *Rhodora* 48, 319-321.
- Philbrick, C.T., 1984. Aspects of floral biology, breeding system, and seed and seedling biology in *Podostemum ceratophyllum* (Podostemaceae). *Syst. botany* 9, 166-174.

- Philbrick, C.T., 2004. Podostemaceae (River-Weed family). In: Smith, N., Mori, S.A., Henderson, A., Stevenson, D.W., Heald, S.V. (Eds.), Flowering Plants of Neotropics. Princeton University Press, Princeton and Oxford, pp. 302-304.
- Philbrick, C.T., Bogle, A.L., 1988. A survey of floral variation in five populations of *Podostemum ceratophyllum* Michx. (Podostemaceae). *Rhodora* 90, 113-121.
- Philbrick, C.T. & Les, D.H., 1996. Evolution of aquatic angiosperm reproductive systems. *Bioscience* 46, 813-826.
- Philbrick, C.T., Novelo, A.R., 1995. New world Podostemaceae: Ecological and evolutionary enigmas. *Brittonia* 47, 210-222.
- Philbrick, C.T., Novelo, A.R., 1998. Flowering phenology, pollen flow, and seed production in *Marathrum rubrum* (Podostemaceae). *Aquat. bot.* 62, 199-206.
- Philbrick, C.T., Vomela, M., Novelo, A.R., 2006. Preanthesis cleistogamy in the genus *Podostemum* (Podostemaceae). *Rhodora* 108, 195-202.
- Proctor, M., Yeo, P., Lack, A., 1996. The natural history of pollination. Timber Press, Portland, Oregon.
- Radford, A.E., Dickinson, W.C., Massey, J.R., Bell, C.R., 1974. Vascular Plant Systematics. Harper & Row Publishers, New York.
- Ramos, C.O.C., Borba, E.L. & Funch, L.S., 2005. Pollination brazilian *Syngonanthus* (Eriocaulaceae) species: evidence for entomophily instead of anemophily. *Ann. Bot.* 96, 387-397.
- Rathcke, B. & Lacey, E.P., 1985. Phenological patterns of terrestrial plants. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 16, 179-214.
- Regal, P., 1982. Pollination by wind and animals: Ecological and geographic patterns. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 13, 497-524.
- Robinson, I. 1924. Die farbungsreaktion der narbe, stigmatochromie, als morpho-biologische Blütenuntersuchungsmethode. *Sitzungsber. Akad. Wiss. Wien Abt III, Math.-Naturwiss. Kl.* 133: 180-213.
- Rutishauser, R., 1995. Developmental patterns of leaves in Podostemaceae compared with more typical flowering plants: saltational evolution and fuzzy morphology. *Can. J. Bot.* 73, 1305-1317.
- Rutishauser, R., Grubert, M., 1994. The architecture of *Mourera fluviatilis* Aubl. (Podostemaceae). *Bot. Helv.* 104, 179-194.
- Rutishauser, R., Huber, K.A., 1991. The developmental morphology of *Indotristicha ramosissima* (Podostemaceae, Tristichoideae). *Plant Syst. Evol.* 178, 195-223.

- Rutishauser, R., 1997. Structural and developmental diversity in Podostemaceae (river-weeds). *Aquat. Bot.* 57, 29-70.
- Rutishauser, R., Grubert, M., 2000. Developmental morphology of *Apinagia multibranchiata* (Podostemaceae) from the Venezuelan Guyanas. *Bot. J. Linn. Soc.* 132, 299-323.
- Santos, A.M.M., Cavalcanti, D.R., Silva, J.M.C., Tabarelli, M., 2007. Biogeographical relationships among tropical forests in north-eastern Brazil. *J. Biogeogr.* 34, 437-446.
- Sculthorpe, M.A., 1967. *The Biology of Aquatic Vascular Plants*. Edward Arnold, London, United Kingdom.
- Stebbins, G.L., 1957. Self fertilization and population variability in the higher plants. *Amer. Naturalist* 91(861), 337-354.
- Stebbins, G.L., 1970. Adaptive radiation of reproductive characteristics in Angiosperms. I. Pollination mechanisms. *Ann. Rev. Ecol. Syst.* 1, 307-326.
- Stelleman, P., 1984a. The significance of biotic pollination in a nominally anemophilous plants, exemplified by *Plantago lanceolata*, and syrphid flies. In: A.J. Richards (Ed.), *Pollination of Flowers by Insects*, London, pp. 41-46.
- Stelleman, P., 1984b. Reflections on the transition from wind pollination to ambophily. *Acta Bot. Neerl.* 33, 497-508.
- Tamura, S.; Kudo, G., 2000. Wind pollination and insect pollination of two temperate willow species, *Salix miyabeana* and *Salix sachalinensis*. *Plant Ecol.* 147, 185-192.
- Tavares, A.S., 1997. Podostemaceae de alguns rios de água preta do Estado do Amazonas. Tese (Doutorado em Botânica) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Universidade do Amazonas, Manaus.
- Went, F.A.F.C., 1926. Untersuchungen über die Podostemaceen III. *Verhandl. Konink. Akad. Wetensch. Amsterdam* 25, 1–59.
- Whitehead, D., 1969. Wind pollination in the angiosperms: Evolutionary and environmental considerations. *Evolution* 23, 28-35.
- Willis, J.C., 1902. Studies in the morphology and ecology of Podostemaceae of Ceylon and India. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 1, 268-465.
- van Royen, P., 1951. The Podostemaceae of the New World Part I. *Meded. Bot. Mus. Herb. Rijks Univ. Utrecht* 107, 1-150.
- Veloso, H.P.; Rangel-Filho, A.L.R.; Lima, J.C.A., 1991. Classificação da vegetação brasileira adaptada a um sistema universal. Instituto Brasileiro de Geografia e Estatística, Rio de Janeiro.

Vogel, S., 1963. Duftdrüsen im Dienste der Bestäubung. Über Bau und Funktion der Osmophoren. Akad. Wiss. Literatur. Math-Naturwiss. Kl. 10, 600-763.

Legendas

Figura 1. A. Distribuição disjunta Amazônico-Nordestina de *Apinagia richardiana* Aubl. (Podostemaceae), localidades na região Amazônica de acordo com van Royen (1952) (●) e no Nordeste do Brasil. **B.** Centro de Endemismo Pernambuco (área acinzentada); **C.** Área de estudo de *Apinagia richardiana* Aubl. (Podostemaceae) no rio Pirangi, trecho do Município de Maraiial, Estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil (▲).

Figura 2. Área de estudo, hábito da planta, Podostemaceae simpátricas e modo de crescimento de *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen (Podostemaceae), no rio Pirangi, zona da mata sul do Estado de Pernambuco, Centro de Endemismo Pernambuco, Nordeste do Brasil. **A.** Trecho da estação 3, corredeiras “Caldeirão da Nêga”(8°48'23,3" S, 35°50'35,5" W, 261de altitude). **B.** Indivíduo de *A. richardiana* em início de floração aderido a rocha granítica do leito seco do rio. **C.** Ramos talóides crescendo de raiz linear (r) em sentido oposto (←). **D.** Espécies sincronopátricas a *A. richardiana* (a), *Mourera fluviatilis* Aubl. (b) e *Tristicha trifaria* (Bory ex Willd) Sprengel. (c).

Figura 3. Fenologia de *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen (Podostemaceae) do Centro de Endemismo Pernambuco, Nordeste do Brasil. **A.** Floração de indivíduos ($N = 58$ agrupamentos) relacionada ao período de menor precipitação na região. Dados de precipitação: www.itep.gov.br. **B.** Total de indivíduos floridos ($N = 58$ agrupamentos) e classes de tempo (dias) de floração.

Figura 4. Fenofases de *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen (Podostemaceae) no rio Pirangi, zona da mata sul do Estado de Pernambuco, Centro de Endemismo Pernambuco, Nordeste do Brasil. **A.** Fase submersa. **B.** Início de fase emersa. **C.** Início de floração. **D.** Pico de floração. **E.** Frutificação. **F.** Plantas adultas mortas e matéria orgânica alóctone do rio, compondo o banco de sementes.

Figura 5. Fenologia dos ramos reprodutivos de *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen (Podostemaceae) do Centro de Endemismo Pernambuco, Nordeste do Brasil ($N = 37$). **A.** Tempo de floração e número de flores abertas por dia dos ramos. **B.** Tempo de floração dos ramos. **C.** Classes de número de flores por ramo.

Figura 6. *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen (Podostemaceae) no rio Pirangi, zona da mata sul do Estado de Pernambuco, Centro de Endemismo Pernambuco, Nordeste do Brasil. **A.** Botões florais bem desenvolvidos envoltos pelas espatelas. **B.** Flor em detalhe. **C.** Cápsulas maduras iniciando deiscência. (**em**) espatela membranácea na base do pedicelo, (**p**) pedicelo, (**o**) ovário, (**f**) filete, (**es**) estame, (**an**) antera, (**le**) lobo estigmático.

Figura 7. Representação diagramática da disposição das flores no ramo e seqüência de antese de *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen (Podostemaceae) no rio Pirangi, zona da mata sul do Estado de Pernambuco, Centro de Endemismo Pernambuco, Nordeste do Brasil. **A.** Ramo fértil evidenciando desenvolvimento das flores da base para o ápice. **B.** Botão floral envolvido pela espatela membranácea. **C.** Botão rompendo a espatela. **D.** Flor em início de antese e separação dos lobos estigmáticos e permanência das anteras em posição paralela com os filetes. **E.** Alongamento dos filetes e anteras em posição perpendicular a estes. **F.** Anteras atingido os lobos estigmáticos, promovendo autopolinização. **G.** Cápsula recém formada. **H.** Cápsula deiscente.

Figura 8. Grãos de pólen de *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen (Podostemaceae) no rio Pirangi, zona da mata sul do Estado de Pernambuco, Centro de Endemismo Pernambuco, Nordeste do Brasil. **A.** Detalhe da exina em vista equatorial (1000x). **B.** Detalhe da exina em vista polar (1000x). **C.** Detalhe da ornamentação reticulada da exina em vista polar (1000x). **D.** Detalhe da ornamentação reticulada da exina em vista equatorial (1000x).

Figura 9. Frequência de visitantes florais e disponibilidade polínica de *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen (Podostemaceae) do Centro de Endemismo Pernambuco, Nordeste do Brasil. **A.** Frequência de visitantes florais e horários. **B.** Disponibilidade polínica e classes de horários de frequência dos visitantes florais, evidenciando diminuição expressiva na quantidade de pólen mesmo diante da ausência de visitantes.

Figura 10. Fotomicrografias em microscopia de fluorescência do crescimento de tubos polínicos em *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen (Podostemaceae) do rio Pirangi, zona da mata sul do Estado de Pernambuco, Centro de Endemismo Pernambuco, Nordeste do Brasil. **A.** Tubos polínicos no estilete após 24h de polinização cruzada (40x). **B.** Tubo polínico no estilete após 24h de autopolinização manual (40x). **C.** Tubos polínicos nas paredes do ovário

após 48h de polinização no controle (40x). **D.** Tubo polínico oriundo de autopolinização manual 48h, penetrando micrópila do óvulo (10x).

Figura 11. Polinização anemófila de *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen (Podostemaceae) do Centro de Endemismo Pernambuco, Nordeste do Brasil. Floração de indivíduos ($N = 58$ agrupamentos) relacionada à velocidade do vento (m/s) na região. Dados de precipitação: www.itep.gov.br.

Tabela 1. Morfometria das plantas, ramos, dicotomizações (bifurcações) e merísticos de ramos por planta, flores por ramo, flores por dicotomização e flores por unidade de área de *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen (Podostemaceae) no Centro de Endemismo Pernambuco, Nordeste do Brasil.

Tabela 2. Morfometria de botões florais, flores, frutos, estruturas florais e grãos de pólen de *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen (Podostemaceae) no Centro de Endemismo Pernambuco, Nordeste do Brasil.

Tabela 3. Quantificação das estruturas florais, grãos de pólen, óvulos e razão pólen-óvulo de *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen (Podostemaceae) no Centro de Endemismo Pernambuco, Nordeste do Brasil.

Tabela 4. Disponibilidade polínica de *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen (Podostemaceae) no Centro de Endemismo Pernambuco, Nordeste do Brasil.

Tabela 5. Formação de frutos, médias de sementes dos tratamentos do sistema reprodutivo e do sistema de polinização de *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen (Podostemaceae) no Centro de Endemismo Pernambuco, Nordeste do Brasil.

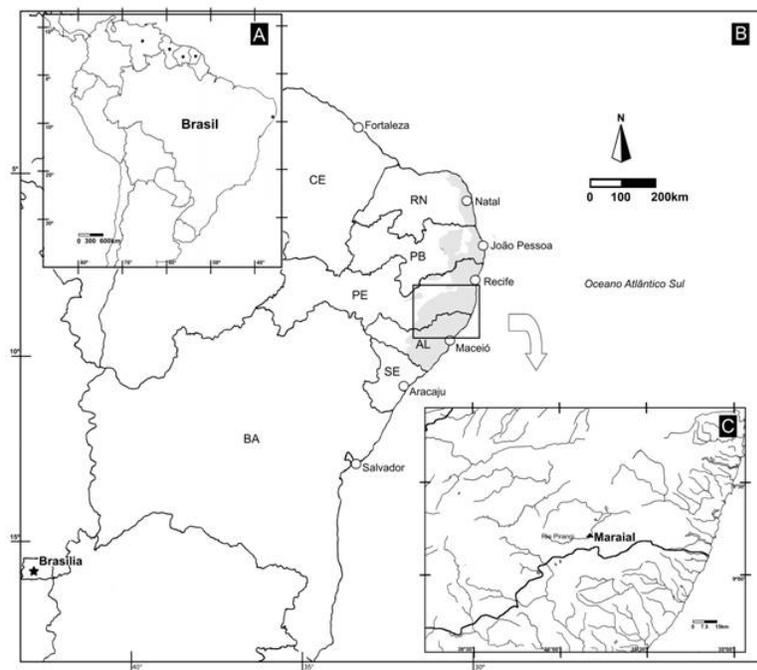
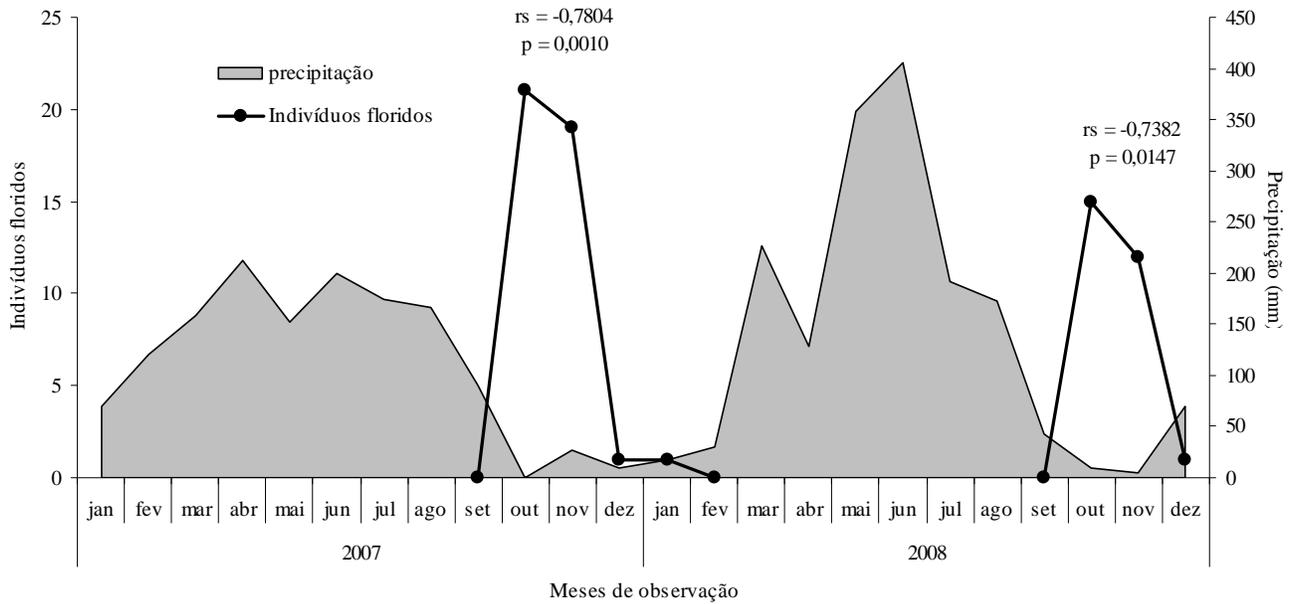


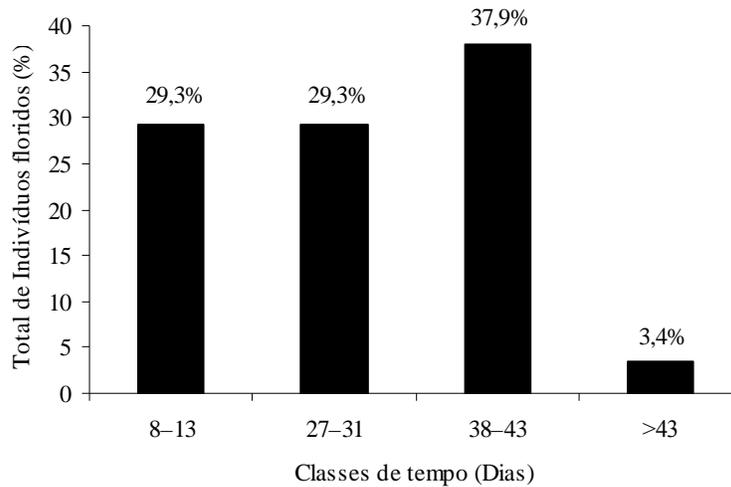
Figura 1. A. Distribuição disjunta Amazônica-Nordestina de *Apinagia richardiana* Aubl. (Podostemaceae), localidades na região Amazônica de acordo com van Royen (1952) (●) e no Nordeste do Brasil. B. Centro de Endemismo Pernambuco (área acinzentada); C. Área de estudo de *Apinagia richardiana* Aubl. (Podostemaceae) no rio Pirangi, trecho do Município de Marajal, Estado de Pernambuco, Nordeste do Brasil (▲).



Figura 2. Área de estudo, hábito da planta, Podostemaceae simpátricas e modo de crescimento de *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen (Podostemaceae), no rio Pirangi, zona da mata sul do Estado de Pernambuco, Centro de Endemismo Pernambuco, Nordeste do Brasil. **A.** Trecho da estação 3, corredeiras “Caldeirão da Nêga” (8°48’23,3” S, 35°50’35,5” W, 261 de altitude). **B.** Indivíduo de *A. richardiana* em início de floração aderido a rocha granítica do leito seco do rio. **C.** Ramos talóides crescendo de raiz linear (**r**) em sentido oposto (←). **D.** Espécies sincronopátricas a *A. richardiana* (**a**), *Mourera fluviatilis* Aubl. (**b**) e *Tristicha trifaria* (Bory ex Willd) Sprengel. (**c**).



A



B

Figura 3. Fenologia de *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen (Podostemaceae) do Centro de Endemismo Pernambuco, Nordeste do Brasil. **A.** Floração de indivíduos ($N = 58$ agrupamentos) relacionada ao período de menor precipitação na região. Dados de precipitação: www.itep.gov.br. **B.** Total de indivíduos floridos ($N = 58$ agrupamentos) e classes de tempo (dias) de floração.



Figura 4. Fenofases de *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen (Podostemaceae) no rio Pirangi, zona da mata sul do Estado de Pernambuco, Centro de Endemismo Pernambuco, Nordeste do Brasil. **A.** Fase submersa. **B.** Início de fase emersa. **C.** Início de floração. **D.** Pico de floração. **E.** Frutificação. **F.** Plantas adultas mortas e matéria orgânica alóctone do rio, compondo o banco de sementes.

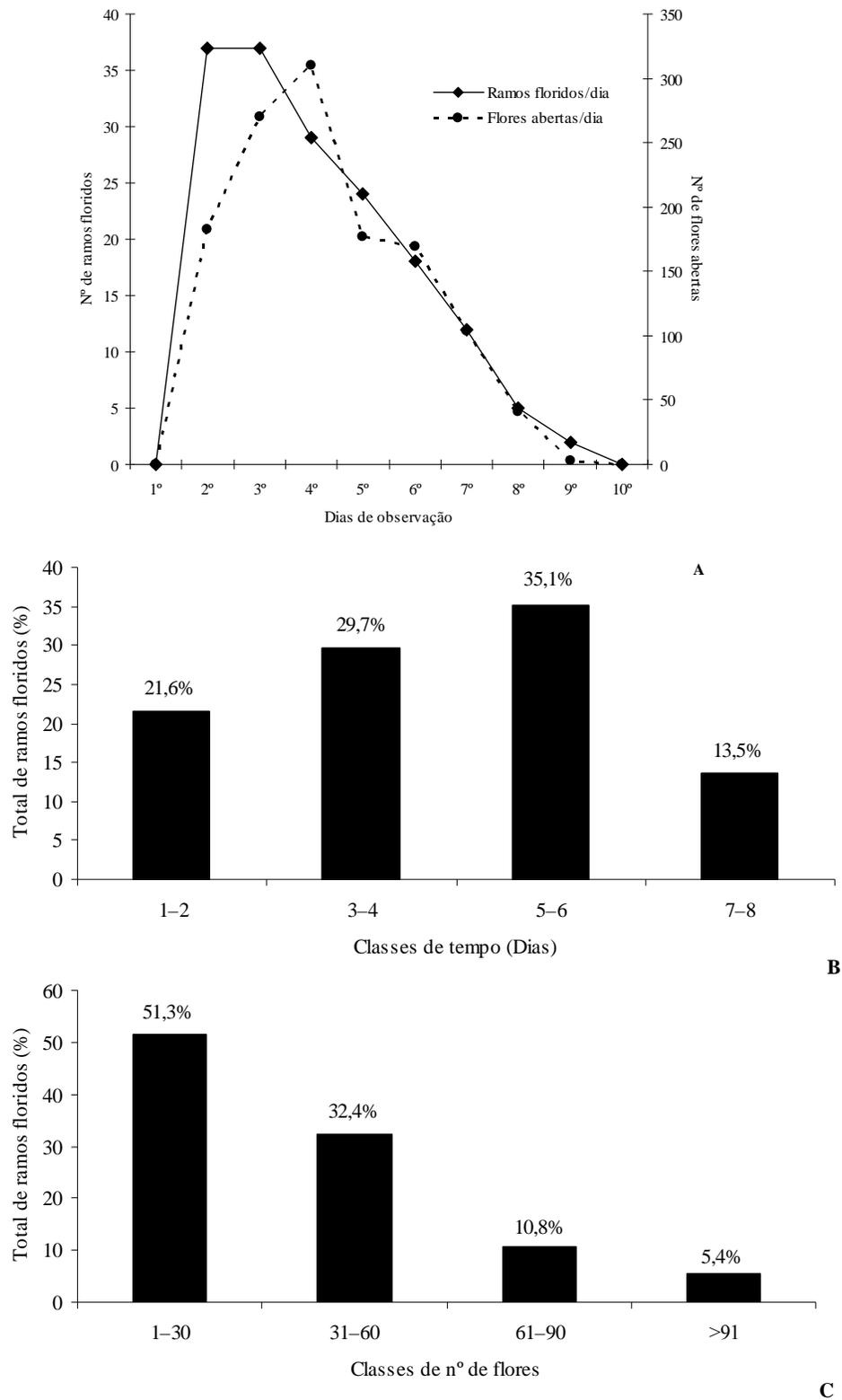


Figura 5. Fenologia dos ramos reprodutivos de *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen (Podostemaceae) do Centro de Endemismo Pernambuco, Nordeste do Brasil ($N = 37$). **A.** Tempo de floração e número de flores abertas por dia dos ramos. **B.** Tempo de floração dos ramos. **C.** Classes de número de flores por ramo.

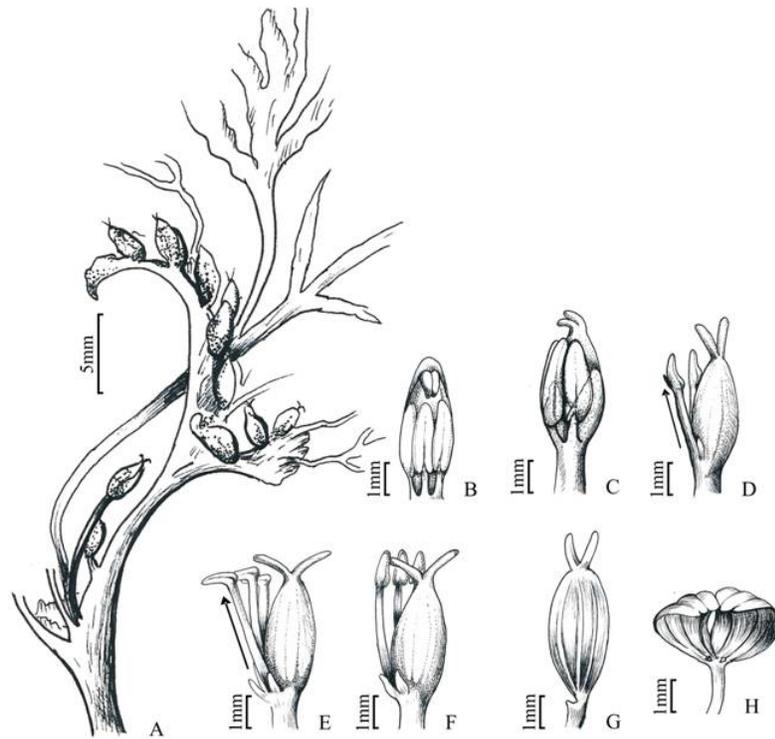


Figura 6. Representação diagramática da disposição das flores no ramo e seqüência de antese de *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen (Podostemaceae) no rio Pirangi, zona da mata sul do Estado de Pernambuco, Centro de Endemismo Pernambuco, Nordeste do Brasil. **A.** Ramo fértil evidenciando desenvolvimento das flores da base para o ápice. **B.** Botão floral envolvido pela espatela membranácea. **C.** Botão rompendo a espatela. **D.** Flor em início de antese e separação dos lobos estigmáticos e permanência das anteras em posição paralela com os filetes. **E.** Alongamento dos filetes e anteras em posição perpendicular a estes. **F.** Anteras atingido os lobos estigmáticos, promovendo autopolinização. **G.** Cápsula recém formada. **H.** Cápsula deiscente.

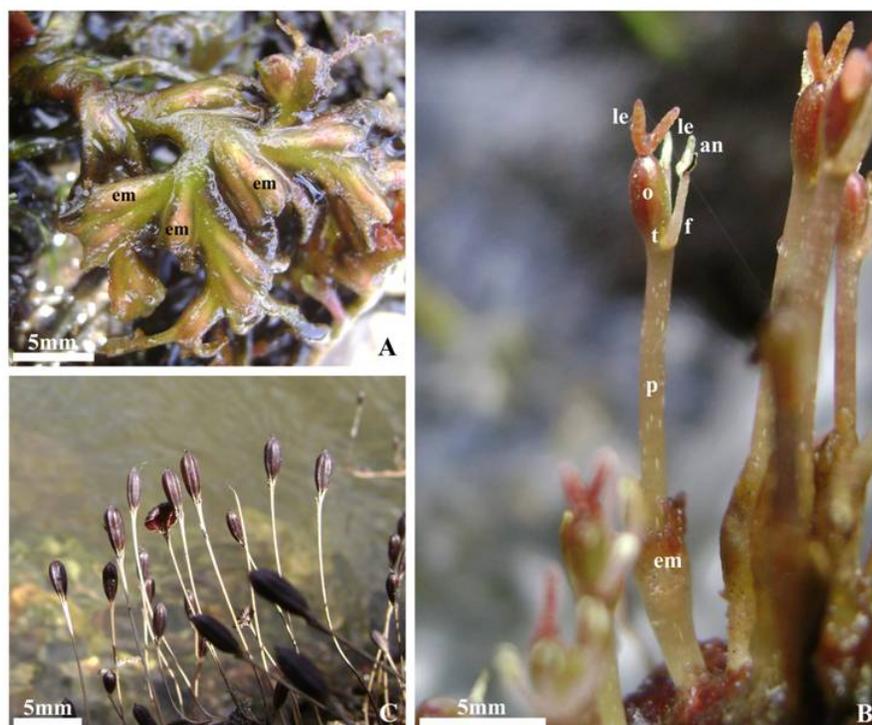


Figura 7. *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen (Podostemaceae) no rio Pirangi, zona da mata sul do Estado de Pernambuco, Centro de Endemismo Pernambuco, Nordeste do Brasil. **A.** Botões florais bem desenvolvidos envoltos pelas espatelas. **B.** Flor em detalhe. **C.** Cápsulas maduras iniciando deiscência. (**em**) espatela membranácea na base do pedicelo, (**p**) pedicelo, (**o**) ovário, (**f**) filete, (**es**) estame, (**an**) antera, (**le**) lobo estigmático.

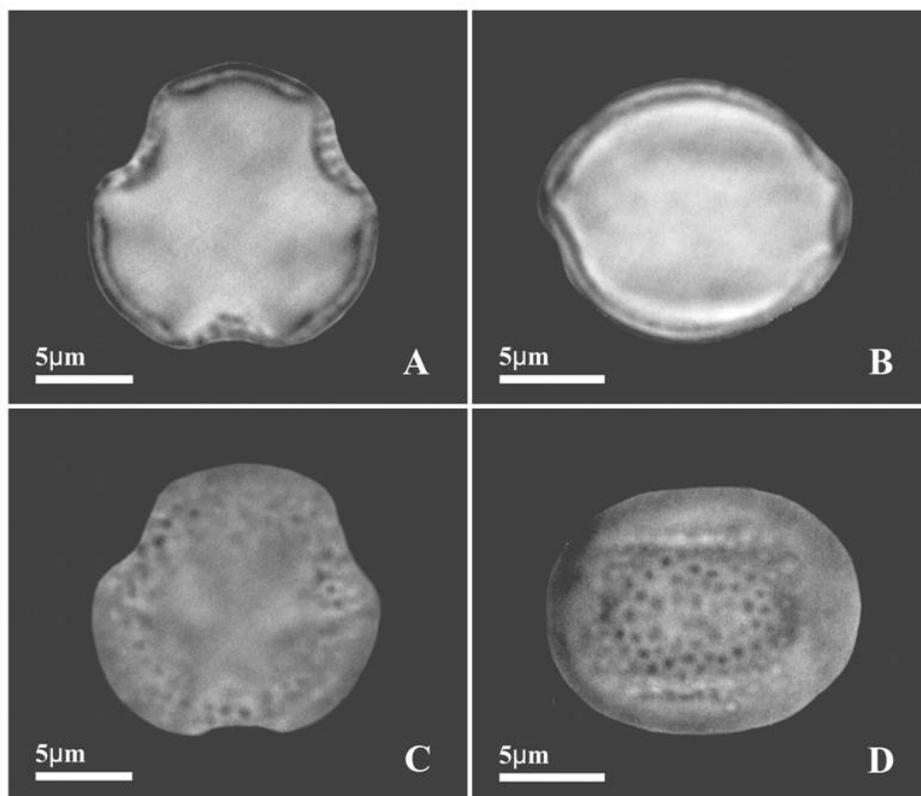
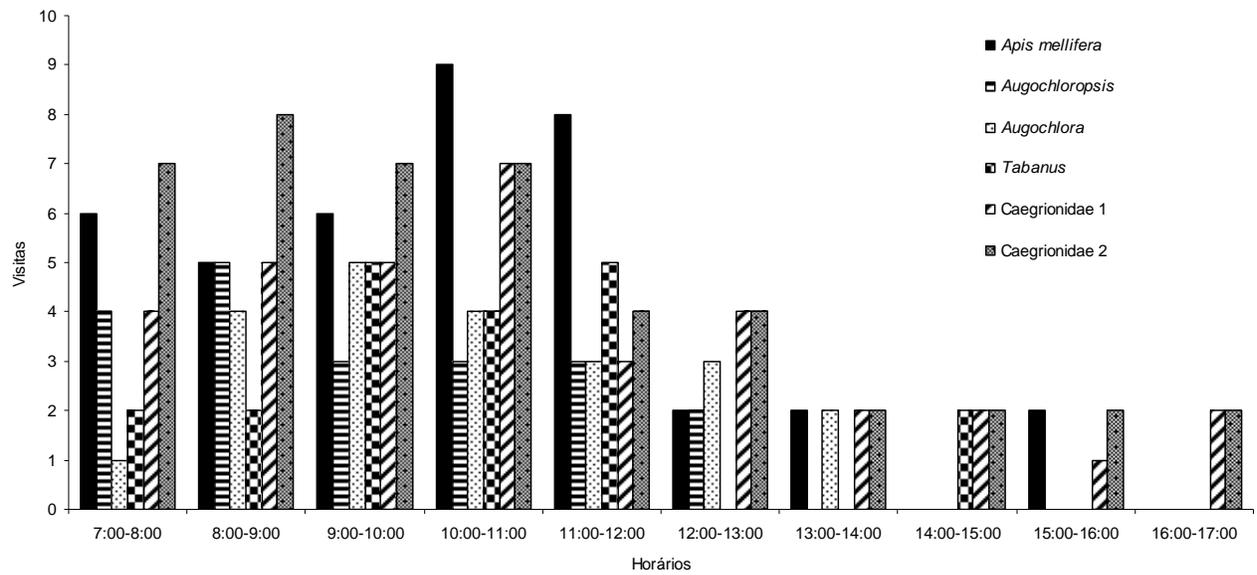
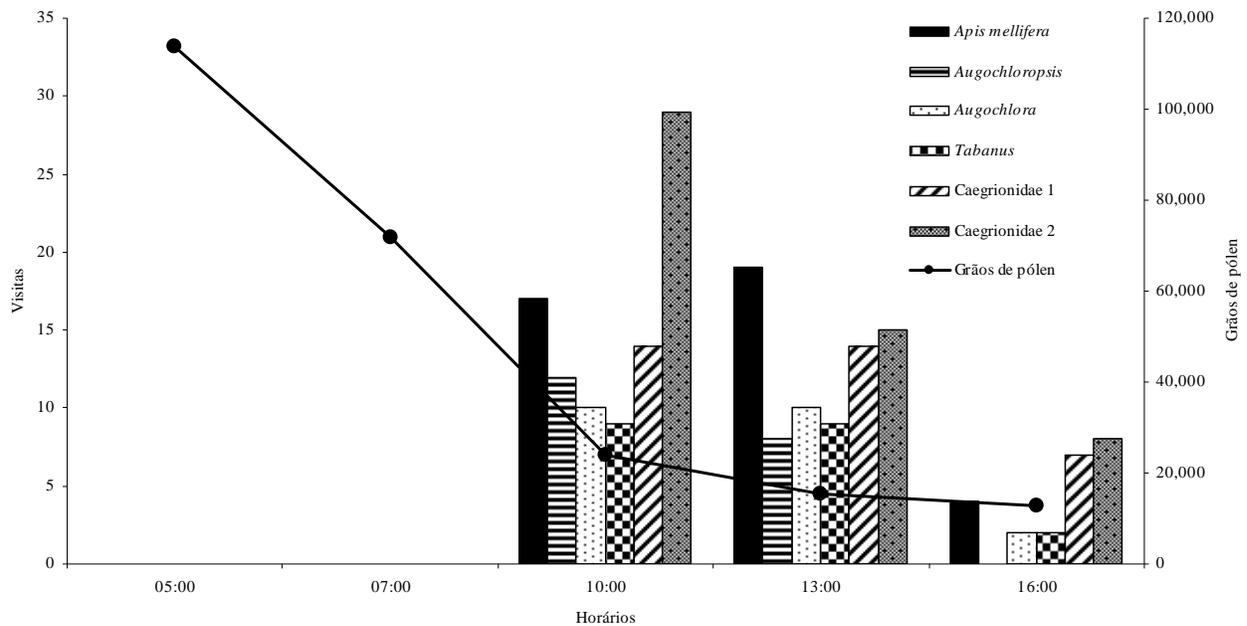


Figura 8. Grãos de pólen de *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen (Podostemaceae) no rio Pirangi, zona da mata sul do Estado de Pernambuco, Centro de Endemismo Pernambuco, Nordeste do Brasil. **A.** Detalhe da exina em vista equatorial (1000x). **B.** Detalhe da exina em vista polar (1000x). **C.** Detalhe da ornamentação reticulada da exina em vista polar (1000x). **D.** Detalhe da ornamentação reticulada da exina em vista equatorial (1000x).



A



B

Figura 9. Frequência de visitantes florais e disponibilidade polínica de *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen (Podostemaceae) do Centro de Endemismo Pernambuco, Nordeste do Brasil. **A.** Frequência de visitantes florais e horários. **B.** Disponibilidade polínica e classes de horários de frequência dos visitantes florais, evidenciando diminuição expressiva na quantidade de pólen mesmo diante da ausência de visitantes.

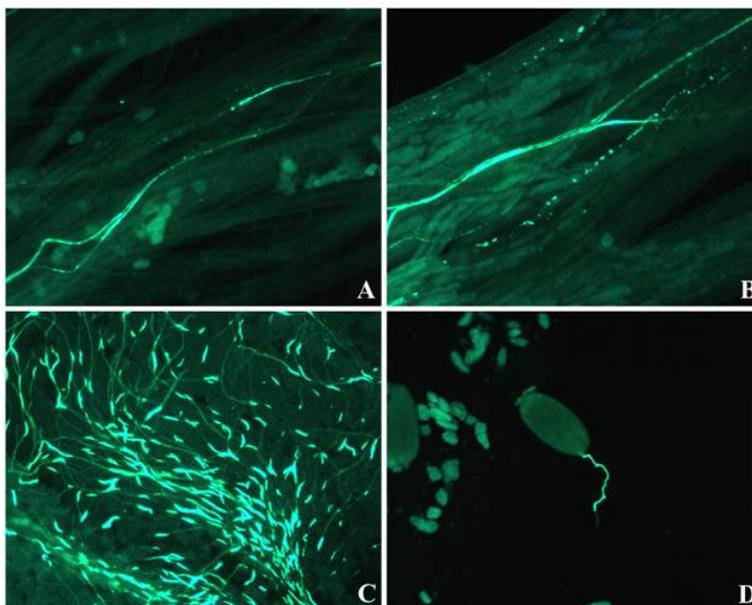


Figura 10. Fotomicrografias em microscopia de fluorescência do crescimento de tubos polínicos em *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen (Podostemaceae) do rio Pirangi, zona da mata sul do Estado de Pernambuco, Centro de Endemismo Pernambuco, Nordeste do Brasil. **A.** Tubos polínicos no estilete após 24h de polinização cruzada (40x). **B.** Tubo polínico no estilete após 24h de autopolinização manual (40x). **C.** Tubos polínicos nas paredes do ovário após 48h de polinização no controle (40x). **D.** Tubo polínico oriundo de autopolinização manual 48h, penetrando micrópila do óvulo (10x).

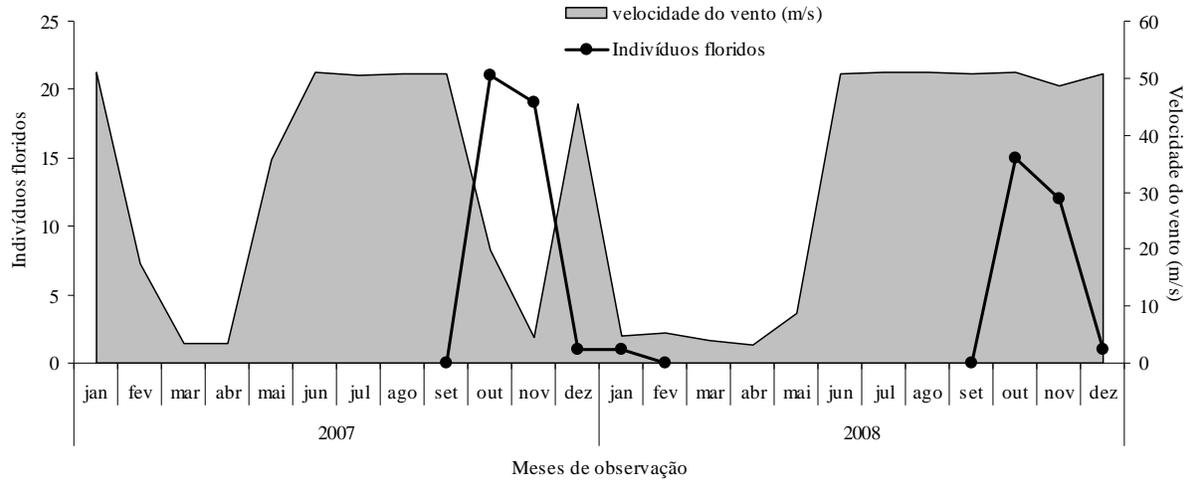


Figura 11. Polinização anemófila de *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen (Podostemaceae) do Centro de Endemismo Pernambuco, Nordeste do Brasil. Floração de indivíduos ($N = 58$ agrupamentos) relacionada à velocidade do vento (m/s) na região. Dados de precipitação: www.itep.gov.br.

Tabela 1. Morfometria das plantas, ramos, dicotomizações (bifurcações) e merísticos de ramos por planta, flores por ramo, flores por dicotomização e flores por unidade de área de *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen (Podostemaceae) no Centro de Endemismo Pernambuco, Nordeste do Brasil.

Caracteres	N	Amplitude	Média±Desvio Padrão
Comprimento total da planta*	30	143,062-872,56	345,09±173,78
Ramos por planta	30	2-27	14,9±7,54
Comprimento do ramo*	37	24,92-164,25	72,42±34,93
Flores por ramo	37	4-107	34,51±26,16
Comprimento da bifurcação*	83	4,63-57,92	18,78±10,07
Flores por bifurcação	83	2-18	6,14±2,87
Flores por 0,10 m ²	34	47-196	111,35±40,01

*Medidas em mm

Tabela 2. Morfometria de botões florais, flores, frutos, estruturas florais e grãos de pólen de *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen (Podostemaceae) no Centro de Endemismo Pernambuco, Nordeste do Brasil.

Caracteres	N	Medidas	Amplitude	Média±Desvio Padrão
Espatela	20	Comprimento	4,06-11,43	7,60±1,68
		Largura	1,62-3,13	2,29±0,35
Botão	30	Comprimento	3,29-6,31	4,96±0,99
		Largura	1,54-2,18	1,88±0,22
Pedicelo-Botão	30	Comprimento	0,82-4,03	2,42±0,74
		Largura	0,65-1,19	0,88±0,13
Flor	30	Comprimento	9,44-22,39	16,15±3,31
Pedicelo-Flor	30	Comprimento	5,80-16,73	11,26±2,97
		Largura	0,66-1,11	0,81±0,14
Pistilo	30	Comprimento	3,75-5,88	4,93±0,48
Lobos Estigmáticos	40	Comprimento	0,91-2,50	1,76±0,37
		Largura	0,22-0,50	0,33±0,08
Distância-Lobos	37	Comprimento	0,15-3,29	1,47±0,80
Ovário	30	Comprimento	2,35-3,78	3,20±0,35
		Largura	1,25-1,83	1,53±0,14
Estame	77	Comprimento	3,05-7,19	5,94±0,73
Filete	78	Comprimento	2,81-5,32	4,15±0,54
		Largura	0,21-0,63	0,44±0,08
Antera	77	Comprimento	1,48-2,65	2,06±0,25
		Largura	0,38-0,91	0,63±0,12
Pólen*	250	Polar	13,75-20,0	15,19±1,15
		Equatorial	12,5-17,5	15,98±1,11
Tépala	83	Comprimento	0,58-1,70	1,27±0,21
		Largura	0,18-0,58	0,30±0,07
Cápsula (compr, total)	43	Comprimento	5,95-31,3	21,01±6,03
Cápsula	43	Comprimento	2,79-4,56	3,50±0,49
		Largura	1,01-1,82	1,40±0,19
Pedicelo da cápsula	43	Comprimento	3,18-26,53	17,16±5,45
		Largura	0,15-0,44	0,25±0,06

Medidas em mm. *Medidas em μm .

Tabela 3. Quantificação das estruturas florais, grãos de pólen, óvulos e razão pólen-óvulo de *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen (Podostemaceae) no Centro de Endemismo Pernambuco, Nordeste do Brasil.

Caracteres	N	Amplitude	Média±Desvio Padrão
Estames por flor	30	2-5	4,15±0,87
Tépalas por flor	30	3-5	3,76±0,52
Óvulos por ovário	30	351-448	392±29,09
Grãos de pólen por antera	43	13,750-40,000	26,453±6602
Grãos de pólen por flor	30	93,750-150,000	113,750±18,362
Razão Pólen-óvulo	10	237-394	291±49,8

Tabela 4. Disponibilidade polínica de *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen (Podostemaceae) no Centro de Endemismo Pernambuco, Nordeste do Brasil.

Horário	<i>N</i>	Amplitude	Média±Desvio Padrão
05:00	10	93,750-150,000	113,750±18,361
07:00	10	38,750-113,500	71,725±21,646
10:00	10	5,000-58,750	23,875±17,021
13:00	10	3,750-31,250	15,250±10,304
16:00	10	3,750-22,500	12,750±6,917

Tabela 5. Formação de frutos, médias de sementes dos tratamentos do sistema reprodutivo e do sistema de polinização de *Apinagia richardiana* (Tul.) van Royen (Podostemaceae) no Centro de Endemismo Pernambuco, Nordeste do Brasil.

Sistema/Tratamento	N	Flores	Frutos	Sucesso % Formação de frutos	Amplitude*	Média±Desvio Padrão*	Sucesso%** Formação de sementes
Sistema reprodutivo							
Autopolinização manual	34	35	34	97	78-472	320,79±79,72	81,63
Polinização cruzada	57	60	57	95	176-550	339,7±95,92	86,48
Agamospermia	30	32	30	94	0	0	0
Sistema de Polinização							
Exclusão de vento	57	60	57	95	21-477	302±88,21	77,04
Exclusão de insetos	55	58	56	96,5	93-443	309,07±84,91	78,84
Controle (formação natural)	94	100	94	94	98-484	308,13±72,28	78,57

*Resultados do número de sementes. **Baseado na média de óvulos por ovário (392).

Conclusões – As Podostemaceae são as plantas aquáticas menos estudadas com relação aos aspectos reprodutivos. A falta de conhecimento da biologia reprodutiva das Podostemaceae reflete a dificuldade imposta pelas condições em que as plantas são encontradas na natureza e a ausência de técnicas de cultivo *in vitro* das espécies. Acredita-se que a autogamia seja predominante e a anemofilia o principal sistema de polinização em Podostemaceae, apesar de visitantes florais oportunistas, entre eles abelhas das famílias Apidae e Halictidae, serem constantes, sugerindo que alogamia mediada por vetores bióticos também possa ocorrer. Evidências experimentais recentes em Podostemaceae neotropicais, sugerem que alogamia mediada por abelhas e a presença de mecanismos de auto-incompatibilidade parcial podem ser atuantes em algumas espécies. Para estes táxons, os dados atuais sugerem a existência de estratégias reprodutivas favorecedoras de polinização cruzada. *Apinagia richardiana* apresenta padrão fenológico explosivo ou cornucópia em nível individual e cornucópia em nível populacional. As correlações significativas entre a floração de *A. richardiana* e o fator ambiental precipitação-nível da água, evidenciam sua fenologia anual e regular. Os visitantes florais encontrados foram abelhas amplamente poliléticas das famílias Apidae e Halictidae, corroborando a hipótese alternativa. *Apinagia richardiana* é autocompatível, não havendo diferença significativa na produção de sementes entre a xenogamia e os outros tratamentos do sistema reprodutivo, refutando parcialmente a nossa hipótese. Os experimentos de polinização e os atributos florais e estruturais sugerem ocorrência de anemofilia e autogamia, além de alogamia por vetores bióticos, caracterizando a multiplicidade de estratégias reprodutivas, resposta as condições ambientais favoráveis a cada uma destas estratégias reprodutivas.

Resumo - As Podostemaceae são as fanerógamas dulciaquícolas menos conhecidas com relação aos aspectos reprodutivos. *Apinagia richardiana* é amplamente distribuída apresentando distribuição disjunta Amazônico-Nordestina. No nordeste do Brasil são encontradas populações em mananciais associados à Floresta Atlântica. Os objetivos deste estudo foram: (i) verificar a estratégia fenológica, (ii) descrever sua biologia floral e (iii) determinar seu sistema reprodutivo e de polinização. A espécie foi estudada no Rio Pirangi, nordeste do Brasil, onde sua floração inicia em outubro e se estende até janeiro. Correlações significativas entre número de indivíduos floridos e o fator ambiental precipitação-nível das águas nos dois ciclos fenológicos acompanhados (2007, $r_s = -0,78$, $p = 0,001$ e 2008, $r_s = -0,73$, $p = 0,01$), evidenciam a adoção da estratégia fenológica anual e regular, semelhante a outras Podostemaceae. *Apinagia richardiana* apresenta padrão fenológico explosivo ou cornucópia em nível individual e cornucópia em nível populacional em virtude da massiva produção de flores em períodos de oito dias a seis semanas. Entre os visitantes florais estão abelhas poliléticas *Apis mellifera* (Apidae), *Augochlora* sp. e *Augochloropsis* sp. (Halictidae), além de *Tabanus* sp. (Tabanidae, Diptera) e libélulas (Caegrionidae, Odonata). A baixa frequência destes insetos sugere que alogamia por vetores bióticos seja ocasional na espécie. O aumento significativo no comprimento dos filetes ($t = 15,38$, g.l. = 47, $p = 0,00$), atingindo os estigmas promove a autofertilização. Houve elevado sucesso na formação de frutos (<90%) em todos os experimentos do sistema reprodutivo. A espécie é autocompatível não havendo diferença significativa no número de sementes entre os tratamentos ($F = 2,65$, g.l. = 2, $p = 0,07$). Os tubos polínicos penetram as micrópilas dos óvulos em todos os tratamentos, no entanto, maior quantidade de tubos atingem os óvulos na autopolinização manual, sugerindo, além da ausência de mecanismos de auto-incompatibilidade, favorecimento da autofecundação. Os experimentos do sistema de polinização, não apresentaram diferenças significativas entre si ($F = 0,13$, g.l. = 2, $p = 0,87$), o que aliado aos atributos florais, e.g. flores dorsiventrais, e estruturais, como crescimento agrupado e alta densidade de flores por unidade de área ($\bar{x} = 111,35 \pm 40,01$, $0,10 \text{ m}^2$ de área) indicam a intensa ocorrência de anemofilia como meio reprodutivo. Autogamia e alogamia também ocorrem em *A. richardiana*, caracterizando a multiplicidade de estratégias reprodutivas empregadas pela espécie, respostas a condições ambientais favoráveis a cada uma destas estratégias reprodutivas.

Palavras-chave: ecologia da polinização, sistemas generalistas, Floresta Atlântica, plantas aquáticas, autogamia.

Abstract - Podostemaceae is freshwater fanerogams less known in regard to reproductive aspects. *Apinagia richardiana* is widely distributed presenting disjoint distribution Amazonian-Northeastern. In Northeastern of Brazil populations are found in sources associates to the Atlantic Forest. The aims of this work were: (i) to verify the phenologic strategy, (ii) to describe its floral biology e (iii) to determine its reproductive and pollination systems. The species was studied in the river Pirangi, Northeast of Brazil, where its blossom initiates in October and extends until January. Significant correlations between number of flowery individuals and the environmental factor precipitation-level of waters in the two followed phenologic cycles (2007, $r_s = -0,78$, $p = 0,001$ e 2008, $r_s = -0,73$, $p = 0,01$), evidence the adoption of the annual and regular, similar strategy phenologic to others Podostemaceae. *Apinagia richardiana* presents cornucopia or explosive phenologic patterns in individual level and cornucopia in population level because the massive production of flowers in periods of eight days to six weeks. Among the floral visitors are poliletic widely bees *Apis mellifera* (Apidae), *Augochlora* sp. e *Augochloropsis* sp. (Halictidae), apart from *Tabanus* sp. (Tabanidae, Diptera) and dragonflies (Caegrionidae, Odonata). The low frequency of these insects, suggests that alogamy for biotics vectors is rare in that species. The significant increase in the length of filaments ($t = 15,38$, g.l. = 47, $p = 0,00$), reach up to stigma is promotional of selfing. It had raised success in the formation of fruits (<90%) in all the experiments of the reproductive system. The species is auto-compatible not having significant difference in the number of seeds between the treatments ($F = 2,65$, g.l. = 2, $p = 0,07$). The pollen tubes penetrate ovules micropile in all the treatments, however, greater amount of tubes reach the ovules in the manual selfing, suggesting, apart from the absence of mechanisms of auto-incompatibility, aiding of the self-fertilization. The experiments of the pollination system hadn't presented significant differences between their ($F = 0,13$, g.l. = 2, $p = 0,87$), what ally to the floral, e.g. flowers dorsiventrals, and structural attributes, as grouped growth and high density of flowers for unit of area ($\bar{x} = 111,35 \pm 40,01$, $0,10 \text{ m}^2$ of area), indicate the intense occurrence of anemophily as way reproductive. Autogamy and alogamy also occur in the *A. richardiana*, characterizing the multiplicity of reproductive strategies used by this species, answers the ambient conditions favorable to each one of these reproductive strategies.

Key-words: pollination ecology, generalist systems, Atlantic Forest, aquatic plants, autogamy.

Anexo

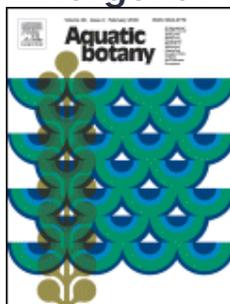


<http://www.elsevier.com>

[Browse Journals](#) > [Aquatic Botany home](#) > Guide For Authors

Aquatic Botany

An International Scientific Journal dealing with Applied and Fundamental Research on Submerged, Floating and Emergent Plants in Marine and Freshwater Ecosystems



ISSN: 0304-3770

Imprint: ELSEVIER

INTRODUCTION

Aquatic Botany is concerned with fundamental studies on structure, function, dynamics and classification of plant-dominated aquatic communities and ecosystems, as well as molecular, biochemical and physiological aspects of aquatic plants. It is also an outlet for papers dealing with applied research on plant-dominated aquatic systems, including the consequences of disturbance (e.g. transplantation, influence of herbicides and other chemicals, thermal pollution, biological control, grazing and disease), the use of aquatic plants, conservation of resources, and all aspects of aquatic plant production and decomposition.

Types of paper

1. Original research papers (Regular Papers)
2. Review articles
3. Short Communications
4. Letters to the Editor

Regular papers should report the results of original research. The material should not have been previously published elsewhere, except in a preliminary form.

Review articles should cover subjects falling within the scope of the journal which are of active current interest. They may be submitted or invited.

A Short Communication is a concise but complete description of a limited investigation, which will not be included in a later paper. Short Communications should be as completely documented, both by reference to the literature and description of the experimental procedures employed, as a regular paper. They should not occupy more than 6 printed pages (about 12 manuscript pages, including figures, tables and references).

Letters to the Editor offering comment or appropriate critique on material published in the journal

are welcomed. The decision to publish submitted letters rests purely with the Editor-in-Chief.

BEFORE YOU BEGIN

Ethics in Publishing

For information on Ethics in Publishing and Ethical guidelines for journal publication see <http://www.elsevier.com/publishingethics> and <http://www.elsevier.com/ethicalguidelines>.

Conflict of Interest

All authors are requested to disclose any actual or potential conflict of interest including any financial, personal or other relationships with other people or organizations within three years of beginning the submitted work that could inappropriately influence, or be perceived to influence, their work. See also <http://www.elsevier.com/conflictsofinterest>.

Submission Declaration

Submission of an article implies that the work described has not been published previously (except in the form of an abstract or as part of a published lecture or academic thesis), that it is not under consideration for publication elsewhere, that its publication is approved by all authors and tacitly or explicitly by the responsible authorities where the work was carried out, and that, if accepted, it will not be published elsewhere in the same form, in English or in any other language, without the written consent of the copyright-holder.

Contributors

Each author is required to declare his or her individual contribution to the article: all authors must have materially participated in the research and/or article preparation, so roles for all authors should be described. The statement that all authors have approved the final article should be true and included in the disclosure.

Copyright

Upon acceptance of an article, authors will be asked to complete a 'Journal Publishing Agreement' (for more information on this and copyright see <http://www.elsevier.com/copyright>). Acceptance of the agreement will ensure the widest possible dissemination of information. An e-mail will be sent to the corresponding author confirming receipt of the manuscript together with a 'Journal Publishing Agreement' form or a link to the online version of this agreement.

Subscribers may reproduce tables of contents or prepare lists of articles including abstracts for internal circulation within their institutions. Permission of the Publisher is required for resale or distribution outside the institution and for all other derivative works, including compilations and translations (please consult <http://www.elsevier.com/permissions>). If excerpts from other copyrighted works are included, the author(s) must obtain written permission from the copyright owners and credit the source(s) in the article. Elsevier has preprinted forms for use by authors in these cases: please consult <http://www.elsevier.com/permissions>.

Retained Author Rights

As an author you (or your employer or institution) retain certain rights; for details you are referred to: <http://www.elsevier.com/authorsrights>.

Role of the Funding Source

You are requested to identify who provided financial support for the conduct of the research and/or preparation of the article and to briefly describe the role of the sponsor(s), if any, in study design; in the collection, analysis and interpretation of data; in the writing of the report; and in the decision to submit the paper for publication. If the funding source(s) had no such involvement then this should be stated. Please see <http://www.elsevier.com/funding>.

Funding Body Agreements and Policies

Elsevier has established agreements and developed policies to allow authors whose articles appear

in journals published by Elsevier, to comply with potential manuscript archiving requirements as specified as conditions of their grant awards. To learn more about existing agreements and policies please visit <http://www.elsevier.com/fundingbodies>.

Language Services

Manuscripts should be written in English. Authors who are unsure of correct English usage should have their manuscript checked by someone proficient in the language. Manuscripts in which the English is difficult to understand may be returned to the author for revision before scientific review. Authors who require information about language editing and copyediting services pre- and post-submission please visit <http://www.elsevier.com/languagepolishing> or contact authorsupport@elsevier.com for more information. Please note Elsevier neither endorses nor takes responsibility for any products, goods or services offered by outside vendors through our services or in any advertising. For more information please refer to our Terms & Conditions: <http://www.elsevier.com/termsandconditions>.

Submission

Submission to this journal proceeds totally online. Use the following guidelines to prepare your article. Via the homepage of this journal (<http://www.elsevier.com/journals>) you will be guided stepwise through the creation and uploading of the various files. The system automatically converts source files to a single Adobe Acrobat PDF version of the article, which is used in the peer-review process. Please note that even though manuscript source files are converted to PDF at submission for the review process, these source files are needed for further processing after acceptance. All correspondence, including notification of the Editor's decision and requests for revision, takes place by e-mail and via the author's homepage, removing the need for a hard-copy paper trail.

Referees

Please submit, with the manuscript, the names and e-mail addresses of 4 potential referees.

Page Charges

Aquatic Botany has no page charges.

PREPARATION

Language

Please write your text in good English (American or British usage is accepted, but not a mixture of these). Use decimal points (not decimal commas); use a space for thousands (10 000 and above).

Use of Wordprocessing Software

It is important that the file be saved in the native format of the wordprocessor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the wordprocessor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. Do not embed "graphically designed" equations or tables, but prepare these using the wordprocessor's facility. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier: <http://www.elsevier.com/guidepublication>). Do not import the figures into the text file but, instead, indicate their approximate locations directly in the electronic text and on the manuscript. See also the section on Electronic illustrations.

To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the "spell-check" and "grammar-check" functions of your wordprocessor.

Article Structure

Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-referencing: do not just refer to "the text". Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

Introduction

State the objectives of the work and provide an adequate background, avoiding a detailed literature survey or a summary of the results.

Experimental

Provide sufficient detail to allow the work to be reproduced. Methods already published should be indicated by a reference: only relevant modifications should be described.

Results

Results should be clear and concise.

Discussion

This should explore the significance of the results of the work, not repeat them. A combined Results and Discussion section is often appropriate. Avoid extensive citations and discussion of published literature.

Conclusions

The main conclusions of the study may be presented in a short Conclusions section, which may stand alone or form a subsection of a Discussion or Results and Discussion section.

Appendices

If there is more than one appendix, they should be identified as A, B, etc. Formulae and equations in appendices should be given separate numbering: Eq. (A.1), Eq. (A.2), etc.; in a subsequent appendix, Eq. (B.1) and so on.

Essential Title Page Information

Title. Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.

Author names and affiliations. Where the family name may be ambiguous (e.g., a double name), please indicate this clearly. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lower-case superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name, and, if available, the e-mail address of each author.

Corresponding author. Clearly indicate who is willing to handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that telephone and fax numbers (with country and area code) are provided in addition to the e-mail address and the complete postal address.**

Present/permanent address. If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a "Present address" (or "Permanent address") may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

Abstract

A concise and factual abstract is required, no longer than 400 words. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separate from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, they must be cited in full, without reference to the reference list. Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Keywords

Immediately after the abstract, provide keywords, using American spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, "and", "of"). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

Abbreviations

Define abbreviations that are not standard in this field in a footnote to be placed on the first page of the article. Such abbreviations that are unavoidable in the abstract must be defined at their first mention there, as well as in the footnote. Ensure consistency of abbreviations throughout the article.

Acknowledgements

Collate acknowledgements in a separate section at the end of the article before the references and do not, therefore, include them on the title page, as a footnote to the title or otherwise. List here those individuals who provided help during the research (e.g., providing language help, writing assistance or proof reading the article, etc.).

Nomenclature and Units

Follow internationally accepted rules and conventions: use the international system of units (SI). If other quantities are mentioned, give their equivalent in SI.

Footnotes

Footnotes should be used sparingly. Number them consecutively throughout the article, using superscript Arabic numbers. Many wordprocessors build footnotes into the text, and this feature may be used. Should this not be the case, indicate the position of footnotes in the text and present the footnotes themselves separately at the end of the article. Do not include footnotes in the Reference list.

Table footnotes

Indicate each footnote in a table with a superscript lowercase letter.

Electronic Artwork

General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Save text in illustrations as "graphics" or enclose the font.
- Only use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Helvetica, Times, Symbol.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.
- Produce images near to the desired size of the printed version.
- Submit each figure as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available on our website:

➔ <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>

You are urged to visit this site; some excerpts from the detailed information are given here.

Formats

Regardless of the application used, when your electronic artwork is finalised, please "save as" or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS: Vector drawings. Embed the font or save the text as "graphics".

TIFF: color or grayscale photographs (halftones): always use a minimum of 300 dpi.

TIFF: Bitmapped line drawings: use a minimum of 1000 dpi.

TIFF: Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale): a minimum of 500 dpi is required.

DOC, XLS or PPT: If your electronic artwork is created in any of these Microsoft Office applications please supply "as is".

Please do not:

- Supply embedded graphics in your wordprocessor (spreadsheet, presentation) document;
- Supply files that are optimised for screen use (like GIF, BMP, PICT, WPG); the resolution is too low;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

Color Artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF, EPS or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color on the Web (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of your accepted article. Please indicate your preference for color in print or on the Web only. For further information on the preparation of electronic artwork, please see <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Please note: Because of technical complications which can arise by converting color figures to "gray scale" (for the printed version should you not opt for color in print) please submit in addition usable black and white versions of all the color illustrations.

Figure Captions

Ensure that each illustration has a caption. Supply captions separately, not attached to the figure. A caption should comprise a brief title (**not** on the figure itself) and a description of the illustration. Keep text in the illustrations themselves to a minimum but explain all symbols and abbreviations used.

Tables

Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text. Place footnotes to tables below the table body and indicate them with superscript lowercase letters. Avoid vertical rules. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in tables do not duplicate results described elsewhere in the article.

References

Citation in Text

Please ensure that every reference cited in the text is also present in the reference list (and vice versa). Any references cited in the abstract must be given in full. Unpublished results and personal communications are not recommended in the reference list, but may be mentioned in the text. If these references are included in the reference list they should follow the standard reference style of the journal and should include a substitution of the publication date with either "Unpublished results" or "Personal communication" Citation of a reference as "in press" implies that the item has been accepted for publication.

Web References

As a minimum, the full URL should be given. Any further information, if known (DOI, author names, dates, reference to a source publication, etc.), should also be given. Web references can be listed separately (e.g., after the reference list) under a different heading if desired, or can be included in the reference list.

References in Special Issue

Please ensure that the words 'this issue' are added to any references in the list (and any citations in the text) to other articles in the same Special Issue.

Reference Style

Text:

All citations in the text should refer to:

1. *Single author:* the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;

2. *Two authors*: both authors' names and the year of publication;

3. *Three or more authors*: first author's name followed by "et al." and the year of publication. Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references should be listed chronologically.

List: References should be arranged first alphabetically and then further sorted chronologically if necessary. More than one reference from the same author(s) in the same year must be identified by the letters "a", "b", "c", etc., placed after the year of publication.

Use the following system for arranging your references:

a. For periodicals

Stewart, D.A., Agnew, D., Boyd, R., Briggs, R., Toland, P., 1993. The derivation of changes in Nephrops per unit effort values for the Northern Ireland fishing fleet. *Fish. Res.* 17, 273-292.

b. For edited symposia, special issues, etc. published in a periodical

Roberts, R.J., 1993. Ulcerative dermal necrosis (UDN) in wild salmonids. In: Bruno, D.W. (Ed.), *Pathological conditions of wild salmonids*. *Fish. Res.* 17, 3-14.

c. For books

Gaugh, Jr., H.G., 1992. *Statistical Analysis of Regional Yield Trials*. Elsevier, Amsterdam.

d. For multi-author books

Bucke, D., 1989. *Histology*. In: Austin, B., Austin, D.A. (Eds.), *Methods for the Microbiological Examination of Fish and Shellfish*. Wiley, New York, pp. 69-97.

In the case of publications in any language other than English, the original title is to be retained. However, the titles of publications in non-Latin alphabets should be transliterated, and a notation such as "(in Russian)" or "(in Greek, with English abstract)" should be added.

Work accepted for publication but not yet published should be referred to as "in press".

References concerning unpublished data and "personal communications" should not be cited in the reference list but may be mentioned in the text.

Journal Abbreviations Source

Journal names should be abbreviated according to

Index Medicus journal abbreviations: <http://www.nlm.nih.gov/tsd/serials/lji.html>;

List of serial title word abbreviations: <http://www.issn.org/2-22661-LTWA-online.php>;

CAS (Chemical Abstracts Service): <http://www.cas.org/sent.html>.

Supplementary Material

Elsevier accepts electronic supplementary material to support and enhance your scientific research. Supplementary files offer the author additional possibilities to publish supporting applications, movies, animation sequences, high-resolution images, background datasets, sound clips and more. Supplementary files supplied will be published online alongside the electronic version of your article in Elsevier Web products, including ScienceDirect: <http://www.sciencedirect.com>. In order to ensure that your submitted material is directly usable, please ensure that data are provided in one of our recommended file formats. Authors should submit the material in electronic format together with the article and supply a concise and descriptive caption for each file. Video files: please supply 'stills' with your files: you can choose any frame from the video or make a separate image. These will be used instead of standard icons and will personalize the link to your supplementary information. For more detailed instructions please visit our artwork instruction pages at <http://www.elsevier.com/artworkinstructions>.

Submission Checklist

It is hoped that this list will be useful during the final checking of an article prior to sending it to the journal's Editor for review. Please consult this Guide for Authors for further details of any item.

Ensure that the following items are present:

One Author designated as corresponding Author:

- E-mail address
- Full postal address
- Telephone and fax numbers

All necessary files have been uploaded

- Keywords
- All figure captions
- All tables (including title, description, footnotes)

Further considerations

- Manuscript has been "spellchecked" and "grammar-checked"

- References are in the correct format for this journal
- All references mentioned in the Reference list are cited in the text, and vice versa
- Permission has been obtained for use of copyrighted material from other sources (including the Web)
- color figures are clearly marked as being intended for color reproduction on the Web (free of charge) and in print or to be reproduced in color on the Web (free of charge) and in black-and-white in print
- If only color on the Web is required, black and white versions of the figures are also supplied for printing purposes

For any further information please visit our customer support site at <http://epsupport.elsevier.com>.

AFTER ACCEPTANCE

Use of the Digital Object Identifier

The Digital Object Identifier (DOI) may be used to cite and link to electronic documents. The DOI consists of a unique alpha-numeric character string which is assigned to a document by the publisher upon the initial electronic publication. The assigned DOI never changes. Therefore, it is an ideal medium for citing a document, particularly 'Articles in press' because they have not yet received their full bibliographic information. The correct format for citing a DOI is shown as follows (example taken from a document in the journal *Physics Letters B*):

doi: 10.1016/j.physletb.2003.10.071

When you use the DOI to create URL hyperlinks to documents on the web, they are guaranteed never to change.

Proofs

One set of page proofs in PDF format will be sent by e-mail to the corresponding author. Elsevier now sends PDF proofs which can be annotated; for this you will need to download Adobe Reader© version 7 (or higher) available free from <http://www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html>.

Instructions on how to annotate PDF files will accompany the proofs. The exact system requirements are given at the Adobe site: <http://www.adobe.com/products/acrobat/acrrsystemreqs.html#70win>.

If you do not wish to use the PDF annotations function, you may list the corrections (including replies to the Query Form) and return to Elsevier in an e-mail. Please list your corrections quoting line number. If, for any reason, this is not possible, then mark the corrections and any other comments (including replies to the Query Form) on a printout of your proof and return by fax, or scan the pages and e-mail, or by post. Please use this proof only for checking the typesetting, editing, completeness and correctness of the text, tables and figures. Significant changes to the article as accepted for publication will only be considered at this stage with permission from the Editor. We will do everything possible to get your article published quickly and accurately. Therefore, it is important to ensure that all of your corrections are sent back to us in one communication: please check carefully before replying, as inclusion of any subsequent corrections cannot be guaranteed. Proofreading is solely your responsibility. Note that Elsevier may proceed with the publication of your article if no response is received.

Offprints

The corresponding author, at no cost, will be provided with a PDF file of the article via e-mail. The PDF file is a watermarked version of the published article and includes a cover sheet with the journal cover image and a disclaimer outlining the terms and conditions of use. Additional reprints can be ordered on a reprint order form which will be sent to the corresponding author of the accepted article by the publisher.

Author's Discount

Contributors to Elsevier journals are entitled to a 30% discount on most Elsevier books, if ordered directly from Elsevier.

AUTHOR INQUIRIES

For inquiries relating to the submission of articles (including electronic submission where available)

please visit this journal's homepage. You can track accepted articles at <http://www.elsevier.com/trackarticle> and set up e-mail alerts to inform you of when an article's status has changed. Also accessible from here is information on copyright, frequently asked questions and more. Contact details for questions arising after acceptance of an article, especially those relating to proofs, will be provided by the publisher.

This is a spacer...