

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA
Programa de Pós-Graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais

ESTUDOS TAXONÔMICOS DAS SUBESPÉCIES *MICROPHOLIS GUYANENSIS* (A. DC.) PIERRE SUBSP. *DUCKEANA* (BAEHNI) T. D. PENN., *MICROPHOLIS GUYANENSIS* (A. DC.) PIERRE SUBSP. *GUYANENSIS* E *MICROPHOLIS GUYANENSIS* (A. DC.) PIERRE SUBSP. 3 (SAPOTACEAE JUSS.): UMA ABORDAGEM BIOSISTEMÁTICA

MÁRIO HENRIQUE TERRA ARAUJO

Manaus – AM
Fevereiro, 2008

UNIVERSIDADE FEDERAL DO AMAZONAS
INSTITUTO NACIONAL DE PESQUISAS DA AMAZÔNIA
Programa de Pós-Graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais

ESTUDOS TAXONÔMICOS DAS SUBESPÉCIES *MICROPHOLIS GUYANENSIS* (A. DC.) PIERRE SUBSP. *DUCKEANA* (BAEHNI) T. D. PENN., *MICROPHOLIS GUYANENSIS* (A. DC.) PIERRE SUBSP. *GUYANENSIS* E *MICROPHOLIS GUYANENSIS* (A. DC.) PIERRE SUBSP. 3 (SAPOTACEAE JUSS.): UMA ABORDAGEM BIOSISTEMÁTICA

MÁRIO HENRIQUE TERRA ARAUJO

Orientadora: Dra. APARECIDA DONISETTE DE FARIA

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Tropical e Recursos Naturais do convênio INPA/UFAM, como parte dos requisitos para obtenção do Título de Mestre em Ciências Biológicas, área de concentração em Botânica.

Manaus – AM
Fevereiro, 2008

FICHA CATALOGRÁFICA:

Araujo, M. H. T.

Estudos taxonômicos das subespécies *Micropholis guyanensis* (A. D C.) Pierre subsp. *guyanensis*, *Micropholis guyanensis* (A. DC.) Pierre subsp. *duckeana* (Baehni) Penn. e *Micropholis guyanensis* (A. DC) Pierre subsp. 3 (Sapotaceae Juss.): Uma abordagem biossistemática / Mário Henrique Terra Araujo: / INPA/ UFAM, 2008.

87p. ilustr.

Dissertação de Mestrado – Área de concentração: Botânica.

1. Sapotaceae. 2. *Micropholis guyanensis*. 3. Biologia reprodutiva. 4. Morfometria. 5. Amazônia Central.
ed.

Sinopse:

O presente trabalho teve como objetivo a realização do estudo de *Micropholis guyanenseis* e suas três subespécies propostas por Pennington (2006), através de estudos de biologia floral e de análises morfométricas de folhas e flores das três subespécies amostradas em diferentes sítios de ocorrência.

AGRADECIMENTOS

Aos meus pais, que mesmo não entendendo o que eu faço ou porque fico pendurado em uma árvore “olhando bicho sentar nas flores”, sempre deram muito apoio durante todo este tempo.

Aos meus avôs por todo auxílio e por sempre que possível exportar queijo tipo Minas para sanar minha abstinência de produtos mineiros nesta terra encalorada.

À minha companheira Leticia, essa pessoa extremamente “cabeça”, com quem venho convivendo já há alguns anos e que tem me acompanhado em todas as fases de minha vida.

Aos meus Orientadores, Cida e Zé, que sempre auxiliaram em tudo, desde minha entrada “de pára-quadras na Amazônia” até a conclusão deste trabalho.

Ao Prof. Webber que, com toda sua imensa calma, me auxiliou a solucionar várias dúvidas sem ter de marcar hora nem lugar.

Ao Alberto Vicentini e Mike Hopkins pelas valiosas considerações em relação ao desenvolvimento deste trabalho.

À amizade, companheirismo e força de meu auxiliar de campo, José Ribamar Mesquita Ferreira. Sem ele, todo o trabalho de campo teria sido muito mais difícil.

À pesquisadora da Coordenação de Entomologia deste Instituto de Pesquisa que jogou, literalmente, no lixo, todo o resultado do meu trabalho de campo de 2006, e conseqüentemente, grande parte do meu trabalho de mestrado, me obrigando a repetir novamente todo o trabalho de campo. A ela um agradecimento especial por me forçar a realizar um trabalho melhor.

Ao grande colega Barriga, lá do interior de Minas que, mesmo com sua “lezera”, foi quem mais me auxiliou no final dos trabalhos de campo, quando tudo havia ido, literalmente, para o lixo.

Aos amigos de Minas, Wurs, Catatau, Fábio, Samuel, Daniel, Dênis e Baiano que sempre me deram grande força.

Aos colegas de Minas, erradicados em Manaus, Fernanda e Alexandre, por me fazer reviver as relações de amizade desta maravilhosa terra.

Ao pessoal do Herbário, que mesmo reclamando para o curador, e não gostando que eu ficasse até as 18 hs, de certa forma ajudaram.

Ao grande amigo e Mineiro Chicon, por todo auxílio em Manaus e no Herbário.

Ao Nory Daniel, por toda amizade, estresse e auxílio no campo. Valeu!

Ao Daniel, por todo auxílio nos trabalhos de campo.

Aos colegas de república, Ricardo, Gordo, Dani, Dri e agregados (Lis) pela convivência.

Ao Darwin, esse animal descontrolado e hiperativo.

A todos os colegas de turma: Lili, Eduardo, a dupla de “Bonitões” Fumaça e André, Eduardo, Tati, Taysa, e Otilene que, sem dúvida, participaram de tudo.

Ao pessoal do laboratório e colegas da “empreita” Uatumã: Serginho, Juliane, Amanda, Patrícia e Meire.

À Maria do Carmo e Volker Britsch, professores do IB da UNICAMP por todo auxílio nas análises morfológicas neste instituto.

À Iara, Técnica do laboratório de Biossistemática do IB da UNICAMP, pelo auxílio nas microscopias de fluorescência neste instituto.

À Flávia Costa por estar sempre disposta a socorrer os mais necessitados e perdidos no obscuro mundo da estatística.

À Eliana Chagas e à Eliana Cardoso por todo o incentivo e por terem me conduzido para esse mundo clorofilado.

Ao amigo Charles pelo auxílio, amizade e pelas remadas descontraídas no Rio Negro.

À Coordenação de Pesquisas em Botânica pela infra-estrutura. Em especial a Neide e Gisele por todos os “galhos quebrados”.

À Montana Ltda. por acreditar neste trabalho e por financiar parte dos equipamentos necessários para o desenvolvimento dos trabalhos de campo.

Ao CNPq pela bolsa concedida. Sem ela, certamente nada teria sido possível.

À todas as Sapotaceae da Reserva Ducke.

E, por fim, ao meu corpo “único” e ao meu sistema imune, por suportarem todas as experiências e estresses vividos na Amazônia, sem dar pane (ou quase).

SUMÁRIO

Introdução Geral	1
Capítulo 1. Biologia floral como ferramenta para delimitar o complexo Infra-específico de <i>Micropholis guyanensis</i> (A.DC.) Pierre (Sapotaceae)	4
I. Introdução	4
II. Métodos	7
2.1. Área de estudo	7
2.2. Acesso às estruturas reprodutivas	8
2.3. Plantas estudadas	8
2.4. Estudos morfológicos	10
2.5. Estudos de biologia reprodutiva	10
2.5.1. Teste para determinação da funcionalidade floral	10
2.5.2. Experimentos de biologia reprodutiva	11
2.6. Crescimento de tubo polínico	12
2.7. Observação e coleta de visitantes	13
III. Resultados	15
3.1. Morfologia Floral de <i>Micropholis guyanensis</i>	15
3.1.1. <i>Micropholis guyanensis</i> subsp. <i>guyanensis</i>	16
3.1.2. <i>Micropholis guyanensis</i> subsp. <i>duckeana</i>	18
3.2. Cruzamentos	19
3.3. Comportamento dos visitantes e frequência de visitaçã	21
IV. Discussão	28
4.1. Morfologia floral	30
4.2. Visitantes e polinização	33
4.2.1. Envolvimento de Lepidópteros na polinização	34
4.2.2. O envolvimento de abelhas na polinização	36
V. Conclusão	37
Capítulo 2. Estudos morfométricos das subespécies de <i>Micropholis guyanensis</i> (A.DC.) Pierre (Sapotaceae)	39
I. Introdução	39
II. Métodos	42
2.1. Material Analisado	42
2.2. Levantamento dos dados morfométricos	44

2.3. Ordenação	46
2.4. Análise dos caracteres micromorfológicos	49
III. Resultados	50
IV. Discussão	61
V. Conclusão	67
Referências Bibliográficas	68
Anexo 1	82

RESUMO

Pennington (2006) propôs três subespécies para *Micropholis guyanensis* (A. DC.) Pierre, com base na variação de caracteres morfológicos apresentados pela espécie, como a forma e tamanho de folha e comprimento do pecíolo. Entretanto, esta espécie possui ampla distribuição geográfica e, na região de Manaus, AM, a sobreposição dos caracteres morfológicos não contribui, na maioria das vezes, para sua distinção. O objetivo geral desta dissertação foi realizar um estudo biosistemático com a espécie *Micropholis guyanensis*, com utilização de dados reprodutivos, micromorfológicos e morfométricos, através de uma Análise Multivariada de Escala Multidimensional Não Métrica (NMDS) para 14 caracteres de folhas e flores, de forma a sustentar com maior clareza a delimitação, caso existissem, das três subespécies. Os resultados mostraram que existe um grande contínuo entre as três subespécies, não sendo possível caracterizá-las como distintas. Este resultado, associado ao fato destas subespécies serem simpátricas permite afirmar que *Micropholis guyanensis* subsp. *guyanensis*, *M. guyanensis* subsp. *duckeana* e *M. guyanensis* subsp. 3 devem ser consideradas, simplesmente, como uma espécie altamente variável, tanto em relação aos seus caracteres vegetativos, quanto em relação aos seus caracteres reprodutivos.

ABSTRACT

The genus *Micropholis*, has been studied by several authors and recently, Pennington (2006) proposed three subspecies to *Micropholis guyanensis* (A. DC.) Pierre, based on the variation of morphological characters presented by the species, such as shape and size of the leaf, and length of the petiole. However, this species has a broad geographical distribution and in the region of Manaus-AM the overlap of these morphological characters does not contribute, in most cases, for the distinction of these subspecies. The general objective of this dissertation was to perform a biosystematic study with the specie *Micropholis guyanensis*, with a broader approach, using reproductive, micromorphologic and morphometric data (Analysis Multivariate of Nonmetric Multidimensional Scaling (NMDS) for 14 characters of leaves and flowers), to clearly sustain the subspecies delimitation. The results showed that there is a large continuum between the subspecies *M. guyanensis* subsp. *guyanensis*, *M. guyanensis* subsp. *duckeana* and *M. guyanensis* subsp. 3 not being possible characterize them as distinct. Therefore, the results suggest, considering not only the morphological differences, but also that these subspecies are sympatric that *Micropholis guyanensis guyanensis*, *M. guyanensis subsp. duckeana* and *M. guyanensis subsp. 3* should be regarded simply as a highly variable specie, in their vegetative characters and in the floral reproductive mode.

INTRODUÇÃO GERAL

Para grupos onde dados morfológicos não são suficientemente informativos, novas abordagens, como as proporcionadas por estudos biosistemáticos, se fazem necessárias, permitindo uma delimitação mais segura de um táxon. Pesquisas na área de biosistemática objetivam a compreensão dos mecanismos e processos que orientam a evolução, influenciam os padrões de variação e causam especiação de um determinado grupo (Stuessy 1990). O conceito pode ser entendido como a união da taxonomia tradicional ao lado da citologia, citogenética e ecologia (Halnet & Mettin 1989), permitindo, desta forma, um melhor entendimento biológico e evolutivo da classificação taxonômica de um grupo. De acordo com Merxmuller (1970), a biosistemática pode ser bem sucedida quando supera as lacunas entre a genética e a sistemática podendo, assim, transformar-se em parte integral da sistemática.

A família neotropical, Sapotaceae, compreende 11 gêneros e cerca de 450 espécies (Pennington 1990). Espécies deste grupo podem ser encontrados em Florestas de Terra Firme úmidas localizadas abaixo de 1.000 metros de altitude da América, África, Ásia e Ilhas do Pacífico. Algumas, como *Sideroxylon* L. e *Argania* Roem. & Shult., podem ser encontrados em regiões áridas e semi-áridas (Pennington 1991).

Na Amazônia Brasileira são encontradas cerca de 200 espécies (Souza & Lorenzi 2005). Na Amazônia Central, a família Sapotaceae é um dos grupos de maior diversidade e abundância, onde a quantidade de suas espécies se iguala ou excede várias outras, alcançando índices de diversidade superiores aos de muitas outras famílias de espécies arbóreas da Amazônia (Pennington 1991, Steege *et al.* 2000). Especificamente na Reserva Florestal Ducke, em Manaus, AM, foram registrados nove gêneros

(*Chrysophyllum* L., *Chromolucuma* Ducke, *Ecclinusa* Mart., *Elaeoluma* Baill., *Micropholis* (Griseb.) Pierre *Manilkara* Adans., *Pouteria* Aublet, *Pradosia* Liais e *Sarcaulus* Radlk.) e 78 espécies (Ribeiro *et al.* 1999, Pennington 2006).

Micropholis (Griseb.) Pierre é um dos 19 gêneros da tribo Chrysophylleae, subfamília Sideroxyloideae. Compreende 38 espécies distribuídas pela América Central e do Sul e Ilhas do Caribe. No Sul da Venezuela, Guianas, Oeste e Centro da Amazônia Brasileira e Amazônia Peruana foram registradas 29 espécies.

Micropholis guyanensis (A.DC.) Pierre é uma espécie arbórea e dióica. Com base na variação de caracteres morfológicos, como a forma e tamanho de folha, características da nervura principal (sulcada ou aplainada) e comprimento do pecíolo, Pennington (2006) reconhece três subespécies para este táxon, *M. guyanensis* (A.DC.) Pierre subsp. *guyanensis*, *M. guyanensis* (A.DC.) Pierre subsp. *duckeana* (Baehni) T.D. Penn. e *M. guyanensis* (A.DC.) Pierre subsp. 3 que ocorrem simpatricamente na Reserva Florestal Ducke em Manaus, AM. Entretanto, muitas vezes, estes caracteres são insuficientes para a identificação dessas subespécies.

O objetivo geral do presente trabalho foi estudar o complexo subespecífico de *Micropholis guyanensis*, com utilização de informações de biologia floral, caracteres micromorfológicos do indumento de lâminas foliares e análise morfométrica de folhas e flores, para determinar se existe ou não três entidades sejam elas espécies ou subespécies. O estudo de biologia floral foi desenvolvido na Reserva Florestal Ducke em Manaus, com objetivo de verificar se existem barreiras reprodutivas entre estas subespécies e as análises micromorfológicas e morfométricas foram realizadas com amostras depositadas, principalmente, no acervo do Herbário INPA, que possui

espécimes de boa parte da área de distribuição do gênero.

Capítulo 1.

Biologia floral como ferramenta para delimitar o complexo infra-específico de *Micropholis guyanensis* (A. DC.) Pierre (Sapotaceae)

I. INTRODUÇÃO

A utilização de categorias infra-específicas promoveu, ao longo do século passado, intensos debates a respeito de sua importância na taxonomia (Patten & Campbell 2000). Wilson & Brown (1953), Fox (1955), Starrett (1958) e Boivin (1962), há quase meio século, já postulavam que o conceito de subespécie, e seu uso, eram extremamente inconsistentes e tristemente articulados. Atualmente, segundo Zink (2004) e Haig *et al.* (2006), um dos grandes obstáculos sobre a utilização desse nível hierárquico está, principalmente, em seu reconhecimento e aplicação correta. Pennington (2006) optou por utilizar esta categoria taxonômica em sua monumental obra, em razão da ocorrência de variação de alguns caracteres morfológicos vegetativos em nível infra-específico e que, em conjunto, formam três grupos (subespécies). Porém, segundo o mesmo autor, estas subespécies podem fazer parte de uma espécie com ampla distribuição, existindo muitos indivíduos com características intermediárias entre as subespécies, como ocorre em *M. guyanensis* subsp. *guyanensis*, *M. guyanensis* subsp. *duckeana* e *M. guyanensis* subsp. 3. Entretanto não se sabe até o presente se existem ou não barreiras reprodutivas entre estas subespécies que permitam sustentar estas como tal ou mesmo como espécies.

A utilização de dados reprodutivos como auxílio para verificação da existência de barreiras reprodutivas entre um grupo pode ser considerada extremamente pertinente em um trabalho taxonômico (Stuessy 1990). Contudo, na grande maioria das vezes a utilização de dados reprodutivos como mais uma ferramenta na delimitação de um determinado táxon, demanda um grande esforço e diversos experimentos. Principalmente por estes motivos, não são muito utilizados. A compreensão das características morfológicas e de biologia floral, de acordo com Aizen & Feisinger (1994) e Lenzi & Orth (2004), pode ser subentendida como a condição primordial para se avaliar o sistema reprodutivo de uma espécie sendo, também, de grande importância para um melhor entendimento das relações filogenéticas entre espécies.

Apesar de ser mencionada como uma das famílias de maior representatividade e importância ecológica para a região Amazônica (Milliken 1998, Steege *et al.* 2000), até o presente, existem poucos registros sobre a biologia floral de espécies de Sapotaceae. Dentre estes, pode-se destacar o estudo realizado em Perichón, Província de Corrientes, Argentina por Franceschini (2002) para *Sideroxylon obtusifolium* (Roem. & Schult.) T. D. Penn. De acordo com os resultados deste, a espécie é nectarífera e seu pólen é possivelmente transportado por *Appis mellifera* L. e duas morfoespécies de Syrphidae (Díptera). Além disso, o autor constatou também que a presença de visitantes florais associado à protogenia pode estar relacionada com a ocorrência de xenogamia na espécie.

Outro estudo de fenologia e polinização, realizado com espécies dessa família foi desenvolvido por Salinas-Peba & Parra-Tabla (2007) com *Manilkara zapota* (L.) P. Royen. em uma comunidade Mayan no Estado de Yucatan, México. Os resultados desse

estudo mostraram que essa espécie apresenta autocompatibilidade (geitonogamia) e é possivelmente polinizada por espécies nativas de Abelhas *Trigona*, embora alguns estudos desenvolvidos para a mesma espécie tenham indicado espécies de thrips (Thysanoptera) como possíveis polinizadores (Salinas-Peba & Parra-Tabla 2007). Já o estudo realizado por Gama & Barbosa (2007) em Uberlândia, MG, constatou a participação de abelhas e Lepidópteros no processo de polinização de *Pouteria torta* (Mart.) Radlk.

Além destes, foram realizados estudos com eficiência de polinização de espécies da família como o efetuado por Hansen *et al.* (2002) nas Ilhas Mauritius com *Sideroxylon cinereum* Lam. e *S. puberulum* A. DC.

Como informações obtidas a partir de estudos de biologia reprodutiva são consideradas de grande valor no auxílio à delimitação de táxons em complexos infra-específicos, e como não existiam trabalhos realizados sobre a biologia floral de espécies de *Micropholis*, foi desenvolvido o presente trabalho, cujo objetivo foi efetuar um estudo biosistemático envolvendo biologia floral e de polinização de *M. guyanensis* e suas três subespécies com o propósito de se verificar se as populações destas subespécies estão ou não isoladas reprodutivamente.

II. MÉTODOS

2.1. Área de estudo

O estudo foi desenvolvido no período de março de 2005 a dezembro de 2007 com 12 espécimes marcados na Reserva Florestal Ducke (**Fig. 1**), pertencente ao

Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), distante 26 quilômetros a Noroeste da cidade de Manaus (59° 52'40" E 59° 58'00" W e 03° 00'00" E 03° 08' 00" S). A Reserva possui uma área florestal de 10.000 ha. (10 km X 10 km) e apresenta uma floresta classificada como Tropical de Terra Firme, de dossel fechado e sub-bosque com pouca luminosidade (Alencar *et al.* 1979, Ribeiro *et al.* 1999). O clima do local apresenta temperaturas raramente inferiores a 18 °C e chuvas durante todo o ano. Na área predominam solos do tipo amarelo de várias texturas: argilosa (latossolo amarelo álico) nas encostas mais elevadas do terreno, e argilo-arenosos nas encostas e partes baixas, sendo estes ácidos com boa drenagem e resistentes a erosão.



Figura 1. Imagem da cidade de Manaus, AM, evidenciando a localização da Reserva Florestal Ducke.

2.2. Acesso às estruturas reprodutivas

Técnicas de ascensão e deslocamento em dossel foram aplicadas devido à grande altura das plantas, que em alguns indivíduos ultrapassou 35 metros. Por meio

desta técnica foi possível a realização de coletas de estruturas reprodutivas, observações e coletas de visitantes, experimentos e registros fotográficos, (**Figs. 2-5**).

As técnicas adotadas para acesso ao dossel foram baseadas, inicialmente, no estabelecimento de cordas guias no dossel das plantas. Posteriormente, a ascensão foi realizada através do resgate das cordas estáticas pelas cordas guias. O deslocamento no dossel das plantas em estudo foi efetuado através da utilização da técnica de “Fausses Fourches” (Perry 1978, Dial & Tobin 1995, Donahue & Wood 1995, Laman 1995) o que possibilitou o acesso a grande parte dos ramos das plantas em estudo.

2.3. Plantas Estudadas

Foram incluídos no estudo seis indivíduos da subespécie de *Micropholis guyanensis* subsp. *guyanensis*, sendo duas plantas pistiladas e quatro estaminadas, e seis de *M. guyanensis* subsp. *duckeana*, sendo três plantas pistiladas e três estaminadas, marcados pelo Projeto “Flora da Reserva Ducke” (Ribeiro *et al.* 1999). Não foram encontrados indivíduos de *M. guyanensis* subsp. 3, nessa área, que permitissem a realização de estudos reprodutivos.

Para o estudo, foram realizadas visitas quinzenais durante todo o período de trabalho (meses de junho a setembro dos anos de 2006 e 2007), e semanais ou diárias durante o período de floração e de frutificação da espécie.



Figuras 2-5. Acesso às estruturas reprodutivas de *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* e *M. guyanensis* subsp. *duckena* na Reserva Florestal Ducke. **2.** Passagem de cordas guia em *M. guyanensis* subsp. *duckeana* utilizando “Big Shot” **3.** Acesso à copa de *M. guyanensis* subsp. *duckena* **4.** Deslocamento na copa de *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* **5.** Ponto de observação em *M. guyanensis* subsp. *duckeana*.

Em cada indivíduo de cada subespécie de *M. guyanensis* foram marcadas 200 flores para observações dos visitantes e do processo de frutificação. Foram realizadas 60

horas de observação em cada indivíduo com o propósito de serem obtidas informações sobre duração e modificações sofridas ao longo da antese, cor das peças florais, emissão de odor e comportamento dos visitantes ao longo do dia (Coelho & Barbosa 2003, Faegri & Van der Pijl 1979).

2.4. Estudos morfológicos

A morfologia floral foi caracterizada com a análise de 30 flores frescas de cada espécime estaminada e pistilada estudada, em período de pré-antese, antese e pós-antese, com auxílio de um estereomicroscópio. Durante estas análises foram determinados o número, disposição e cor de cada um dos verticilos florais.

O início da antese para as flores pistiladas foi definido quanto à presença de uma pequena abertura em seu ápice, receptividade estigmática e emissão de odores e para as flores estaminadas quanto à abertura das anteras, liberação de grãos de pólen e presença de aroma (Lenza & Oliveira 2006).

2.5. Estudos de biologia reprodutiva

2.5.1. Teste para determinação da funcionalidade floral:

1. Receptividade Estigmática: foi realizado com a inserção de Peróxido de Hidrogênio (H_2O_2) 10 % nos estigmas de 20 flores ao longo de um dia. A observação da reação foi efetuada com o auxílio de uma lupa de mão com aumento de 20 X (Galen & Plowright 1987, Lenzi *et al.* 2005).

2. Detecção das regiões emissoras de odor nas flores: foi realizada com a inserção de flores em uma solução de Vermelho Neutro por um período de até uma hora e em seguida, em água destilada para lavagem (Dafni 1992, Kearns & Inouye 1993). As partes coradas de vermelho pela reação indicaram a presença e localização dos osmóforos.

3. Presença de néctar nas flores: foi verificada com utilização de glico-fita (Eli Lilly do Brasil Ltda), que indica a presença de glicose (Lima *et al.* 2005).

2.5.2. Experimentos de biologia reprodutiva

Foram efetuados, também, cruzamentos no campo, onde flores de cada planta pistilada dos indivíduos estudados foram previamente ensacadas na pré-antese (Machado & Oliveira 2000, Lenza & Oliveira 2006, Silva *et al.* 2006) e, posteriormente, submetidas aos seguintes tratamentos:

1- Polinização cruzada: pólen proveniente de flores de uma planta estaminada foi inserido no estigma de 200 flores de uma planta pistilada da mesma subespécie.

2- Agamospermia: 100 flores pistiladas das duas subespécies foram ensacadas em pré-antese para verificação da ocorrência da formação de frutos sem fecundação.

3- Controle: 200 flores, previamente marcadas, foram acompanhadas para a verificação da eficácia da polinização natural foi observada.

O sucesso da polinização cruzada manual, agamospermia e do controle das duas subespécies, foi estimado através do teste de comparação entre duas proporções ($p = 0,05$), considerando-se o número de flores tratadas versus os números de frutos

formados (Benezar & Pessoni 2006). Foi utilizado para este teste o programa estatístico BioEstat 2.0.

2.6. Crescimento de tubo polínico

Com a finalidade de se observar o crescimento dos tubos polínicos e tempo necessário para que o tubo polínico atinja o óvulo (Martin 1959), 36 flores de cada planta pistilada das subespécies foram ensacadas com sacos de náilon tipo organza, na pré-antese, para impedir a passagem de grãos de pólen. Quando em antese, estas flores foram retiradas da planta e inseridas em Gel de Agarose. Em seguida, grãos de pólen de plantas estaminadas da mesma subespécie foram inseridos nos estigmas destas flores. Não foi possível efetuar o cruzamento entre as subespécies, pois estas não apresentaram florações sobrepostas.

Após receberem grãos de pólen, três pistilos em intervalos de tempo de 2, 4, 6, 8, 10, 12, 18, 24, 30, 36, 48 e 72 horas foram retirados do Gel de Agarose e fixados em FAA 50% por 24 horas e, em seguida, conservados em álcool 50%. Posteriormente, esse material foi submetido à análise em microscopia de fluorescência.

Para verificação do crescimento do tubo polínico, através de análise em microscópio de fluorescência, os pistilos polinizados foram inicialmente imersos em NAOH e submetidos, durante 20 minutos, a uma temperatura de 60°C. Entretanto, verificou-se que a utilização de NAOH com o propósito de diafanizar o material promoveu o escurecimento dos pistilos, e não proporcionou seu amolecimento. Uma nova tentativa efetuada com Hipoclorito de Sódio diluído (água sanitária comercial)

mostrou-se mais eficiente para a diafanização do material. Após diafanizados, os pistilos foram lavados com água destilada em 60 séries para extração de todo o Hipoclorito de Sódio e neutralização do pH. Depois de lavados, os pistilos foram corados em lâmina com Azul de Anilina, segundo Dafini (1992), e observados em microscópio de fluorescência, modelo Olympus BX51, em um aumento de 20x. As imagens obtidas foram processadas no Programa Image Pró plus 6.1.

Esta análise foi realizada no Laboratório de Biossistemática, Instituto de Biociências da Universidade de Campinas (UNICAMP).

2.7. Observação e coleta de visitantes florais

O comportamento dos visitantes, tempo de permanência e horário de visita, foi levantado a partir de 60 horas de observações e coletas, com auxílio de rede entomológica, em diferentes horários do dia, e complementados com registros fotográficos (Fracasso & Sazima 2004, Silva *et al.* 2006).

Para coleta e monitoramento de insetos de tamanho reduzido, como thrips (Thysanoptera), foram utilizadas armadilhas adesivas confeccionadas em folhas plásticas transparentes, com dimensões 10x10 cm e recobertas com cola (Tangle-Trap, marca TANGLEFOOT) incolor e inodora, fixadas próximas as inflorescências de *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* e *M. guyanensis* subsp. *duckeana*. Para verificar qual o horário de maior concentração destes visitantes, foi efetuado um ciclo de exposição e retirada das armadilhas adesivas, em um período de 24 horas. Este ciclo de observação foi iniciado com a fixação de quatro armadilhas em diferentes pontos no dossel e, após

duas horas de exposição, estas armadilhas eram retiradas e outras quatro fixadas no mesmo local. Depois de retiradas, as armadilhas foram individualmente cobertas por uma fina folha plástica transparente e levadas ao congelador para conservação dos insetos. Posteriormente, as armadilhas foram analisadas em laboratório com uso de estereomicroscópio. Este processo foi repetido para todas as plantas em estudo, juntamente com um experimento controle, realizado no mesmo período com as plantas estéreis de *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* e *M. guyanensis* subsp. *duckeana*.

Foi realizado também, um experimento de exclusão, para testar a eficiência dos visitantes. Neste experimento, foram ensacadas 200 flores em diferentes pontos da copa das plantas pistiladas de *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* e *M. guyanensis* subsp. *duckeana*, com uma tela que permitia apenas a passagem de thrips e impedia a passagem de lepidópteros e abelhas. O experimento controle foi efetuado em outras 200 flores não protegidas com nenhum tipo de tela. Após um período de 30 dias, as telas foram retiradas e os frutos formados processados, contados e comparados com o controle.

Foram também determinadas a frequência de visitas às flores, segundo Teixeira & Machado (2004) e Leite & Machado (2007), sendo classificados os visitantes como muito freqüente (≥ 4 visitas hora), freqüente (± 3 visitas.hora), pouco freqüente (± 2 visitas.hora) e raro (≤ 1 visitas.hora).

Os insetos coletados foram processados para preservação, separados por ordem e/ou família e morfotipados. Posteriormente, foram enviados a especialistas para identificação taxonômica. As imagens dos Lepidópteros visitantes foram identificadas pelo Dr. Keith Spalding Brown Jr., pesquisador do Departamento de Zoologia, Museu

de História Natural da Universidade de Campinas (UNICAMP), e por Dr. Ronaldo Francini, pesquisador da Universidade de Santos (Unisantos). O material coletado (Lepidópteros) não foi depositado na coleção do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia em circunstância do extravio do material no Departamento de Entomologia da mesma Instituição.

III. RESULTADOS

3.1. Morfologia Floral de *Micropholis guyanensis*

Micropholis guyanensis ocorre no interior de Floresta de Terra Firme, em áreas de baixio e platô, na Reserva Ducke. A floração iniciou em julho estendendo-se até setembro de 2006 e de agosto a setembro de 2007.

As flores desta espécie são unissexuadas (planta dióica), actinomorfas com a corola de coloração creme, amarela ou esverdeada, formada por cinco pétalas parcialmente unidas. Os estames são epipétalos, com filete de coloração amarelada. As cinco anteras são basifixas, lanceoladas e apresentam abertura transversal. As flores estaminadas apresentam um pistilódio com ovário contendo cinco óvulos e estigma, assim como as anteras, ocorrendo no mesmo nível dentro da corola. Após a abertura da corola, o estigma apresenta-se levemente lobado (**Fig. 7**). Abaixo do ovário encontra-se uma estrutura diciforme, densamente recoberta por pêlos, na qual foi observada a formação e acumulação de grande quantidade de néctar.

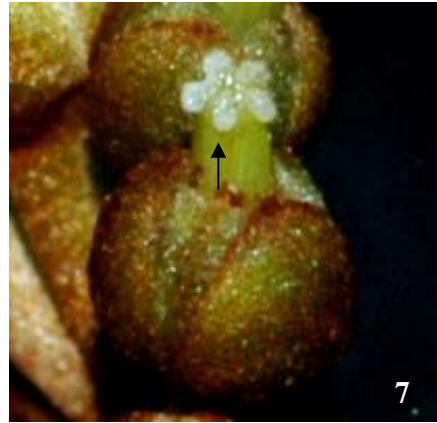
As flores pistiladas não apresentam anteras, apenas um filete epipétalo de coloração amarelado (**Fig.6**). O pistilo, diferente do que ocorre nas flores estaminadas,

apresenta um estigma de coloração esbranquiçada que, quando receptivo, apresenta evidentes cinco lóbulos e, sob sua superfície, uma secreção estigmática de aspecto viscoso (estigma úmido) (**Fig. 7**). Uma estrutura diciforme recoberta por pêlos também está presente na região abaixo do ovário, como ocorre na flor estaminada, mas aqui a quantidade de tricomas é visivelmente menor.

As flores desta espécie são fragrantas durante todo o período em que permanecem abertas. O aroma presente nas flores é doce e se assemelha a “tabaco de chocolate”, podendo ser percebido tanto durante o dia quanto à noite. O Teste de Vermelho Neutro indicou que as flores possuem uma região circular, localizada entre os lóbulos das pétalas que, possivelmente, são as áreas responsáveis pela produção de aroma (**Fig. 9**).

3.1.1. *Micropholis guyanensis* subsp. *guyanensis*

Nas flores estaminadas da subespécie *M. guyanensis* subsp. *guyanensis*, a abertura da corola inicia entre 14:00hs e 17:00hs e finaliza aproximadamente às 5:00hs do próximo dia. Os lobos da corola se abrem aos poucos e, quando abertos, apresentam um aspecto túrgido, de coloração amarelada. As anteras encontram-se abertas antes da finalização da abertura da corola e o estigma apresenta uma coloração verde-claro. Nas flores que se encontram abertas, é possível verificar a presença de néctar na base do ovário.



Figuras 6-9. Flores de *M. guyanensis*. **6.** Flores pistiladas em antese e pós-antese, evidenciando os filetes residuais. **7.** Flores pistiladas com estigma fortemente lobado. **8.** Flores estaminadas após período de antese. **9.** Região corada por Vermelho Neutro, evidenciando as regiões circulares localizadas entre os lóbulos das pétalas, onde estão localizadas as áreas responsáveis pela produção de aromas

Após o período de antese, entre 20:00hs e 3:00hs, a corola escurece, passando a apresentar uma coloração amarelo-acastanhado a se desprender da flor. Após um período de até 35 horas após a antese, o tubo da corola é totalmente desprendido e liberado da flor e o pistilo permanece parcialmente recoberto pelas sépalas, ficando visível apenas parte do estilete e estigma. A partir desse momento, o estigma e o estilete adquirem uma coloração verde-acastanhada, desidratam e, posteriormente, caem da inflorescência (**Fig. 8**).

Para as flores pistiladas desta espécie foi verificado que a corola começa a abrir aproximadamente às 10:00 hs e a receptividade estigmática inicia-se aproximadamente às 5:00 hs e se estende até 15:30 hs, período em que o estigma apresenta intensa secreção, encontra-se a altura dos lóbulos da corola e apresenta cinco lóbulos claramente definidos. Neste período, a flor apresenta forte aroma e grande quantidade de néctar, que chega a preencher todo o tubo da corola. Aproximadamente 20 horas após a antese, o tubo da corola é expulso da flor.

3.1.2. *Micropholis guyanensis* subsp. *duckeana*

Em *Micropholis guyanensis* subsp. *duckeana* a abertura da corola se inicia, aproximadamente, às 15:00 hs nas plantas estaminadas, e a corola se encontra totalmente aberta, com os lóbulos eretos, às 4:30 hs do próximo dia. O início da antese foi verificado no período da manhã, entre 5:00 hs e 10:00 hs, quando a corola apresenta um aspecto túrgido e amarelado. Às 15:00 hs, as anteras apresentam coloração amarelo-acastanhada. Finalizada a antese, a corola escurece. Aproximadamente 40 horas após a abertura da flor, entre 19:00 hs e 3:00 hs, a corola é expelida. Após a queda da corola, a flor desidrata e, posteriormente, cai da inflorescência, não havendo formação de fruto.

Nas flores pistiladas foi verificado o início da abertura das flores entre 8:00 hs e 16:00 hs. Aproximadamente às 5:00 hs, cerca de 20 horas após o início da abertura da corola, o estigma fica receptivo. O período de receptividade se estende até no máximo às 15:00 hs. Finalizada a receptividade, o estigma escurece e o tubo da corola começa a ser expelido da flor. Em um período de até 30 horas após o término da receptividade estigmática, a corola é totalmente desprendida da flor.

Verificou-se que o tempo de desenvolvimento dos frutos é de aproximadamente três meses. No início de seu desenvolvimento, os frutos apresentaram coloração esverdeada e, quando maduros, verde-amarelada.

3.2. Cruzamentos

Os resultados dos tratamentos reprodutivos mostraram que não ocorre agamospermia nas subespécies, sendo necessário um vetor de pólen para que ocorra formação de frutos (**Tab.1**). Houve produção de frutos tanto para polinizações manuais quanto para polinizações abertas (controle). A produção de frutos foi maior (43,83%) para *M. guyanensis* subsp. *duckeana* quando comparada com *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* (13%). O teste de comparação entre duas proporções mostrou que houve diferença significativa nas proporções de frutos formados entre polinização manual e polinização aberta tanto para *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* ($Z= 3,465$ com probabilidade de 0,0003 e IC de 0,042-0,153) quanto para *M. guyanensis* subsp. *duckeana* ($Z=7,525$, com probabilidade de -0,0001 e IC de 0,280-0,477), sendo maior para polinização manual. Houve também diferença na proporção de frutos formados na polinização manual ($Z=4,566$, com probabilidade de -0,0001 e IC de 0,176-0,441), assim como na polinização aberta ($Z=3.465$ com probabilidade de 0.0003 e IC de 0.042-0.153) entre as duas subespécies.

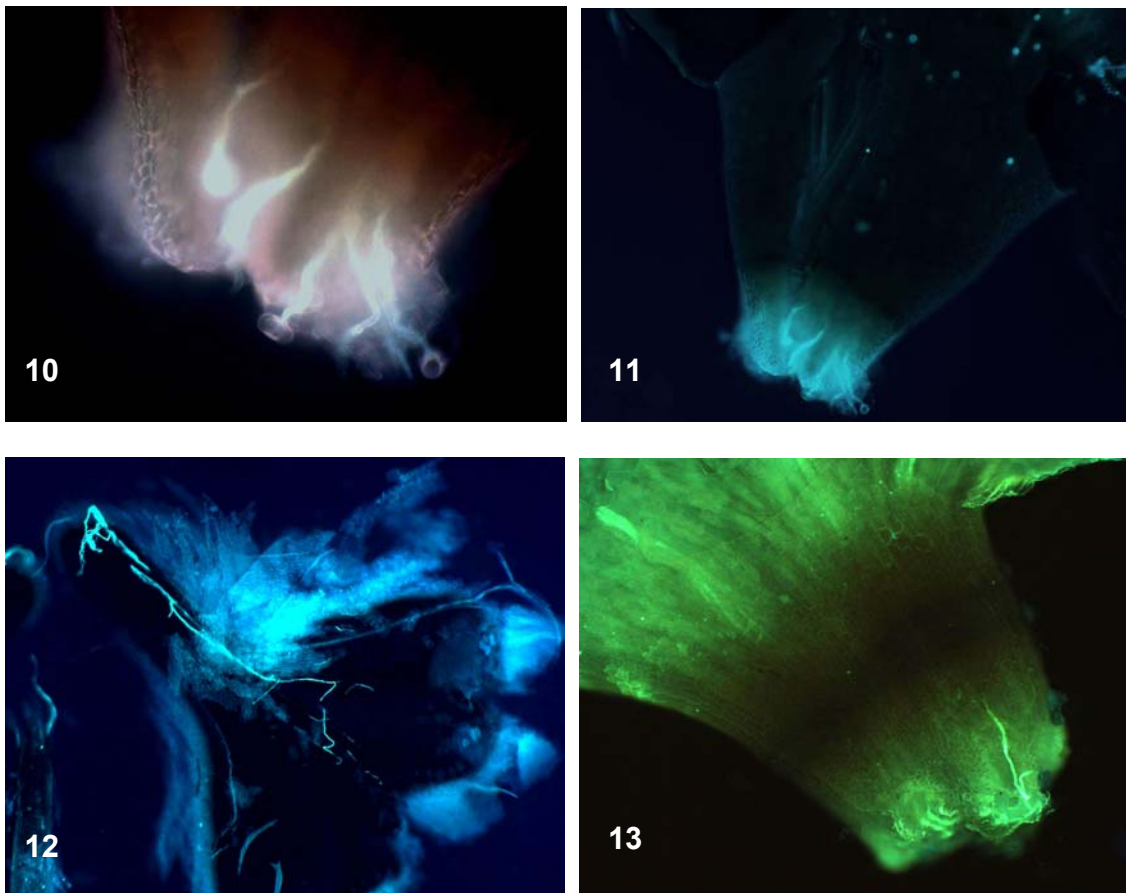
As análises dos crescimentos dos tubos polínicos mostraram que quatro horas após a polinização, os tubos polínicos se encontravam na primeira terça parte do estilete (**Fig. 10**). Oito horas após as polinizações (**Figs 11 e 13**), já haviam alcançado metade do estilete e entre 12 a 16 horas (**Fig. 12**), já haviam penetrado no óvulo. Verificou-se

que a penetração dos tubos nos óvulos ocorreu nas subespécies *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* e *M. guyanensis* subsp. *duckeana* em espaços de tempo similares.

Os cruzamentos para verificação de formação de frutos, possíveis barreiras de incompatibilidade e análise do crescimento do tubo polínico entre as subespécies não puderam ser realizados em circunstância da diferença no período de floração dos indivíduos durante o período de estudo. Verificou-se na população estudada, que existe uma separação temporal de aproximadamente 16 dias entre o fim da floração de *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* e início da floração de *M. guyanensis* subsp. *duckeana*.

Tabela 1. Resultados dos testes de polinizações controladas em *Micropholis guyanensis* subsp. *guyanensis* e *M. guyanensis* subsp. *duckeana*, na Reserva Ducke, Manaus, AM.

Tratamento	Nº. Flores	Nº. Frutos	Frutificação (%)
Polinização manual			
<i>M. guyanensis</i> subsp. <i>guyanensis</i>	100	13	13
<i>M. guyanensis</i> subsp. <i>duckeana</i>	73	32	43,83
Agamospermia			
<i>M. guyanensis</i> subsp. <i>guyanensis</i>	100	0	0
<i>M. guyanensis</i> subsp. <i>duckeana</i>	100	0	0
Controle			
<i>M. guyanensis</i> subsp. <i>guyanensis</i>	248	8	3,23
<i>M. guyanensis</i> subsp. <i>duckeana</i>	200	12	6



Figuras 10-13. Tubos polínicos, após polinização manual, nos pistilos de flores de *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* e *M. guyanensis* subsp. *duckeana* na Reserva Ducke. **10.** Estilete de *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* após quatro horas, evidenciando o tubo polínico na primeira terça parte do estilete. **11-12.** Pistilo de *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* após 8 horas de crescimento do tubo polínico, que já se encontra na metade do estilete. **13.** Tubo polínico penetrando no óvulo, após 12 horas em *M. guyanensis* subsp. *duckeana*.

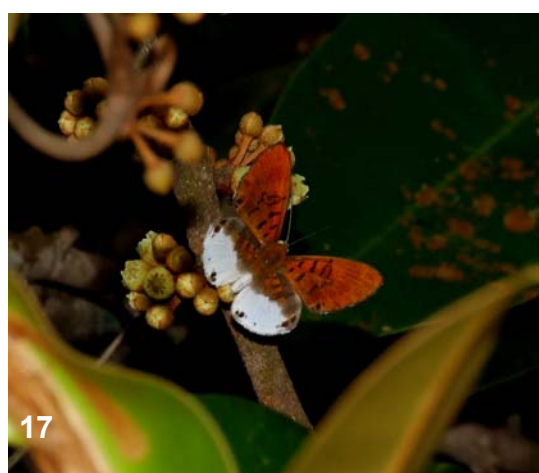
3.3. Comportamento dos visitantes e freqüência de visitação

Lepidópteros foram observados no auge da flora o, quando as plantas apresentavam muitas flores disponíveis e aroma forte. Suas visitas eram freqüentes, principalmente, entre 8:00 hs e 12:00 hs, e rápidas, permanecendo em média dez segundos em uma única flor. Foram considerados polinizadores eficientes devido ao fato de tocarem os  rgoos reprodutivos das flores em suas visitas.

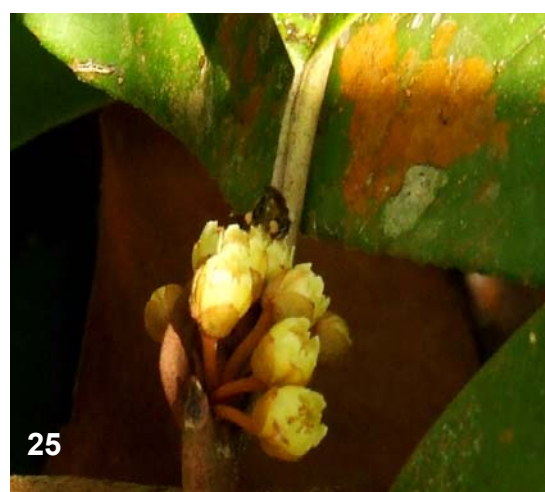
Lepidópteros foram mais freqüentemente observados nas plantas estaminadas, onde a quantidade de flores abertas e aroma eram superiores. Em um total de nove espécies de Lepidópteros, duas espécies, *Marpesia orsilocus* e *Adelotypa alector*, foram observadas visitando *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* e *M. guyanensis* subsp. *duckeana*, duas, *Adelotypa penthea* e *Pythonidae jovianus*, foram observadas apenas em *M. guyanensis* subsp. *duckeana*, e cinco, *Argyrograma* sp., *Calydena lusca*, *Charis* sp., *Evenus batesii* e *Cycnus phalerus*, exclusivamente em *M. guyanensis* subsp. *guyanensis*.

Tabela 2. Visitantes Florais e freqüência de visitação nas subespécies *Micropholis guyanensis* subsp. *guyanensis* (A) e *M. guyanensis* subsp. *duckeana* (B). MF = muito freqüente (≥ 4 visitas.hora), F = freqüente (± 3 visitas.hora), PF = pouco freqüente (± 2 visitas.hora), R = raro (≤ 1 visita.hora)

Ordem	Família	Freq. A		Freq. B	
		♀	♂	♀	♂
Lepidóptera					
	Riodinidae				
	<i>Argyrogrammana</i> sp.	F	F	R	R
	<i>Calydna lusca</i>	R	R	F	R
	<i>Adelotypa alector</i>	F	F	F	F
	<i>Adelotypa penthea</i>	R	R	R	F
	<i>Charis</i> sp.	R	R	R	R
	Nymphalidae				
	<i>Marpesia orsilochus</i>	MF	MF	MF	MF
	Hesperiidae				
	<i>Pythonides jovianus</i>	R	R	R	R
	Lycaenidae				
	<i>Evenus batesii</i>	R	PF	R	R
	<i>Cycnus phalerus</i>	MF	MF	R	R
Thysanoptera					
	Sp. 1	R	MF	R	MF
	Sp. 2	R	MF	R	MF
Hymenoptera					
	<i>Trigona</i> sp	F	F	F	F
	<i>Oxytrigona</i> sp.	F	F	F	F



Figuras 14-19. Visitantes florais. **14.** *Evenus batesii* em *M. guyanensis* subsp. *guyanensis*. **15.** *Adelotypa alecutor*. **16.** *Charis* sp. visitando flores de *M. guyanensis* subsp. *guyanensis*. **17.** *Adelotypa penthea*. **18.** *Cycnus phalerus* visitando flores de *M. guyanensis* subsp. *guyanensis*. **19.** *Marpesia orsilocus* em flores de *M. guyanensis* subsp. *duckeana*.



Figuras 20-25. Visitantes florais. **20.** *Argyrograma* sp. em flores de *M. guyanensis* subsp. *guyanensis*. **21.** *Calydna lusca* em *M. guyanensis* subsp. *guyanensis*. **22.** *Oxytrigona* sp. visitando *M. guyanensis* subsp. *guyanensis*. **23.** *Oxytrigona* sp. em *M. guyanensis* subsp. *duckeana*. **24.** *Oxytrigona* sp. em *M. guyanensis* subsp. *duckeana*. **25.** *Trigona* sp. em flores de *M. guyanensis* subsp. *duckeana*.

Exceto pela diferença na composição de espécies de Lepidópteros, os mecanismos de polinização das subespécies *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* e *M. guyanensis* subsp. *duckeana* por estes insetos são, em geral, similares. Porém, dependendo do grupo de Lepidópteros considerado, existem algumas peculiaridades. Insetos de maior porte, como *Marpesia orcilocus*, pousam na inflorescência apoiando-se em algumas flores e, posteriormente, desenrolam a probóscide introduzindo-a no tubo da corola. Outros Lepidópteros de menor porte pousam diretamente em uma única flor e, em seguida, introduzem a probóscide no interior do tubo da corola.

A flor no período de antese apresenta grande quantidade de néctar dentro do tubo da corola, e o Lepidóptero ao introduzir a probóscide toca as anteras na flor estaminada, que ficam no centro da flor, assim como o estigma. Um único indivíduo pode visitar várias flores de uma mesma inflorescência ou inflorescências próximas da mesma planta.

Adelotypa alector foi freqüente em *M. guayensis* subsp. *duckena* e *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* durante todo o período de floração, entretanto, suas visitas foram mais freqüentes no auge da floração, quando as plantas apresentavam muitas flores disponíveis. Ao se aproximarem da planta, pousavam na inflorescência e introduziam a probóscide no tubo da corola, não chegando a introduzir a cabeça na entrada da corola. Suas visitas duravam em média 10 segundos, chegando a permanecer até 29 segundos em uma mesma flor. Foram mais freqüentemente observadas entre 9:00 hs e 15:00 hs. Foi considerada como vetor de pólen, pois tocava os órgãos reprodutivos em suas visitas.

Marpesia orsilochus foi observada nas duas subespécies estudadas e com mais frequência após as 8:30 hs. Suas visitas foram mais rápidas quando comparadas as de *Adelotypa alector*. Foi considerada como vetor de pólen em circunstância do número de indivíduos, em alguns momentos superior a quatro em uma mesma planta, ao fato de visitarem plantas pistiladas e estaminadas, e por tocarem os órgãos reprodutivos das flores durante suas visitas.

Argyrogramma sp. foi observada exclusivamente na subespécie *M. guyanensis* subsp. *guyanensis*. Suas visitas eram rápidas e mais restritas as flores do ápice da copa. Foram freqüentes durante todo o período de floração, sendo considerada como vetor de pólen. *Cycnus phalerus* foi considerada vetor de pólen, porém, apenas para a subespécie *M. guyanensis* subsp. *guyanensis*. Suas visitas eram longas e freqüentes, chegando a permanecer até 20 segundos em uma única flor.

Alguns Lepidópteros apresentaram visitas longas e freqüentes, porém restritas a um único indivíduo de uma das subespécies. *Adelotypa penthea* foi observado apenas em *M. guyanensis* subsp. *duckena*. Suas visitas eram longas e efetuadas em várias inflorescências. As visitas iniciavam às 8:00 hs e se estendiam até 16:00 hs. Entretanto, este inseto não foi considerado como vetor de pólen, pois foi observado apenas nas plantas estaminadas. *Charis* sp. e *Evenus batesii* não foram consideradas vetores de pólen, pois apenas visitavam ocasionalmente flores estaminadas de *M. guyanensis* subsp. *guyanensis*. *Calydna lusca*, e *Pythonides jovianus* também foram consideradas vetores de pólen em circunstância da reduzida freqüência de visitas observada, e por estas visitas terem sido dirigidas apenas as plantas pistiladas de *M. guyanensis* subsp. *duckena*.

Abelhas foram observadas durante todo o período de floração, sendo mais freqüentes no fim da manhã e início da tarde, período de maior produção de néctar. *Oxytrigona* sp. foi observada somente durante os picos de floração da planta, sendo mais freqüente no início da manhã, 8:00 hs, e início da tarde, 13:00 hs. Durante a coleta de néctar nas flores, as abelhas pousavam diretamente nos lobos da corola, introduziam a cabeça no tubo dessa estrutura e o contato com a superfície estigmática efetuado com a cabeça e abdômen (polinização esternotróbica). Ao pousar nos lobos da corola, a abelha coleta pólen com as pernas anteriores e, ainda na flor, com o auxílio das pernas medianas, transferiam esses grãos para a corbícula. Foram considerados como vetores de pólen devido ao fato de conseguirem entrar no tubo da corola, tocando nas partes reprodutivas da flor, e também pela alta freqüência das visitas.

Trigona sp. também foi considerada como polinizador para estas subespécies, pois conseguia tocar as anteras e estigmas durante suas visitas. Seu comportamento foi similar ao observado para *Oxytrigona* sp., mais freqüente, após as 8:00 hs, nas duas subespécies. Durante suas visitas para coleta de néctar, introduziam parte da cabeça dentro da flor, ficando os grãos de pólen aderidos nas regiões ventral e dorsal do tórax, enquanto que a cabeça tocava a área estigmática. As visitas para coleta de néctar duravam, aproximadamente, de dois a três segundos e, na maioria das vezes, todas as flores abertas por inflorescências eram visitadas. Para a coleta de pólen pousavam nos lobos da corola e, com as pernas anteriores, faziam a coleta. Em seguida, transferiam os grãos de pólen das pernas anteriores para as pernas posteriores.

Espécies de Thysanoptera foram observadas em grande quantidade entre os períodos de 5:00 hs e 9:40 hs nas plantas estaminadas de ambas as subespécies, e em

reduzido número nas plantas pistiladas nesse mesmo horário. Esse inseto apresentou um comportamento de entrar e sair várias vezes de uma mesma flor, tocando sempre nas anteras e estigmas. Grãos de pólen chegavam a ficar depositados em seu dorso e cabeça. A utilização de armadilhas adesivas para captura de insetos, fixadas próximas das flores e em plantas controles (estéreis), mostrou que estes insetos estão presentes tanto em plantas férteis como estéreis. Foram considerados como vetores ineficientes de pólen em circunstância do reduzido número de indivíduos nas plantas pistiladas e em razão das visitas, em grande parte, serem efetuadas no período pós-antese. Outro resultado que corrobora sua ineficiência como vetor de pólen nesta espécie, foi proporcionado por um experimento de exclusão, que teve como propósito testar sua eficiência como vetor de pólen. Nesse experimento, onde foi permitido somente o acesso deste inseto às flores, não foi observada a formação de frutos.

IV. DISCUSSÃO

As subespécies de *Micropholis guyanensis* apresentaram padrão de floração do tipo anual que se caracteriza, segundo Bawa & Beach (1983) e Newstrom *et al.* (1994), por apresentar uma floração de poucos dias, ou mesmo semanas, com apenas um ciclo por ano. Este tipo de padrão é considerado como o mais regular e tem uma das mais consistentes durações, tanto para a floração quanto para intervalos sem floração. Esse padrão pode ainda ser dividido em três períodos anuais de duração da floração: Breve floração (<1 mês), floração intermediária (1-5 meses), e floração estendida (> 5 meses). O padrão das subespécies estudadas no presente trabalho se enquadra de acordo com o tempo de floração em “Breve”.

Os resultados do presente trabalho indicam que existe uma separação temporal de aproximadamente 16 dias entre as florações de *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* e *M. guyanensis* subsp. *duckeana*. Resultados similares indicando uma separação temporal dentro de uma mesma espécie também foram reportados por Ribeiro (2007, com. pess.), que acompanhou a fenologia de 21 indivíduos de *Helicostylis tomentosa* (Planch. & Endl.) Rusby (Moraceae) distribuídas em áreas de Floresta de baixio e platô na Reserva Florestal Ducke entre os anos de 2004 e 2006. Os resultados desse trabalho mostraram que diferentes populações de *Helicostylis tomentosa* apresentaram períodos de floração diferenciados durante o período de acompanhamento fenológico na Reserva.

O isolamento reprodutivo, por períodos de floração diferenciados, apresentado pelas subespécies estudadas no presente trabalho pode ser considerado, segundo Gavrillets (2003), como um indício de isolamento reprodutivo. Uma possível especiação simpátrica, segundo Mayr (1963), é normalmente definida como a origem de novas espécies a partir de uma única população local. Duas populações de uma espécie se isolam sem que haja qualquer divisão da distribuição geográfica da espécie ancestral. A etapa inicial para este evento seria o polimorfismo (Ridley 2006). O processo de especiação em plantas de acordo com Crawford (1985) e Bawa (1992) envolve diversos fatores entre estes, divergência de algumas características, como as morfológicas (características que mostram que estas plantas são distinguíveis) e desenvolvimento de um isolamento reprodutivo suficientemente capaz de manter essas características distinguíveis.

O mais comum mecanismo de isolamento reprodutivo existente em flores de duas ou mais espécies próximas são adaptações a diferentes grupos de polinizadores,

assim como diferenças no tamanho e superfície das flores (Grant 1994). A morfologia floral apresentada pelas subespécies em estudo, assim como seus mecanismos de polinização apresentam-se muito similares, com algumas diferenças apenas em relação à composição dos polinizadores.

A distribuição simpátrica entre duas ou mais espécies relacionadas pode servir para aumentar ou diminuir o isolamento reprodutivo. Por um lado, florações simultâneas podem servir para atrair mais polinizadores e, assim, reforçar a reprodução (Kunin 1997, Petanidou *et al.* 1995, Ohashi & Yahara 1998). Por outro lado, poderia levar a uma concorrência por polinizadores e, até mesmo, acarretar em troca de pólen interespecífico, o que poderia promover efeitos adversos, como entupimento de estigma ou formação de sementes ou híbridos inviáveis (Gardner & Macnair 2000). Apesar disso, deve ser considerado que a maioria das espécies é separada por uma série de mecanismos de isolamento que formam barreiras ao fluxo gênico (Charlesworth & Charlesworth 2000). Por exemplo, isolamento temporal, elimina a possibilidade de transferência interespecífica de pólen entre espécies simpátricas (Grant 1994).

4.1. Morfologia Floral

Segundo Bawa (1980) e Bawa *et al.* (1985), espécies dióicas como *Micropholis guyanensis* são difíceis de serem reconhecidas em razão da freqüente presença de pistilos ou estames estéreis em flores estaminadas e pistiladas, respectivamente. A dioicia, nestes casos, pode ser confirmada apenas com a realização de experimentos controlados. Esta confirmação pôde, no presente trabalho, ser efetuada para as subespécies *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* e *M. guyanensis* subsp. *duckeana*.

Diversas características apresentadas pelas flores das subespécies estudadas como: corola tubulosa com lóbulos livres, produção de néctar, dilatação da base da corola para acúmulo de néctar, pêlos protetores internos que evitam sua pilhagem de néctar por insetos pequenos, são encontradas em plantas com síndrome floral denominada de Psicofilia, descrita por Faegri & van der Pijl (1979), e têm sido observadas em vários outros estudos (Cruden & Humer-Parker 1979, Castro & Oliveira 2001, Goldblatt & Manrzing 2002, Fenster *et al.* 2004).

As flores das subespécies estudadas emitem um forte e intenso aroma doce, que pode ser nauseante para o olfato humano. Foi verificado no presente trabalho que os osmóforos ocorrem em regiões localizadas entre os lóbulos da corola (**Fig. 9**). Ascensão *et al.*(2005) considera a presença de aroma em flores como sendo um atrativo extremamente necessário para polinizadores, pois a composição química desses aromas, muitas vezes, estimulam e atraem grupos específicos de insetos ou pequenos mamíferos. As flores das subespécies estudadas no presente trabalho apresentam odor mais forte no período da manhã, entretanto, também foi verificada a presença de aroma no período da noite. Este fato pode ser resultado da persistência da corola, em algumas flores, após o período de antese.

O nectário, estrutura em forma de disco localizado na base do ovário presente nas subespécies estudadas apresenta características como as descritas por Pennington (1990, 1991, 2006). A presença de nectários também foi verificada para outras espécies de Sapotaceae por Franceschine (2002) para *Sideroxylon obtusifolium*. Para *S. obtusifolium*, o nectário foi descrito como pouco evidente e formado por um anel de células secretoras localizadas na base do ovário. A presença de nectários foi

mencionada por Pennington (2006) para as subespécies de *M. guyanensis* como presente ao redor da base do ovário em flores estaminadas e obscuro ou ausente em flores pistiladas. Para as plantas estudadas foi verificada a presença de um disco nectarífero, tanto em flores estaminadas quanto em flores pistiladas.

A produção de néctar é considerada como bastante importante na recompensa dos polinizadores e sua produção pode variar de acordo com o tamanho da flor (Coelho & Barbosa 2003). Foi verificado para as subespécies estudadas que a produção de néctar se inicia quando a flor ainda esta fechada. No período referente à antese das flores a quantidade de néctar chega a preencher o tubo da corola. A redução de néctar verificada após a antese em flores visitadas, assim como em flores que não foram visitadas, também foi observada, e tal fato concorda com o sugerido por Castro & Oliveira (2001), que afirmam que a diminuição no volume de néctar produzido pode indicar à exaustão de recursos no tecido nectarífero, assim como polinização já efetuada por um visitante.

O estigma lobado (**Fig. 7**) e com secreção estigmática apresentado pelas subespécies estudadas no presente trabalho, de acordo com Endress (1994) e Richards (1997), está relacionado à adesão dos grãos de pólen depositados pelo polinizador na região estigmática, à hidratação desses grãos de pólen, que proporciona condições adequadas para o crescimento inicial do tubo polínico, e também com a prevenção da desidratação das papilas estigmáticas e ou atração do polinizador.

4.2. Visitantes e Polinização

Os resultados dos experimentos de polinização em campo mostraram que houve maior formação de frutos após a realização de polinizações cruzadas manuais do que no experimento controle. Este fato, segundo Teixeira & Machado (2004), pode estar relacionado com a ocorrência de poucos polinizadores que visitam as flores da planta feminina, principalmente, no período de pico na floração. Deve-se considerar que as plantas estaminadas e pistiladas encontram-se próximas na área em que o estudo foi desenvolvido, não sendo, portanto, a distância o fator limitante para os visitantes no transporte de pólen. Entretanto, os resultados do número de frutos formados nas polinizações cruzadas mostraram bom percentual apenas para a subespécie *M. guyanensis* subsp. *duckeana*.

Para *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* a baixa taxa de frutificação, mesmo nos experimentos de polinização cruzada, foi resultado da queda das flores após a polinização. Foi verificado para as plantas analisadas, que as flores se destacam facilmente das inflorescências. Fatores abióticos, como chuva e fortes ventos foram considerados como influentes na formação de frutos, pois em períodos de ocorrência de fortes ventos seguidos de chuva, foi observada grande movimentação na copa das árvores e fortes choques entre os galhos acarretando na queda de flores polinizadas.

Entre outros fatores responsáveis pela a baixa taxa de frutificação, Nadia *et al.* (2007) sugerem que a baixa produção de frutos em relação ao número de flores, como o ocorrido para *Spondias tuberosa* Arruda (Anacardiaceae), pode estar relacionada a fatores extrínsecos, tais como recursos limitantes do ambiente e ou intrínsecos, tal como frutos zoocóricos de alto valor energético. Já Bawa & Webb (1984) e Bawa & Buckley

(1989) sugerem que a baixa taxa de frutificação pode estar relacionados com a qualidade genética dos grãos de pólen que chegam ao estigma.

As subespécies de *M. guyanensis* estudadas no presente trabalho podem apresentar uma gama de polinizadores, particularmente, em circunstância da sua ampla distribuição. Entretanto, de acordo com os resultados das observações realizadas para as subespécies *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* e *M. guyanensis* subsp. *duckeana* neste trabalho, indicam que Lepidópteros podem atuar como eficientes vetores de pólen.

4.2.1. Envolvimento de Lepidópteros na polinização

Lepidópteros, segundo Cruden & Hermann-Parker (1979), têm recebido relativamente pouca atenção em muitos trabalhos, e a razão para o número reduzido de trabalhos de acordo com Richards (1997), pode estar relacionado com o comportamento de vôo desse inseto que se desloca a grandes distâncias com padrões de vôos unidirecionais.

O tamanho relativamente pequeno das flores, o formato tubular da corola, a antese diurna, presença de odor, anteras incluídas dentro do tubo da corola, presença de secreção estigmática, sincronia entre a produção de néctar (iniciando ao amanhecer e cessando no meio da tarde) e período de atividade destes insetos, estão entre as características sugeridas por Cruden & Humer-Parker (1979), Faegri & van der Pijl (1979), Endress (1994), Machado *et al.* 1998 e Goldblatt & Manning (2002) como indicadoras de polinização por borboletas. O contato da probóscide do inseto com as

antras é efetuado, tanto no momento em que a probóscide era inserida quanto quando é recolhida do tubo da corola para a retirada de néctar.

A morfologia floral e o comportamento de visita dos Lepidópteros certamente contribuem com a polinização de *M. guyanensis* subsp *guyanensis* e *M. guyanensis* subsp. *duckeana*. O estigma lobado apresentando secreção estigmática e localizado muito proximamente dos lóbulos da corola, quando em período de antese, favorece o contato com a probóscide do inseto, quando esta é inserida no interior do tubo da corola. A disposição dos estames em forma hemisférica, segundo Martins & Gribel (2007), é uma característica que torna impossível para um Lepidóptero acessar a câmara nectarífera sem tocar nas antras.

O comportamento, associado ao número e frequência de visitas, fornece evidências de que Riodinidae e Nymphalidae podem ser considerado como um dos grupos de Lepidópteros mais importantes para a polinização das subespécies *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* e *M. guyanensis* subsp. *duckeana*. Sendo *Marpesia orcilocus*, *Adelotypa alector*, *Argyrogramma* sp. e *Cycnus phalerus* consideradas como as espécies mais importantes no processo de polinização dessas subespécies.

A baixa frequência e rápidas visitas de Lepidópteros verificada nas flores pistiladas, quando comparadas às flores estaminadas, podem estar relacionadas, segundo Lenzi *et al.* (2005) e Cruden & Hermann-Parker (1979), com a quantidade de néctar disponibilizada nas flores estaminadas. A mudança na coloração da flor é um sinal de que não será encontrado néctar, entretanto, foram verificados alguns casos de tentativas de forrageamento dos Lepidópteros em flores velhas, durante o desenvolvimento do presente trabalho.

4.2.2. Envolvimento de abelhas na polinização

Diversas características das síndromes descritas para Psicofilia e Melitofilia estão presentes nas subespécies estudadas, como as indicadas por Andress (1994) para polinização por abelhas pequenas e as sugeridas por Machado *et al.* (1998) e Goldblatt & Manning (2002) para polinização por Lepidópteros como a presença de flores actinomorfas, pétalas com coloração variando de branco a creme, corola formando um tubo curto, e produção de néctar e pólen (Endress 1994, Richards 1997, Machado *et al.* 1998 e Goldblatt & Manning 2002). De fato, verificou-se neste estudo, que ambos os grupos podem estar participando mutuamente na polinização das subespécies estudadas, mas as observações efetuadas por este estudo sugerem que Lepidópteros podem ser os polinizadores primários para estas subespécies devido à frequência e número de visitantes em plantas estaminadas, assim como em plantas pistiladas.

Os resultados do presente trabalho mostram também que abelhas podem apresentar um papel importante na polinização das subespécies *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* e *M. guyanensis* subsp. *duckeana*, Apesar de menos abundantes, mas mais eficientes elas foram observadas visitando tanto plantas estaminadas quanto pistiladas das subespécies. As abelhas foram observadas visitando as flores em maior frequência, principalmente, na primeira parte da manhã, fato que pode estar relacionado com a maior produção de néctar nesse período. Além disso, a disponibilidade dos grãos de pólen também é maior na primeira parte da manhã. Após esse período, as anteras já estavam quase totalmente vazias. Visitas mais longas, observadas nas plantas estaminadas, é consequência, segundo Amorin & Oliveira (2006), da maior oferta de recursos como pólen, néctar e número de flores. A sincronia entre o período de

atividade das abelhas e antese das flores é outro indicativo, segundo Ando *et al.* (2001), do envolvimento de abelhas no processo de polinização dessas subespécies. Foi observado que a deposição de pólen na cabeça ou mesmo no dorso das abelhas, quando estas visitam as flores, muitas vezes torna difícil a retirada desses grãos no momento em que elas procuram efetuar sua transferência para a corbícula. Ao pousar nas flores pistiladas, o pólen residual aderido na cabeça ou mesmo no ventre deste inseto entra em contato com a região estigmática, o que caracteriza a polinização esternotróbica.

V. CONCLUSÃO

Os resultados do presente trabalho indicam que as flores de *Micropholis guyanensis* subsp. *guyanensis* e de *M. guyanensis* subsp. *duckean* não apresentaram diferenças morfológicas e funcionais. O tempo de duração da floração, períodos e duração de antese, presença de néctar, presença e local de produção de aroma, ausência de agamospermia, e tempo para o tubo polínico penetrar no óvulo foram indicadas como características similares para estas subespécies. Entretanto a separação temporal no período de floração pode ser um indício de isolamento reprodutivo para estas subespécies na Reserva Florestal Ducke. Contudo, para uma afirmação mais concisa seria necessário um estudo fenológico por um período de tempo maior assim como o acompanhamento de um maior número de indivíduos. Quanto aos polinizadores, dentro da população estudada, as subespécies são polinizadas por lepidópteros e abelhas. Sendo registrados como polinizadores quatro espécies, *Marpesia orcilocus*, *Adelotypa alector*, *Argyrogramma* sp. e *Cynus phalerus* de três famílias de Lepidópteros e duas espécies de abelhas, *Trigona* sp. e *Oxytrigona* sp.

Capítulo 2.

Estudos morfométricos das subespécies de *Micropholis guyanensis* (A.DC.) Pierre (Sapotaceae)

I. INTRODUÇÃO

A espécie *Micropholis guyanensis* (A.DC.) Pierre foi descrita por A. de Candolle em 1844 como *Sideroxylon guyanensis* a partir de material coletado na Guiana Francesa. Posteriormente, Pierre em 1891 transferiu-a para o gênero *Micropholis*.

Esta espécie, popularmente conhecida como “abiu”, “balata-branca”, “abiu-mangabarana”, possui uma ampla distribuição geográfica, sendo considerada como ecologicamente variável (Pennington 2006). Ela ocorre em planícies com florestas de Terra firme e, eventualmente, em terras inundadas. Pode ser encontrada em florestas de montanha, entre 400 a 1.200 metros de altitude, ocorrendo também em vegetações similares nas montanhas da Colômbia e Norte da Venezuela. Na Região Central do Brasil, está restrita ao longo de florestas de galerias.

Pennington (1990) propôs as subespécies para *Micropholis guyanensis* com base na variação de seus caracteres morfológicos, como a forma e tamanho de folha e comprimento do pecíolo. Posteriormente, Pennington (2006) em um trabalho realizado principalmente com as espécies da Reserva Florestal Ducke acrescentou mais uma subespécie a *Micropholis guyanensis* com base, principalmente, nas diferenças exibidas pelos caracteres foliares. Nesse trabalho, o autor apresenta uma chave de identificação para as três subespécies, utilizando para tal, caracteres vegetativos (**Fig. 1**).

As três subespécies propostas por Pennington (1990, 2006) ocorrem simpatricamente na Reserva Florestal Ducke, em Manaus, AM. O fato de estarem proximamente relacionadas nesta área confronta com o conceito de subespécie adotado por este estudo e pelo exposto por Mary (1963), que considera esta categoria como um grupo de organismos que possuem distribuição geográfica alopátrica e possuem um isolamento reprodutivo parcial. Portanto, considerando a distribuição simpátrica destas subespécies na Reserva, verificamos que estas já não se enquadram adequadamente dentro deste conceito de subespécie.

Para estas subespécies de *Micropholis guyanensis*, a variação floral pode ser considerada como pequena, porém, a variação no tamanho da folha é especialmente considerável. Significativas diferenças na venação da folha também ocasionaram a descrição de muitas novas espécies, sinonimizadas por Pennington (1990, 1991, 2006). Representantes da subespécie *M. guyanensis* subsp. *guyanensis*, encontradas na Amazônia e região costeira do Brasil apresentam venação intersecundária mais proeminente, o que as torna indistinguíveis das secundárias sendo, por causa disso, muitas vezes identificada como *Pouteria aeranea* Baehni.

Folhas usualmente 5x2,5-12x5 cm, usualmente elíptica ou oblanceolata, 2-4 vezes tão longa quanto larga, base estreita atenuada, cunada ou aguda, lado abaxial das folhas com indumento apresso, venação obscura, nervura principal afundada, pecíolo com 1-1,5 cm.....1a. subsp. <i>guyanensis</i>
Folhas usualmente 10x6-15x8.5 cm, elíptica ou oblongo elíptica, freqüentemente duas vezes tão longa quanto larga, base obtusa ou arredondada, lado abaxial das folhas com indumento apresso, venação obscura, nervura principal afundada, pecíolo com 2 cm.....1b subsp. <i>duckeana</i>
Folhas 9x4.5-13.5x5.5 cm, elíptica a oblanciolatas, 2-4 vezes tão longa quanto larga, base atenuada, lado abaxial das folhas mais ou menos glabra, venação secundária facilmente visível, nervura principal aplainada, pecíolo 1-1,5 cm.....1c. subsp. 3

Figura 1. Chave de identificação para as subespécies de *Micropholis guyanensis* (Pennington 2006)

Micropholis guyanensis (A.DC.) Pierre subsp. *duckeana* (Baehni) Pennington, conhecida popularmente como “abiu-balatarana” e “balata-rosadinha”, foi descrita como *Pouteria duckeana* Baehni em 1962, a partir de material coletado no município de Manaus, AM, em 1932. Esta subespécie pode ser encontrada na Amazônia Brasileira, Peru, Colômbia e Sul da Venezuela e Guiana, em florestas de planície não inundada em cima de solo barrento ou arenoso de regiões localizadas abaixo de 250 metros de altitude, (Pennington, 1990, 1991, 2006; Ribeiro *et al.* 1999).

Já *Micropholis guyanensis* subsp. 3 foi descrita por Pennington (2006) a partir de material coletado na Reserva Florestal Ducke, Manaus, AM, podendo ser encontrada em florestas não inundadas da Amazônia Central e do Amapá. O autor não propôs um nome para esta subespécie em sua monografia por considerar este táxon com *status* duvidoso. Pennington (2006) também argumenta que esta subespécie pode ser apenas parte de uma espécie amplamente distribuída e, embora existam formas intermediárias entre *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* e *M. guyanensis* subsp. *duckeana*, especialmente na Amazônia Central, até o presente, todas as amostras de *M. guyanensis* subsp. 3 podem ser claramente distinguíveis do restante da espécie.

Meade & Parnell (2003) consideram a morfologia das folhas como sendo de extrema importância na identificação de grupos onde caracteres florais não são informativos. Porém, para uma melhor compreensão e delimitação do complexo infra-específico, de acordo com Selin (2000), Thiébaud (2000), Sites & Marshal (2004), Henderson (2004), González-Rodríguez & Oyama (2005), é interessante que também sejam utilizadas outras ferramentas, como a de estatística multivariada, para a confirmação das distâncias morfológicas entre os táxons. Stuessy (1990), Jensen (2003)

e Moller *et al.* (2007) afirmam que a aplicação de ferramentas multivariadas, como a morfometria, podem ser consideradas como um importante componente da sistemática, possuindo um papel chave dentro da circunscrição de espécies. Os métodos multivariados podem utilizar dados morfológicos para que sejam avaliados, através das medidas de caracteres qualitativos contínuos, as variações morfológicas dentro e entre populações (Kores *et al.* 1993, Bernardos *et. al.* 2005, Henderson 2006).

Considerando a ampla distribuição de *M. guyanensis*, é possível observar que os espécimes ocorrentes na região de Manaus apresentam sobreposição nos caracteres citados por Pennington (1991, 2006) e que, muitas vezes, estes não auxiliam na distinção entre as subespécies.

O presente trabalho objetivou o estudo do complexo infra-específico de *M. guyanensis*, através de uma análise morfométrica e avaliação de caracteres micromorfológicos vegetativos de espécimes ocorrentes em diferentes regiões, com o propósito de avaliar a existência das subespécies em *M. guyanensis*.

II. MÉTODOS

2.1. Material Analisado

Foram analisados todos os indivíduos do complexo *M. guyanensis* depositados no Herbário INPA, assim como os materiais recebidos como empréstimo dos herbários UFMT (Mato Grosso) e IAN (Belém), totalizando 248 exsicatas estudadas, sendo 71 férteis e 177 estéreis.



Figura 2. Mapa com a distribuição das subespécies de *Micropholis guyanensis* analisadas: ● *M. guyanensis* subsp. *guyanensis*; ● *M. guyanensis* subsp. *duckOna*; ● *M. guyanensis* subsp. 3.

Do total amostrado, 191 exsicatas são provenientes do Estado do Amazonas e, em sua maioria, da Reserva Florestal Ducke (64 exsicatas); 23 exsicatas analisadas são do Estado do Pará, oito do Estado de Rondônia, cinco do Estado do Acre, sete do Estado do Mato Grosso, duas do Amapá, seis da Colômbia, duas da Guiana Francesa, duas do Suriname e uma do Peru (**Anexo 1**).

2.2. Levantamento dos dados morfométricos

Os caracteres vegetativos e reprodutivos levantados durante o desenvolvimento do presente trabalho, para as análises morfométricas, foram escolhidos de acordo com os caracteres expostos por Pennington (2006) para a distinção das subespécies *M. guyanensis* subsp. *guyanensis*, *M. guyanensis* subsp. *duckeana* e *M. guyanensis* subsp. 3, assim como da consulta a outros trabalhos (Jensen *et al.* 1993, Chandler & Crisp 1998, Leaf Architecture 1999, Thiébaud 2000, Meade & Parnell 2003, González-Rodríguez & Oyama 2005, Saoud *et al.* 2007). Além dos caracteres vegetativos utilizados por Pennington (1990, 2006), optou-se também pela utilização de caracteres reprodutivos com o propósito de verificar se estes também podem auxiliar na delimitação das subespécies estudadas.

Todas as análises foram efetuadas no Laboratório de Taxonomia da Coordenação em Botânica do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), em Manaus, AM. Todos os caracteres morfológicos levantados foram medidos com o auxílio de um paquímetro digital. Especialmente para auxílio no levantamento dos caracteres reprodutivos, foi utilizado um estereomicroscópio que permitiu melhor visualização das estruturas durante sua análise. As flores utilizadas nas análises foram hidratadas em água para facilitar as análises.

Para cada exsicata analisada foram efetuadas quinze medições em três folhas e três flores escolhidas aleatoriamente. Foram levantadas as seguintes informações sobre as flores de cada indivíduo: **CF**, Comprimento da flor (base do pedicelo até o ápice da corola); **DF**, Diâmetro da flor (ponto de largura máxima da flor); **CPE**, Comprimento do pedicelo (base do pedicelo até o início do cálice); **CS**, Comprimento da sépala (ponto

de inserção até o ápice da sépala); **LS**, Largura da sépala (ponto de maior largura da sépala); **CPT**, Comprimento da pétala (ponto de inserção até o ápice da pétala); **LP**, Largura da pétala (ponto de maior largura da pétala); **CPI**, comprimento do pistilo (base do ovário até o ápice do estigma); **LPI**, largura do pistilo (ponto de largura máxima do ovário) (**Figs. 3A e 3B**).

Para as folhas, foram levantadas de cada indivíduo as seguintes informações: **CP**, Comprimento do pecíolo (do ponto de inserção no ramo até a base da lâmina foliar); **DP**, Diâmetro do pecíolo (ponto de comprimento médio do pecíolo); **CT** Comprimento total da folha (da base do pecíolo até o ápice da lamina foliar); **LM** Largura máxima da folha (retirada no ponto de largura máxima da folha); **DBF** Distância da base da folha para o ponto de largura máxima da folha (**Fig. 3C**).

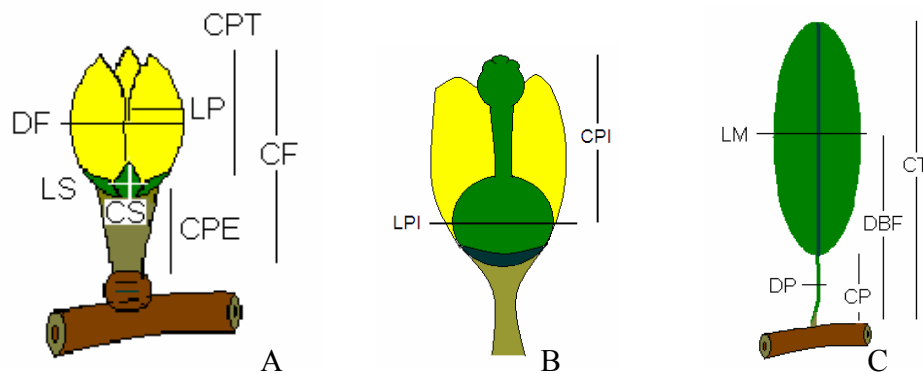


Figura 3. Caracteres morfológicos reprodutivos (A e B) e vegetativos (C) utilizados para análise morfométrica das subespécies de *Micropholis guyanensis*. **CF**, comprimento da flor; **DF**, diâmetro flor; **CPE**, comprimento do pedicelo; **CS**, comprimento da sépala; **LS**, largura da sépala; **CPT**, Comprimento da pétala; **LP**, largura da pétala; **LPI**, largura do pistilo; **CPI**, comprimento do pistilo; **CP**, comprimento do pecíolo; **DP**, diâmetro do pecíolo; **CT**, comprimento total da folha; **LM**, largura máxima da folha; **DBF**, distância da base da folha para o ponto de largura máxima da folha.

Foi estimado o Coeficiente de variação (CV) para cada caráter morfológico. Esta análise, segundo Vieira (1980) e González-Rodríguez & Oyama (2005), permite que o efeito da variação ou dispersão dos dados em relação à média seja verificado através da

razão entre o desvio padrão e a média. O CV é uma medida de dispersão que se presta para a comparação de distribuições diferentes, onde quanto menor o CV mais homogêneo é o conjunto de dados. Um CV é considerado baixo, indicando um conjunto de dados razoavelmente homogêneo, quando for menor ou igual a 25%.

2.4. Ordenação

A utilização de análises estatísticas multivariadas, em especial a Análise de Componentes Principais (PCA), tem sido utilizada em diversos trabalhos morfométricos como, por exemplo, os efetuados por Meade & Parnell (2003), Jensen (2003) e Henderson (2006). Entretanto, este tipo de análise assume uma normalidade dos dados, que pode, segundo Vieira (1980), ser interpretada a partir de um gráfico em forma de sino, onde parâmetros como média e variância formam uma curva que é simétrica em torno da média. Já valores acima e menores que a média ocorrem em igual probabilidade.

Para verificar a normalidade ou não-normalidade dos dados em uma determinada amostra pode-se utilizar o Teste de Kolmogorov-Smirnov. Este teste pode ser aplicado para testar se a característica estudada da amostra é oriunda de uma população com distribuição normal. Este teste é baseado na maior diferença absoluta entre a frequência acumulada observada e a estimada pela distribuição normal (Sokal & Rohlf 1997). Segundo Möller *et al.* (2007), em casos onde os dados não apresentam uma distribuição normal, o mais indicado para a realização de uma análise morfométrica é a utilização de uma análise multivariada de Escalonamento Multidimensional não Métrica (NMDS). Técnicas Estatísticas de Ordenação não Métricas, como NMDS, têm sido

utilizadas extensivamente em trabalhos morfométricos, como os efetuados por Mikkelsen & Seberg (2001), Bayly *et al.* (2004) e Möller *et al.* (2007) com o propósito de possibilitar a visualização de agrupamentos dentro de espécies, tornando possível uma sustentação morfológica de subespécies.

Para determinar as relações morfológicas entre as subespécies de *M. guyanensis* foi efetuada uma análise de NMDS com base em uma matriz de distâncias euclidianas, a partir dos quinze caracteres morfológicos vegetativos e reprodutivos citados acima. As variáveis morfológicas tiveram sua dimensionalidade reduzida através de técnicas multivariadas de ordenação, para resumir um conjunto de dados com N variáveis a um pequeno número de variáveis compostas. Para normalizar a distribuição das variáveis morfológicas, foi realizada uma transformação logaritimizada dos dados (\log^{10}).

Foram realizadas quatro ordenações com o objetivo de verificar se existe um descontínuo entre as subespécies. As quatro ordenações realizadas foram para:

1. Cinco variáveis foliares de 114 amostras das subespécies *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* (75 amostras), *M. guyanensis* subsp. *duckeana* (37 amostras) e *M. guyanensis* subsp. 3 (duas amostras), identificadas por T. D. Pennington e depositadas no Herbário INPA.

2. Uma segunda análise, mais ampliada, efetuada para 14 variáveis foliares e reprodutivas de 68 amostras (coleção do Herbário INPA), sendo 10 amostras de *M. guyanensis* subsp. *guyanensis*, 20 amostras de *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* e uma amostras de *M. guyanensis* subsp. 3, identificadas em nível infra-específico por T. D. Pennington e 37 amostras não identificadas a nível infra-específico.

3. Cinco variáveis foliares de 37 amostras de *M. guyanensis* subsp. *guyanensis*, 75 amostras de *M. guyanensis* subsp. *duckeana* e duas amostras de *M. guyanensis* subsp. 3, identificadas por T. D. Pennington em nível infra-específico e outras 146 amostras não identificadas em nível infra-específico, depositados na coleção dos herbários INPA, IAN e UFMT.

4. Nove variáveis reprodutivas das subespécies *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* (20 amostras) e *M. subsp. duckeana* (8 amostras) e *M. guyanensis* subsp. 3 (uma amostra) identificadas por T. D. Pennington e depositadas no Herbário INPA.

Os dendogramas produzidos com o propósito de representar os agrupamentos hierárquicos para folhas e flores das subespécies foram produzidos com base em uma Matriz de Distância Euclidianas dos dados morfométricos originais. Os dados para esta análise também foram normalizados por meio de uma transformação logarítmica (\log^{10}).

Foi utilizado também o Teste Não Paramétrico de Wilcox Rank Sum (equivalente ao Teste U de Mann-Whitney), para verificação da existência de diferenças dos caracteres morfológicos analisados (folhas e flores) entre as subespécies *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* e *M. guyanensis* subsp. *duckeana*. Não foi efetuado um teste comparativo destas duas espécies com a subespécie *M. guyanensis* subsp. 3 em circunstância do reduzido número de amostras, desta última, disponível na coleção do Herbário INPA (apenas duas amostras).

As análises estatísticas multivariadas foram realizadas com auxílio do Pacote Estatístico Community Analysis Package (CAP 2004) e, as demais análises, com

auxílio do Programa Estatístico R de acesso livre (disponível *online* pelo site <http://www.r-project.org>).

2.5. Análise dos caracteres micromorfológicos

Com o propósito de verificar a existência de possíveis diferenças apresentadas pelos microcaracteres do indumento da lâmina foliar das subespécies, a fim de contribuir com informações taxonômicas que auxiliem na sua delimitação, foi realizada uma análise com auxílio de Microscopia de Eletrônica de Varredura (MEV). O material para a MEV foi obtido de 11 exsicatas presentes na coleção do Herbário INPA, sendo quatro de *M. guyanensis* não identificadas em nível infra-específico, duas de *M. guyanensis* subsp. *guyanensis*, três de *M. guyanensis* subsp. *duckeana* e duas de *M. guyanensis* subsp. 3 identificadas em nível infra-específico por T. D. Pennington.

Esta análise foi realizada com utilização de amostras já desidratadas, não tendo sendo necessária a realização de desidratação pelo método do “Ponto Crítico”. Uma pequena porção das amostras foi aderida a um suporte metálico (*stubs*), com cola misturada a grafite em pó, para melhor dispersão dos elétrons e, posteriormente, submetida à metalização por ouro ²³. Para a metalização, foi utilizado um Sputter Coater, Balzers SCD 050 e, para as análises e registros um Microscópio Eletrônico de Varredura Joel JSM 5.800 LV. Todos os procedimentos e análise foram realizados no Laboratório de Microscopia Eletrônica do Instituto de Biologia da Universidade de Campinas (UNICAMP), em Campinas, SP.

III. RESULTADOS

Com base nas análises realizadas para desenvolvimento do presente trabalho, foi observado que existe considerável variação morfométrica infra-específica para *M. guyanensis*. Todos os caracteres morfológicos foliares apresentaram-se significativamente variáveis. Dois caracteres, em particular, apresentaram maior dispersão relativa, sendo estes o comprimento do pecíolo (**CP**) e a largura máxima da folha (**LM**). Isto significa que os caracteres **CP** e **LM** variam mais em relação à média (Coeficiente de Variação igual a 35,75% e 31,38% respectivamente nesses dois caracteres morfológicos).

O coeficiente de Variação para os demais caracteres morfológicos é apresentado na **Tabela 1**. Caracteres foliares como “Distância da base para o ponto de largura Máxima da folha (**DBF**)” e “Comprimento total da folha (**CT**)” apresentaram o menor coeficiente de variação e podem ser em média, mais homogêneos quando comparados com os demais caracteres. Para os caracteres de flor, (**CPE**) comprimento de pedicelo apresentou coeficiente de variação de 39.72%, (**CF**) comprimento da flor, 26%, e (**CPI**) comprimento do pistilo, 26.65%, estão entre os caracteres florais que mais variam em *Micropholis guyanensis*.

Tabela 1. Valores do coeficiente de variação (CV) das variáveis morfológicas analisadas para *Micropholis guyanensis*.

Caráter	CV(%)
(CF) Comprimento da flor	26
(DF) Diâmetro flor	23.27
(CPE) Comprimento pedicelo	39,72
(CS) Comprimento sépala	21.02
(LP) Largura sépala	21.68
(CPT) Comprimento pétala	24.31
(LP) Largura pétala	21.99
(CPI) Comprimento do pistilo	21.49
(LPI) Largura do pistilo	26.65
(CP) Comprimento do pecíolo	37.75
(DP) Diâmetro pecíolo	31.38
(CT) Comprimento total da folha	30.39
(LM) Largura máxima da folha	34.40
(DBF) Distância da base para o ponto de largura Max. da folha	28.02

O teste de Kolmogorov-Smirnov, empregado para testar a normalidade dos dados, ou a não-normalidade, mostrou que os dados do presente trabalho não possuem distribuição normal ($p < 0,05$) e, que a análise mais indicada, neste caso, é a de NMDS.

A análise de ordenação por NMDS para variáveis foliares, elaborada com 114 amostras para representar graficamente a posição relativa das subespécies no espaço bi-dimensional indicou um possível agrupamento distinto, principalmente, das subespécies *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* e *M. guyanensis* subsp. *duckeana*, entretanto, fica claro também que estas subespécies se sobrepõem consideravelmente (**Fig. 4**).

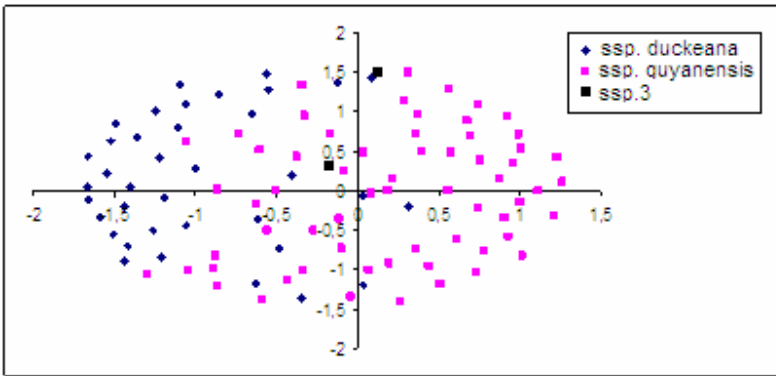


Fig. 4. Análise de NMDs efetuada para cinco variáveis foliares de 114 amostras das subespécies *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* (75 amostras), *M. guyanensis* subsp. *duckeana* (37 amostras) e *M. guyanensis* subsp. 3 (duas amostras) identificadas por T. D. Pennington e depositadas no Herbário INPA.

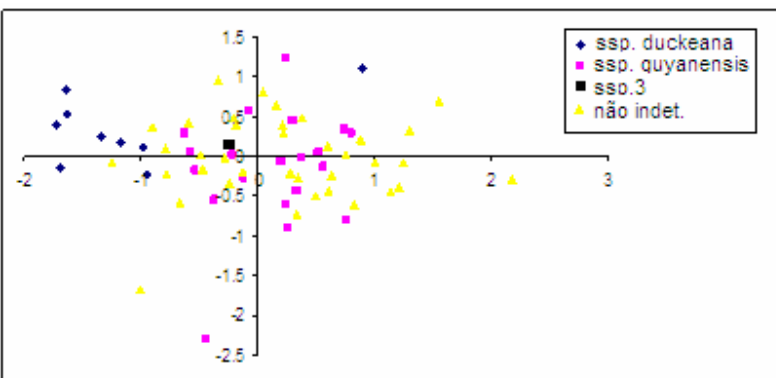


Fig. 5. Análise e NMDs efetuada para 14 variáveis foliares e reprodutivas de 68 amostras (coleção do Herbário INPA), sendo 10 amostras de *M. guyanensis* subsp. *guyanensis*, 20 amostras de *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* e uma amostras de *M. guyanensis* subsp. 3 identificadas a nível infra-específico por T. D. Pennington e 37 amostras não identificadas a nível infra-específico.

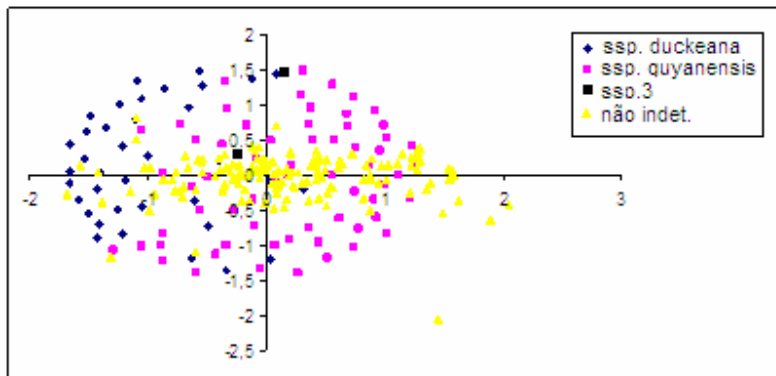


Fig. 6. Análise d NMDs efetuada para cinco variáveis foliares (260 amostras) das subespécies *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* (37 amostras), *M. guyanensis* subsp. *duckeana* (75 amostras) e *M. guyanensis* subsp. 3 (duas amostras) identificadas por T. D. Pennington a nível infra-específico e outras não identificadas a nível infra-específico (146 amostras) depositados na coleção dos Herbários INPA, IAN e UFMT.

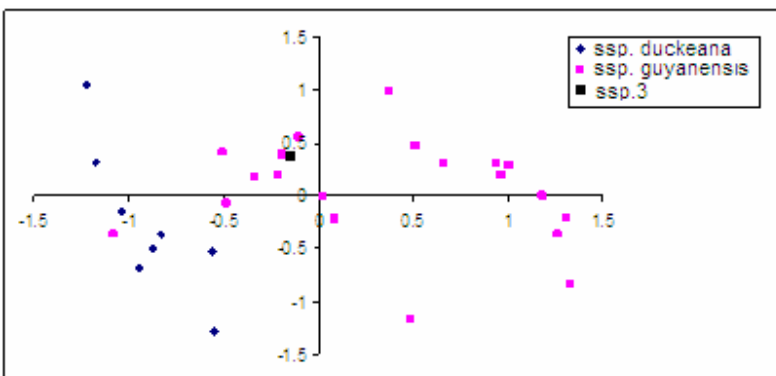


Fig. 7. Análise de NMDs efetuada para nove variáveis reprodutivas das subespécies *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* (20 amostras) e *M. subsp. duckeana* (8 amostras) e *M. guyanensis* subsp. 3 (uma amostra) identificada por T. D. Pennington e depositadas no Herbário INPA.

Em uma segunda análise efetuada tanto para caracteres reprodutivos quanto vegetativos, foi possível verificar que a análise conjunta destes dados geram um grande contínuo com razoável sobreposição entre as subespécies, não sendo possível observar limites que sustentem estes táxons infra-específicos (**Fig. 5**). Em uma segunda análise efetuada para apenas variáveis foliares, onde o número amostral foi elevado para 260 amostras (114 amostras identificadas por T. D. Pennington a nível infra-específico e outras 146 não identificadas a nível infra-específico), verificou-se que não é possível identificar um agrupamento claro de subespécies. Os resultados desta análise mostraram que existe um contínuo morfológico entre os indivíduos, não sendo possível a identificação de grupos utilizando como parâmetros apenas estas variáveis morfológicas (**Fig. 6**).

Já a NMDS efetuada com 29 amostras empregada para verificação de agrupamentos, utilizando como base nove variáveis reprodutivas, mostrou que é possível identificar dois principais agrupamentos dentro da espécie *M. guyanensis* (**Fig. 7**). Apesar do reduzido número de amostras, foi possível verificar, a partir dos resultados de todas as análises de NMDS, que a subespécie *M. guyanensis* susp. 3 encontra-se localizada em um nível intermediário entre as outras duas subespécies (**Figs. 4-7**).

A **Tabela 2** apresenta os dados referentes à média e os valores do Teste de Wilcoxon das 14 variáveis morfológicas vegetativas e reprodutivas avaliadas para as subespécies *M. guyanensis* subsp. *duckeana* e *M. guyanensis* subsp. *guyanensis*. Devido ao baixo número de amostras disponíveis, *M. guyanensis* subsp. 3 não foi considerada nesta análise. A diferença avaliada, com base na análise da diferença entre as medianas

pelo Teste de Wilcoxon, das subespécies *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* e *M. guyanensis* subsp. *duckeana* mostrou que a diferença é muito significativa ($p < 0,05$) para todos os cinco caracteres foliares avaliados.

Tabela 2. Valores determinados pelo Teste de Wilcoxon das médias e componentes das variáveis morfológicas de *Micropholis guyanensis* subsp. *guyanensis* (B) e *M. guyanensis* subsp. *duckeana* (A). **CF**, comprimento da flor; **DF**, diâmetro flor; **CPE**, comprimento pedicelo; **CS**, comprimento sépala; **LS**, largura sépala; **CPT**, Comprimento pétala; **LP**, largura pétala; **LPI**, largura do pistilo; **CPI**, comprimento do pistilo; **CP**, comprimento do pecíolo; **DP**, diâmetro pecíolo, **CT**, comprimento total da folha; **LM**, largura máxima da folha; **DBF**, distância da base da folha para o ponto de largura máxima da folha.

Caráter	A	B	Valor de W	Valor de P
CF*	8.135	6.4835	54.5	0.047
DF *	3.183	2.7325	45.5	0.003
CPE*	4.186	3.068	57	0.061
CS**	3.069	2.327	37.5	0.006
LS**	2.7	2.142	37.5	0.006
CPT	3.039	2.7655	74.5	0.271
LP**	2.426	2.031	38	0.079
CPI*	2.38	1.899	45.5	0.001
LPI*	1.479	1.068	28	0.001
CP*	17.87405	11.69492	276	1.15E-10
DP*	1.454762	2.214167	218.5	7.60E-12
CT*	157.843	108.1578	247	2.99E-11
LM*	66.3827	43.06714	215	6,43E-12
DBF*	66.66444	90.9927	316	6.97E-10

* Variâncias homogêneas, **Variâncias não homogêneas

A separação das duas subespécies efetuadas com base nos valores deste teste estatístico mostrou que, para as amostras da espécie identificadas em nível infra-específico por T. D. Pennington, estes cinco caracteres foliares contribuem para distinção entre as subespécies *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* e *M. guyanensis* subsp. *duckeana*. Quanto às variáveis reprodutivas para as duas subespécies, foi verificado a partir de análises de 70 indivíduos, que não existem diferenças significativas ($p < 0,05$) entre estas duas subespécies no que se refere aos caracteres **LP**, **CPT** e **CPE**.

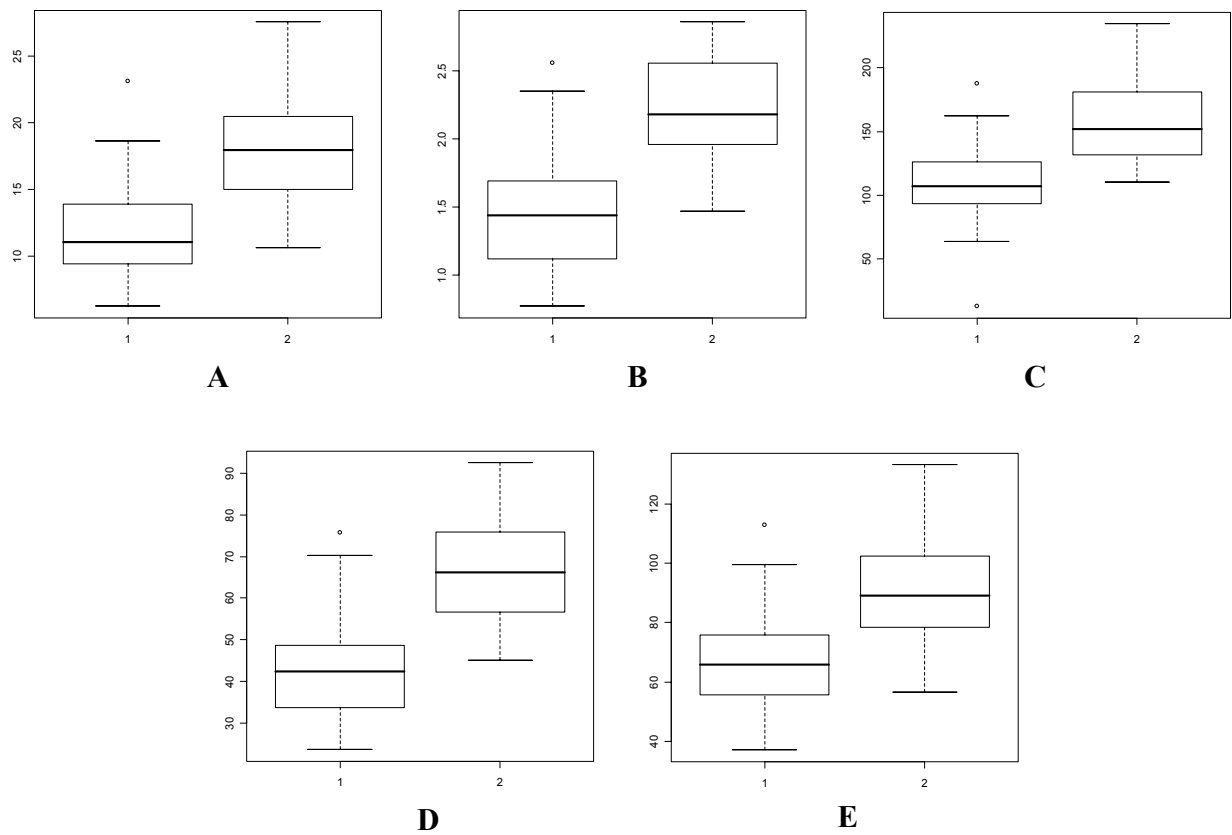


Figura 8. Média e desvio padrão para cinco caracteres foliares em 260 amostras de *Micropholis guyanensis*. 1 *M. guyanensis* subsp. *guyanensis*; 2 *M. guyanensis* subsp. *duckena*. **A**, comprimento de pecíolo (CP) (mm); **B**, diâmetro do pecíolo (DP) (mm); **C**, comprimento da folha (CF) (mm); **D**, largura máxima da folha (LM) (mm); **E**, distância da base da folha para o ponto de largura máxima (DBF) (mm).

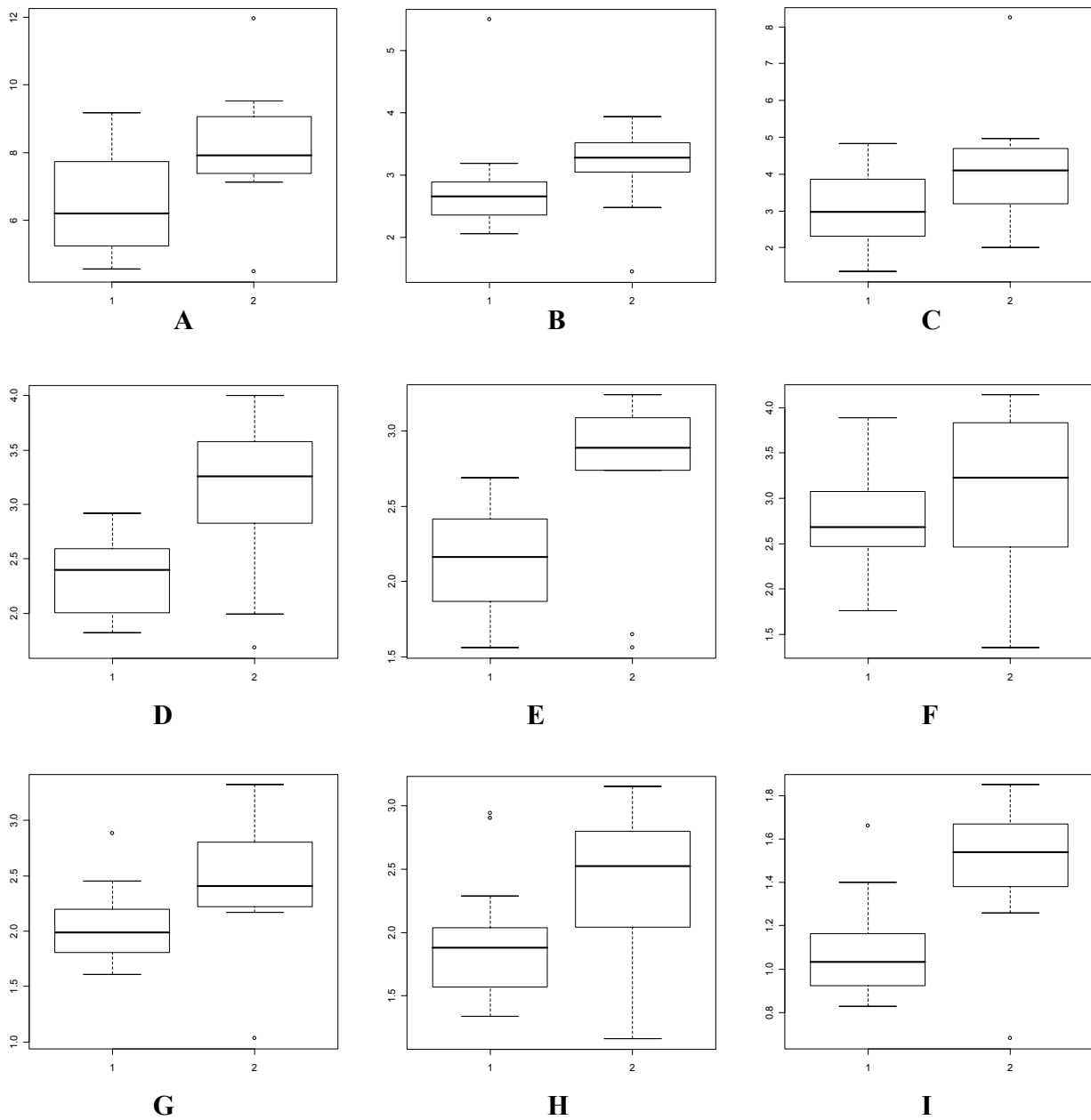


Figura 9. Média e desvio padrão para nove caracteres de florais de 70 amostras de *Micropholis guyanensis*. 1 *M. guyanensis* subsp. *guyanensis*; 2 *M. guyanensis* subsp. *duckena*. **A**, Comprimento da flor (CF) (mm); **B**, Diâmetro da flor (DF) (mm); **C**, Comprimento do pedicelo (CPE) (mm); **D**, Comprimento da sépala (CS) (mm); **E**, Largura da sépala (LS) (mm); **F**, Comprimento da pétala (CPT) (mm); **G**, Largura pétala (LP) (mm); **H**, comprimento do pistilo (CP) (mm); **I**, Largura do pistilo (LPI) (mm).

Os resultados do presente trabalho indicaram que todas as medidas dos caracteres avaliados decrescem de *M. guyanensis* subsp. *duckeana* para *M. guyanensis* subsp. *guyanensis*. A média dos caracteres é, em geral, menor para esta subespécie (**Tab. 2**). Entretanto, o desvio padrão exibido pelos gráficos de Box-plot (**Figs. 8 e 9**) mostra que existe sobreposição dos valores de todos os caracteres avaliados entre as subespécies.

A análise de cluster para variáveis reprodutivas e foliares, apresentada na **Figura 10**, resultou em três grupos (A-C) correspondentes as subespécies *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* e *M. guyanensis* subsp. *duckeana* da coleção do Herbário INPA, indetificadas em nível infra-específico por T.D. Pennington. Foi possível verificar com esta amostragem que existem agrupamentos entre estas subespécies. Para *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* foi verificado a formação de dois grupos, um contendo 13 indivíduos e outro com cinco indivíduos. Para *M. guyanensis* subsp. *duckeana* foi verificado a formação de apenas um agrupamento com sete indivíduos. *Micropholis guyanensis* subsp. 3, com apenas uma amostra, ficou localizada fora destes três grupos principais.

A formação de seis agrupamentos principais (A-F) também foi verificada em um segundo dendograma, obtido com utilização de variáveis foliares (**Fig. 11**). Estes agrupamentos formam “braços” que compreendem, predominantemente, representantes de uma mesma subespécie. O primeiro grupo (A) compreende 14 indivíduos de *M. guyanensis* subsp. *guyanensis*. Um segundo agrupamento desta mesma subespécie (B) compreende oito indivíduos e, um terceiro grupo, 27 indivíduos (C). Para a subespécie *M. guyanensis* subsp. *duckeana* foi possível observar a formação de dois grupos, o primeiro contendo seis indivíduos (E) e um segundo com 15 indivíduos (F). Entretanto,

apesar da formação de agrupamentos contendo, em sua maioria, apenas representantes de uma única subespécie, não ocorreu separação ou agrupamentos por proximidade geográfica. *Micropholis guyanensis* subsp. 3, no segundo dendograma (Fig.11) não apresentou as duas amostras analisadas proximamente localizadas em apenas um grupo. Uma primeira amostra (31t) ficou localizada no grupo A e a segunda amostra (202t) no grupo B, ambos os grupos correspondentes a subespécies *M. guyanensis* subsp. *guyanensis*.

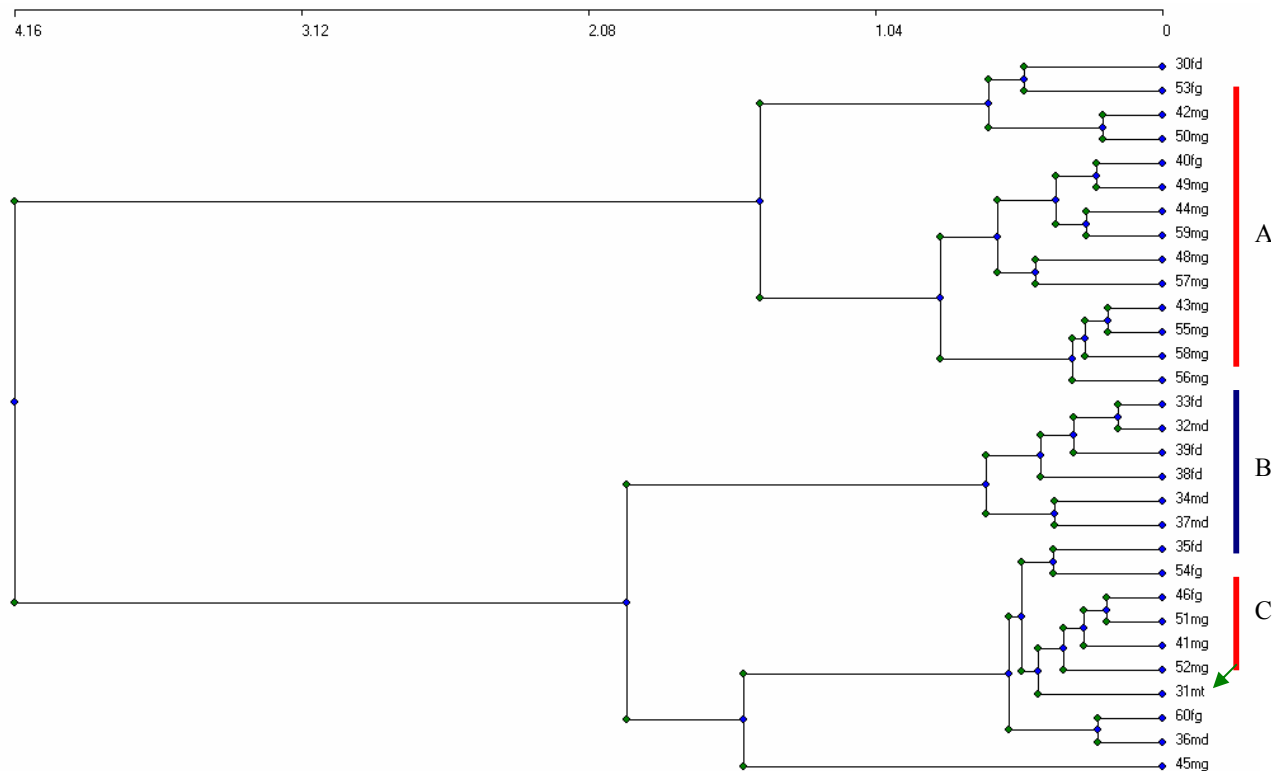


Figura 10. Dendograma obtido com a análise de 14 caracteres de folha e flores de indivíduos das subespécies de *Micropholis guyanensis* presentes na coleção do Herbário INPA. A e C, *Micropholis guyanensis* subsp. *guyanensis*. B, *Micropholis guyanensis* subsp. *duckeana*. *Micropholis guyanensis* subsp. 3 (uma amostras) está indicada pela seta.

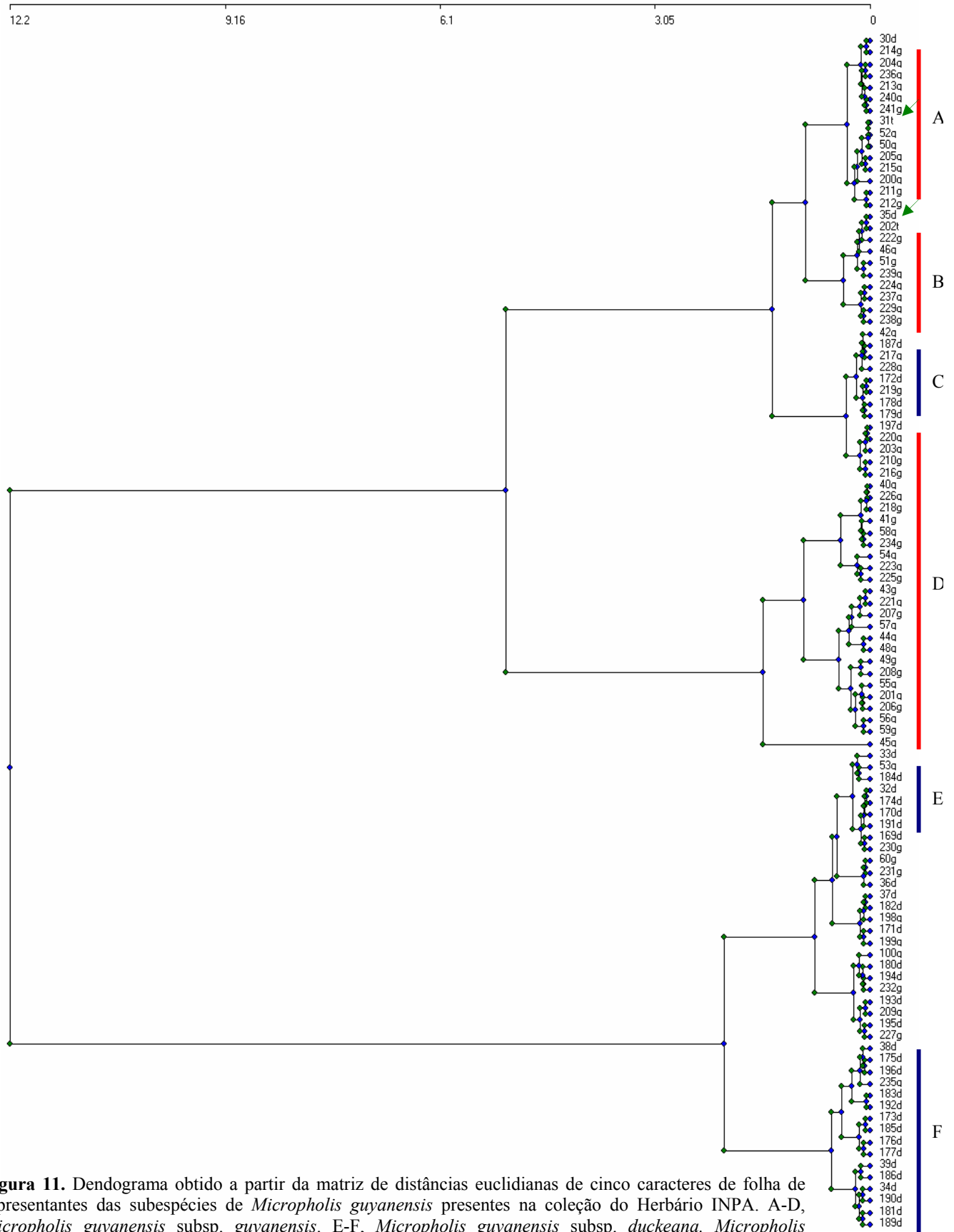
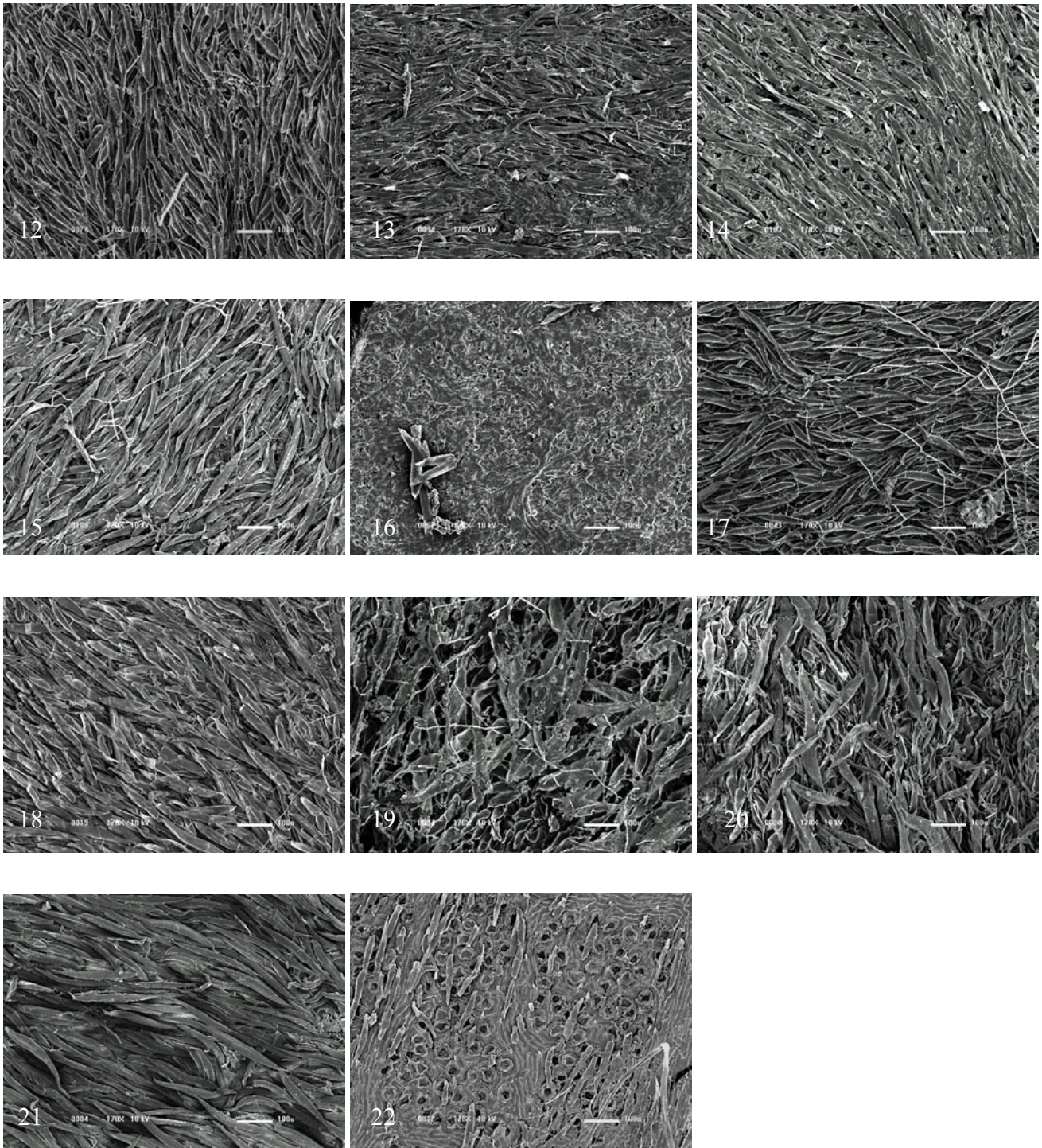


Figura 11. Dendrograma obtido a partir da matriz de distâncias euclidianas de cinco caracteres de folha de representantes das subespécies de *Micropholis guyanensis* presentes na coleção do Herbário INPA. A-D, *Micropholis guyanensis* subsp. *guyanensis*. E-F, *Micropholis guyanensis* subsp. *duckeana*. *Micropholis guyanensis* subsp. 3 (duas amostras) está indicada pela seta.



Figuras. 12-22. MEV. **Figs. 12-15.** Epiderme adaxial da lâmina foliar de *Micropholis guyanensis* mostrando grande quantidade de pêlos epicuticulares alongados. **Figs. 16 e 17.** Epiderme abaxial da lâmina foliar de *M. guyanensis* subsp. *guyanensis*. **Figs. 18-20.** Epiderme abaxial da lâmina foliar de *M. guyanensis* subsp. *duckeana*. **Figs. 21 e 22.** Epiderme abaxial da lâmina foliar de *M. guyanensis* subsp. 3.

Não foram verificadas diferenças entre as subespécies de *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* (Figs. 16 e 17), *M. guyanensis* subsp. *duckeana* (Figs. 18-20) e *M. guyanensis* subsp. 3 (Figs. 21 e 22) a partir das análises micromorfológicas realizadas com auxílio de MEV (Figs. 12-22). Foi verificada a presença de tricômas alongados, em forma de fitas, na face adaxial das lâminas. Já a face adaxial mostrou-se glabra nas três subespécies.

IV. DISCUSSÃO

Muitas vezes, a diferença exibida por populações de uma mesma espécie induzem a criação de subespécies sustentadas tanto pela diferença morfológica exibida por estas populações quanto pela distribuição geográfica alopátrica (Mayr 1963).

O termo “subespécie”, segundo Hale (1970), veio da terminologia zoológica. Já variedade é claramente de origem botânica, não sendo adotado em trabalhos zoológicos. Mayr (1963) considera que a categoria infra-específica “subespécie” é semelhante à de espécie. De acordo com esse autor “espécies não são compostas por subespécies, mas consistem em um grande e infinito número de populações locais, cada uma como um indivíduo geneticamente diferente”. As dificuldades da aplicação do conceito de subespécie são intensificadas por considerações de que subespécies não são servem apenas para facilitar o trabalho do taxonomista, mas também como a unidade em evolução.

O código de nomenclatura botânica recomenda cinco categorias infra-específicas (Greuter *et al.* 1994), mas essas categorias, principalmente, as de subespécie e variedade

causam ainda muita confusão dentro dos níveis hierárquicos (Isaac & Purvist 2004). De acordo com Bock (2004), o desenvolvimento de um único conceito de subespécie que seja aplicável a todos os organismos é praticamente impossível. Patten & Campbell (2000) comentam que a designação infra-específica de subespécie motivou uma enorme quantidade de debates durante o último meio-século, resultando, muitas vezes, em falhas, não no conceito, mas em sua utilização. Zink (2004) discute ainda, que aumentou o fluxo de nomes de subespécies que são eliminadas, muitas vezes, devido ao fato de que elas são baseadas em divisões arbitrárias ou simplesmente sustentadas por um único caráter morfológico.

Stuessy (1990) propõe uma tabela baseada na viabilidade dos híbridos e na diferenciação morfológica para verificação sobre em qual categoria taxonômica infra-específica (subespécie, variedade ou forma) um determinado táxon pode ser enquadrado. Entretanto, a aplicação destes conceitos na prática, ainda continua sendo um grande problema (Wake 2006). Haig *et al.* (2006) comentam que a aplicação dessa categoria (subespécie) seria direcionada para grupos que possuem isolamento reprodutivo parcial e que apresentam uma diferenciação morfológica. O conceito poderia ainda se aplicar a uma variação morfológica associada com a distribuição geográfica alopátrica. Porém, a variação pode representar, simplesmente, uma pequena mudança genética, como resultado de uma mutação ou de recombinação ocasionando isolamento reprodutivo (Stuessy 1990, Selin 2000).

Apesar de ser considerado arbitrário o uso deste nível hierárquico e de sua importância taxonômica ser discutível, o presente estudo com o propósito de testar a existência das subespécies propostas por Pennington (2006) adotou o conceito de

subespécie, como sendo este nível hierárquico formadas por grupos de organismos com alguma diferenciação morfológica que possuem em geral distribuição geográfica alopatrica e apresentam um isolamento reprodutivo parcial (Mayr 1963, Stuessy, 1990, Haig *et al.* 2006, Ridley 2006). E para espécie foi adotado o conceito fenético (morfológico), que define cada espécie com base nos caracteres específicos compartilhados pelos membros dela (Stuessy 1990, Ridley 2006).

Foi verificado no presente trabalho, de acordo com a análise do CV, que é considerável a variação dos caracteres avaliados para *M. guyanensis*. Os altos valores obtidos, principalmente, para os caracteres vegetativos, segundo González-Rodríguez & Oyama (2005), mostram que o conjunto de dados não é homogêneo exibindo, portanto, grande variação morfológica e indicando que estes caracteres são muito plásticos dentro da espécie. Para uma segunda análise estatística, NMDS efetuada para caracteres foliares (**Fig. 4**) e reprodutivos (**Fig. 7**), considerando apenas as subespécies da coleção do Herbário INPA identificadas em nível infra-específico por T. D. Pennington, foi verificado que os resultados suportam a hipótese de distinção entre as subespécies *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* e *M. guyanensis* subsp. *duckeana* (**Fig. 10**).

As análises dos caracteres reprodutivos e vegetativos realizadas com as amostras identificadas em nível infra-específico por T. D. Pennington, mostraram também que as médias dos caracteres avaliados (**Tab. 2**) para as *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* e *M. guyanensis* subsp. *duckeana* são diferentes, sendo maior para a subespécie *M. guyanensis* subsp. *duckeana* (**Figs. 3 e 4**). Diferenças significativas entre estas duas subespécies também foram verificadas pelo Teste de Wilcoxon para as medianas destas duas subespécies (**Tab. 2**). Entretanto, apesar das diferenças entre estas duas

subespécies, evidenciadas pelos testes estatísticos acima mencionados, pôde ser verificado com uma segunda amostragem mais ampla, não composta somente por amostras da espécie *M. guyanensis* identificadas em nível infra-específico por T. D. Pennington, mas também com amostras desta espécie não identificadas a este nível pelo mesmo especialista, que existe um contínuo com muitos intermediários entre as subespécies *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* e *M. guyanensis* subsp. *duckeana* (Figs. 5 e 6). Portanto, indivíduos que apresentassem caracteres com medidas entre estes dois extremos seriam identificados, com base na utilização destes caracteres, ao nível infra-específico de maneira subjetiva.

Se dividirmos artificialmente estes caracteres dentro de duas principais categorias, com base na média dos valores, estaríamos forçando a designação de táxons infra-específicos. Uma parcela destas plantas poderia ser identificada a este nível infra-específico, como o ocorrido para as amostras presentes na coleção do Herbário INPA, mas outra parte deste grupo não se enquadraria dentro de uma única subespécie. De acordo com Whang *et al.* (2002) e Judd *et al.* (1999), é comum a sobreposição de caracteres morfológicos em métodos multivariados que buscam avaliar as relações dentro de um complexo infra-específico. Segundo estes autores, muitas vezes, a especiação não se deu por completo e, por esta razão, muitos caracteres exibem uma sobreposição antes de exibir descontinuidade.

Embora os testes estatísticos comparativos realizados com utilização apenas das médias das medições entre as subespécies tenham determinado que existam diferenças entre as subespécies *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* e *M. guyanensis* subsp. *duckeana*,

a segregação destas subespécies pela análise de ordenação de NMDS (Figs. 5 e 6), indica não ocorrer uma separação clara.

Resultados semelhantes ao encontrado no presente trabalho foram reportados por Whang *et al.* (2002) para o complexo existente em *Ixeris chinensis* (Thunb.) Nakai (Asteraceae). Krauss (1996) também encontrou um contínuo para os táxons infra-específicos de *Personia mollis* R. Br. (Proteaceae). A variação dentro deste grupo fica melhor descrita, segundo esse autor, como um grande mosaico de nove táxons, ficando a classificação por análises morfológicas não resolvida.

Chang *et al.* (2003) encontrou um grande contínuo dentro de *Kalopanax septemlobus* (Thunb.) Koidz. (Araliaceae), que não apresentam um padrão descontínuo. As análises morfológicas das folhas efetuadas por Chang *et al.* (2003) indicaram que as subespécies não podem ser delimitadas com o uso destes caracteres morfológicos, devido a sua grande sobreposição, sendo a espécie, portanto, definida como extremamente polimórfica. Resultados semelhantes foram obtidos por Catling & Porebiski (1998) em uma avaliação morfométrica para quatro subespécies de *Fragaria chiloensis* (L.) Duchesne (Rosaceae).

Para as variedades de *Hebe macrantha* (Hook.f.) Cockayne *et* Allan (Scrophulariaceae Plantaginaceae) Bayly *et al.* (2004) verificaram que existe sobreposição entre os grupos estudados. Embora alguns caracteres sejam estatisticamente diferentes, não é possível definir limites entre estes grupos, havendo muitos intermediários entre os dois principais grupos. Resultados similares foram encontrados por Mikkelsen & Seberg (2001) com a análise de caracteres foliares do

complexo *Bersame abyssinica* Fresen (Melianthaceae), onde foi encontrado um contínuo entre as subespécies.

Variações em caracteres foliares têm sido reportadas por Gonzáles-Rodrigues & Oyama (2005) e Brok & Adsersen (2007) como resultantes de processos adaptativos. Para espécies do gênero *Quercus*, por exemplo, o comprimento do pecíolo e os caracteres relacionados com a margem foliar são muito plásticos e a justificativa para essa forte variação, segundo os autores, pode estar relacionada com seu gradiente geográfico.

De acordo com Kincaid *et al.* (1998), uma variação surpreendente no tamanho e na textura das folhas pode ser muito freqüente em plantas, podendo ser resultado dos variados estágios de seu desenvolvimento. Com freqüência, as diferentes formas apresentadas por uma mesma planta podem levá-las a serem identificadas como espécies diferentes (Chandler *et al.* 1998). Variações em folhas de uma mesma espécie têm sido observadas para *Martiodendron parviflorum* (Amshoff) R. Koeppen (Caesalpiniaceae), onde as primeiras folhas das plantas jovens são simples e cordadas e, nas adultas, pinadas e lanceoladas. Outro nível de variação morfológica ocorre nas diferentes formas de folhas presentes na copa de uma mesma árvore, como encontrado, por exemplo, em espécies de *Pourouma* (Urticaceae) (Kincaid *et al.* 1998).

Selin (2000) faz referência às diferenças morfológicas presentes em um mesmo táxon como resultado da distância geográfica entre suas populações, onde populações dentro de um táxon, que possuem um padrão de distribuição contínua, podem apresentar uma diferença genética proporcional à distância entre suas populações. Em *Papaver radicum* Rottb. (Papaveraceae), é possível verificar a diferenciação entre suas

populações, onde as mais distantes apresentam uma maior diferenciação morfológica Selin (2000).

V. CONCLUSÃO

A utilização de diferentes informações sobre um táxon, dentre as quais, distinção morfológica, localização geográfica, divergência genética, isolamento reprodutivo e graus de fertilidade ou esterilidade natural, permitem uma melhor delimitação de táxons. Entretanto, como comprovado no presente estudo, apenas dados morfológicos podem ser suficientes.

A partir dos resultados do presente trabalho, pode ser verificado que as subespécies de *M. guyanensis* não podem ser reconhecidas morfológicamente, pois o complexo estudado apresenta uma considerável sobreposição nos caracteres avaliados, existindo um grande número de intermediários entre as subespécies *M. guyanensis* subsp. *guyanensis* e *M. guyanensis* subsp. *duckeana* e *M. guyanensis* subsp. 3. Nenhum dos resultados obtidos no presente trabalho apóia o reconhecimento de táxons infra-específicos em *M. guyanensis*.

Considerando não apenas as diferenças morfológicas, mas também o fato destas subespécies serem simpátricas e com as mesmas preferências ecológicas, é proposto que *Micropholis guyanensis* subsp. *guyanensis*, *M. guyanensis* subsp. *duckeana* e *M. guyanensis* subsp. 3 passem a ser consideradas, simplesmente, como uma única espécie altamente variável, tanto em relação a seus caracteres vegetativos quanto nos reprodutivos.

VI. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aizen, M. A. & Feinsinger, P. 1994. Forest fragmentation, pollination, and plant reproduction in a Chaco Dry Forest, Argentina. *Ecology*, 75 (2), mar: 330-351.
- Alencar, J. C.; Almeida, R. A.; Fernandes, N. P. 1979. Fenologia de espécies florestais em floresta tropical úmida de terra firme na Amazônia Central. *Acta Amazonica*, 9 (1): 163-198.
- Amorim, F. W. & Oliveira P. E. 2006. Estrutura sexual e ecologia reprodutiva de *Amaioua guianensis* Aubl.(Rubiaceae), uma espécie dióica de formações florestais de cerrado. *Revista Brasileira de Botânica*, 29(3), jul.-set: 353-362.
- Ando, T.; Nomura, M.; Tsukahara, J.; Watanabe, H.; Kokubun, H.; Tsukamoto, T.; Hashimoto G.; Marchesi, E. And Kitching, I. J. 2001. Reproductive isolation in a native population Of *Petunia* sensu Jussieu (Solanaceae). *Annals of Botany*, 88: 403-413.
- Ascensão, L.; Francisco A.; Cotrim, H. & Pais, M. S. 2005. Comparative structure of the labellum in *Ophrys fusca* and *O. Lutea* (Orchidaceae). *American Journal of Botany*, 92 (7): 1059-1067.
- Bawa, K. S. 1980. Evolution of dioecy in flowering plants. *Annual Review Ecology System*, 11: 15-39.
- Bayly, M. J.; Kellow, A. V.; Ansell, R. ; Mitchell, K. A. & Markham, K.R. 2004. Geographic variation in *Hebe macrantha* (Plantaginaceae): Morphology and Flavonoid Chemistry. *Tuhinga*, 15: 27-41.

- Bawa, K. S. & Beach, J. H. 1983. Self-incompatibility systems in the Rubiaceae of a tropical lowland rain forest. *American Journal of Botany*, 70: 1281-1288.
- Bawa, K. S. & Webb, C. J. 1984. Flower, fruit and seed abortion in tropical forest trees: implications for the evolution of paternal and maternal reproductive patterns. *American Journal of Botany*. 71: 736-751.
- Bawa, K. S.; Bullock, S.; Perry, D. R.; Coville, R. E.; Grayum, M. H. 1985. Reproductive biology of tropical lowland rain forest trees. II. Pollination systems. *American Journal of Botany*. 72: 331-345.
- Bawa, K.S., Buckley, D.P. 1989. Seed: ovule ratios, selective abortion and mating systems in Leguminosae. In: Stirton, C. H., Zaruchi, J.L., (ed). *Advances in legume biology*. Kew: Missouri Botanical Garden, 29:243-262
- Bawa, K. S. 1992. Mating systems, genetic differentiation and speciation in tropical rain forest plants. *Biotropica*, 24 (2): 250-255.
- Bernardos, S.; Del Rey, A. C. F. & Amich, F. 2005. The section *Pseudophrys* (*Ophrys*, Orchidaceae) in the Iberian Peninsula: a morphometric and molecular analysis. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 148: 359-375.
- Benezar, R. M. C. & Pessoni, L. A. 2006. Floral biology and the reproductive system of *Byrsonima coccolobifolia* (Kunth) in an Amazonian savanna. *Acta Amazonica*, 36 (2): 159-168.
- Boivin, B. 1962. Persoon and the subspecies. *Brittonia*, 14 (4), oct.: 327-331.
- Bock, W. J. 2004. Species: the concept, category and taxon. *Journal Zoology System Evolution Research*, 42: 178-190.

- Brok, C. S. & Adersen, H. 2007. Morphological variation among populations of *Lecocarpus* (Asteraceae) on the Galápagos Islands. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 154: 4, 523-544.
- Castro, C.C. & Oliveira, P. E. A. M. 2001. Reproductive biology of the protandrous *Ferdinandusa speciosa* Pohl (Rubiaceae) in Southeastern Brazil. *Revista Brasileira de Botânica*, 24:167-172.
- Catling, P. M. & Porebski, S. 1998. A morphometric evaluation of the subspecies of *Fragaria chiloensis*. *Canadian Journal of Botany*, 76(2): 290–297.
- Chandler, G. T. & Crisp, M. D. 1998. Morphometric and phylogenetic analysis of the *Daviesia ulicifolia* complex (*Fabaceae*, *Mirbelieae*). *Plant Systematics and Evolution*, 209: 93-122.
- Chandler, L. W.; Crisp, M. D. & Telford, I. R. H. 1998. *Bursamia* (Pittosporaceae): a morphometric analysis and revision. *Australian Systematic of Botany*, 12(1): 117-143.
- Chang, C. S.; Kim, H.; Kang, H. S. & Lee, D. K. 2003. A morphometric analysis of the eastern Asian *Kalopanax septemlobus* (Thunb.) Koidz. (*Araliaceae*). *Botanical Bulletin of Academia Sinica*, 44: 337-344.
- Charlesworth B & Charlesworth D. 2000. Reproductive isolation: natural selection at work. *Current Biology*, 10: 68-70.
- Coelho, P. & Barbosa, A. A. A. 2003. Reproductive biology of *Palicourea macrobotrys* Ruiz & Pavon (Rubiaceae): a possible case of homostyly in the genus *Palicourea* Aubl. *Revista Brasileira de Botânica*, 26(3): 403-413.

- Community Analysis Package (CAP). 2004. A Program to Search for Structure in Ecological Community Data. Version 3.0. PISCES Conservation Ltd. URL: <http://www.piscесconservation.com/softcap.html>.
- Costa, N. V.; Rodella, R. A.; Martins, D. 2006. Diferenciação de espécies daninhas aquáticas pela análise multivariada de caracteres estruturais foliares. *Planta Daninha*, 24(1): 13-20.
- Crawford, D. J. 1985. Electrophoretic data and plant speciation. *Systematic Botany*, 10(4), oct.-dec: 405-416.
- Cruden, R. W. & Hermann-Parker, S. M. 1979. Butterfly pollination of *Cesalpinia pulcherrima* with observations on a psychophilous syndrome. *Journal of Ecology*. 67: 155-168.
- Dafni, A. 1992. *Pollination Ecology: A practical Approach*. Oxford University Press. New York. 250p.
- Dial, R. & Tobin, S. C. 1995. Description of arboristic methods for forest canopy access and movement. *Selbyana*, 15: 24-37.
- Donahue, P. & Wood, T. 1995. A safe flexible and non-injurious technique for climbing tall trees. *Selbyana*, 16: 196-200.
- Endress, P. K. 1994. *Diversity and evolutionary biology of tropical flowers*. Cambridge University Press. Cambridge, 511p.
- Faegri, K. & van der Pijl, L. 1979. *The principles of pollination. ecology*. 3. rd. ed. Pergamon Press, Oxford, United Kingdom, 244p.

- Farwig, N.; Randrianirina, E. F.; Voigt, F. A.; Kraemer, M. & Bohning-Gaese, K. 2004. Pollination ecology of the dioecious tree *Commiphora guillauminii* in Madagascar. *Journal of Tropical Ecology*, 20: 307-316.
- Fenster C. B.; Armbruster, W. S.; Wilson, P.; Dudash M.R. & Thomson J. D. 2004. Pollination Syndromes and Floral Specialization. *Annual Review Ecology Evolution System*, 35: 375-403.
- Fox, R. M. 1955. On Subspecies. *Systematic Zoology*, 4(2), jun: 93-95.
- Fracasso, C. M. & Sazima, M. 2004. Polinização de *Cambessedesia hilariana* (Kunth) DC. (Melastomataceae): sucesso reprodutivo versus diversidade, comportamento e frequência de visitas de abelhas. *Revista Brasileira de Botânica*, 27(4): 797-804.
- Franceschine, M. C. 2002. Fases florales, nectario y visitantes en *Sideroxylon obtusifolium* (Roem. & Schult.) T. D. Penn. (Sapotaceae). (Site acessado em 20/04/2006). <http://www.unne.edu.ar/cyt/2002/06-Biologicas/B-014.pdf>.
- Galen, C. & Plowright, R. C. 1987. Testing the accuracy of using peroxidase activity to indicate stigma receptivity. *Canadian Journal of Botany*. 65: 107-111.
- Gama, L. U. & Barbosa, A. A. A. 2007. Fenologia e biologia da reprodução de *Pouteria torta* (Mart.) Radlk. (Sapotaceae) no Triângulo Mineiro, Brasil. Resumo apresentado no 58° Congresso Nacional de Botânica.
- Gardner, M. & Macnair M. 2000. Factors affecting the coexistence of the serpentine endemic *Mimulus nudatus* Curran and its presumed progenitor, *Mimulus guttatus* Fischer ex D. C. *Biological Journal of the Linnean Society*, 69: 443- 459.

- Gavrilets, S. 2003. Perspective: Models of speciation: What have we learned in 40 years? *Evolution*, 57(10), oct: 2197-2215.
- Goldblatt, P. & Manning, J. C. 2002. Evidence for moth and butterfly pollination in *Gladiolus* (Iridaceae-Crocoideae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 89(1): 110-124.
- González-Rodríguez, A. & Oyama, K. 2005. Leaf morphometric variation in *Quercus affinis* and *Q. laurina* (Fagaceae), two hybridizing Mexican red oaks. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 147: 427- 435.
- Grant, V. 1994. Modes and origins of mechanical and ethological isolation in angiosperms. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 91: 3-10.
- Greuter, W.; Barroe, F. R.; Burdet, H. M.; Chaloner, W.G.; Demoulin, V.; Hawksworth, D.L.; Jorgensen, P.M.; Nicolxon, D.H.; Silva, P.C.; Trehane, P. 1994. *International Code of Botanical Nomenclature (Tokyo Code)*. Berlin, Koeltz Scientific Books, 91p.
- Haig, S. M.; Beaver, E. A.; Chambers, S. M.; Draheim, H. M.; Dugger, B. D.; Dunham, S.; Elliott-Smith, E.; Fontaine, J. B.; Kesler, D. C.; Knaus, B. J.; Lopes, I. F.; Loschl, P.; Mullins, T. D. & Sheffield, L. M. 2006. Taxonomic considerations in listing subspecies under the U.S. endangered species Act. *Conservation Biology*, 20 (6): 1584-1594.
- Hale, W. G. 1970. Intraspecific categories in birds. *Biological Journal of the Linnean Society*, 2: 239-255.

- Hanelt, P. & Mettinn, D. 1989. Biosystematics of the genus *Vicia* L. (Leguminosae). *Annual Review of Ecology and Systematics*, 20:199-223.
- Hansen, D. M.; Olesen, J. M. & Jones, C. G. 2002. Trees, birds and bees in Mauritius: exploitative competition between introduced honey bees and endemic nectarivorous birds? *Journal of Biogeography*, 29: 721-734.
- Henderson, A. 2004. A multivariate analysis of *Hyospathe* (Palmae). *American Journal of Botany*, 91: 953- 965.
- Henderson, A. 2006. Traditional morphometrics in plant systematics and its role in palm systematics. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 151: 103-111.
- Isaac, N. J. B. & Purvist, A., 2004. The “species problem” and testing macroevolutionary hypotheses. *Diversity and Distributions*, 10: 275-281.
- Jensen, R. J.; Hokanson, S. C.; Isebrands, J. G.; Hancock, J. F. 1993. Morphometric variation in oaks of the Apostle Islands in Wisconsin: Evidence of hybridization between *Quercus rubra* and *Q. ellipsoidalis* (Fagaceae). *American Journal of Botany*, 80(11), nov: 1358-1366.
- Jensen, R. J. 2003. The conundrum of morphometrics. *Taxon*, 52 (November): 663-671.
- Judd, W. S.; Campbell, C.S.; Kellogg, E. A.; Stevens, P. F. 1999. *Plant systematics: A phylogenetic approach*. Sunderland: Sinauer.
- Kearns, C. A. & Inouye, D. 1993. *Techniques for pollinations biologists*. Niwot, Colorado: University press of Colorado. 579p.

- Kincaid, D. T.; Anderson, P. J.; Mori, S. A. 1998. Leaf variation in a tree *Pourouma tomentosa* (Cecropiaceae) in French Guiana. *Brittonia*, 50(3), jul-set: 324-338.
- Kores, P. J.; Molvray, M.; Darwin, S. P. 1993. Morphometric Variation in Three Species of *Cyrtostylis* (Orchidaceae). *Systematic Botany*, 18(2), apr.-jun: 274-282.
- Krauss, S. L. 1996. A multivariate analysis of geographic variation in morphology in *Personia mollis* (Proteaceae). *Plant Systematic and Evolution*, 202(1-2): 65-86.
- Kunin, W. 1997. Population size and density effects in pollination: Pollinator foraging and plant reproductive success in experimental arrays of *Brassica kaber*. *Journal of Ecology*, 85: 225–234.
- Laman, T. 1995. Safety recommendations for climbing rain forest trees with “single rope technique”. *Biotropica*, 27: 406-10.
- Leaf Architecture Working Group. 1999. Manual of leaf Architecture: Morphological description and categorization of dicotyledonous and net-veined monocotyledonous angiosperms. Washington, DC. Department of Paleobiology, Smithsonian Institution.
- Leite, A. V. & Machado, I. C. 2007. Fenologia reprodutiva, biologia floral e polinizadores de duas espécies simpátricas de Marantaceae em um fragmento de Floresta Atlântica, Nordeste do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 30(2), abr.-jun: 221-231.
- Lenza, E. & Oliveira, P. E. 2006. Biologia reprodutiva e fenologia de *Virola sebifera* Aubl. (Myristicaceae) em mata mesofítica de Uberlândia, MG, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 29 (3): 443-541.

- Lenzi, M. E. & Orth, A. I. 2004. Fenologia reprodutiva, morfologia e biologia floral de *Schinus terebinthifolius* Raddi (Anacardiaceae), em restinga da ilha de Santa Catarina, Brasil. *Biotemas*, 17(2): 67-89.
- Lenzi, M. E. & Orth, A. I. 2004. Caracterização funcional do sistema reprodutivo da aroeira-vermelha (*Schinus terebinthifolius* Raddi), em Florianópolis-SC, Brasil. *Revista Brasileira de Fruticultura*, 26 (2).
- Lenzi, M.; Orth, A. I.; Guerra, T. M. 2005. Ecologia da polinização de *Momordica charantia* L. (Cucurbitaceae), em Florianópolis, SC, Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 28 (3): 505-513.
- Lima, N. A. de S.; Vieira, M. F., Carvalho-Okano, R. M. de *et al.*, 2005. Cleistogamy in *Ruellia menthoides* (Nees) Hiern and *R. brevifolia* (Pohl) C. Ezcurra (Acanthaceae) in a forest fragment of Southeastern Brazilian. *Acta Botânica Brasilica*, 19 (3): 443-449.
- Machado, I. C. M.; Lopes, A.V.; Porto, K.C. 1998. Reserva Biológica de Dois Irmãos: estudo em um remanescente de mata atlântica em área urbana. Recife, Pernambuco, Brasil. 323p.
- Machado, A. de O. & Oliveira, P. A. M. de. 2000. Breeding biology of *Casearia grandiflora* Camb. (Flacourtiaceae). *Revista Brasileira de Botânica*, 23 (3): 283-290.
- Martin, F. N. 1959. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Technology*, 34: 125-128.

- Martins R. L. & Gribel, R. 2007. Polinização de *Caryocar villosum* (Aubl.) Pers. (Caryocaraceae) uma árvore emergente da Amazônia Central. *Revista Brasileira de Botânica*, 30(1), jan.-mar: 37-45.
- Mayr, E. 1963. *Animal species and evolution*. Cambridge, Mass., Harvard Univ. Press. 797 p.
- Meade, C. & Parnell, J. 2003. Multivariate analysis of leaf shape patterns in Asian species of the *Uvaria* group (Annonaceae). *Botanical Journal of the Linnean Society*, 143: 231-242.
- Merxmuller, H. 1970. Provocation of biosystematic. *Taxon*, 19(2), apr: 140-145.
- Milliken, W. 1998. Structure and composition of one hectare of Central Amazonian terra firme forest. *Biotropica*, 30 (4): 530-537.
- Mikkelsen, K. S. & Seberg, O. 2001. Morphometric analysis of the *Bersama abyssinica* Fresen. Complex (Melianthaceae) in East Africa. *Plant Systematics and Evolution*, 227:157- 182.
- Möller, M.; Gao, L-M.; Mill, R. R.; Li, De-Z.; Hollingsworth, M. L. & Gibby, M. 2007. Morphometric analysis of the *Taxus wallichiana* complex (Taxaceae) based on herbarium material. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 155(3), nov: 307-335.
- Nadia, T. de L, Machado, I. C. & Lopes, A. V. 2007. Polinização de *Spondias tuberosa arruda* (Anacardiaceae) e análise da partilha de polinizadores com *Ziziphus joazeiro* Mart. (Rhamnaceae), espécies frutíferas e endêmicas da caatinga. *Revista Brasileira de Botânica*, 30(1).

- Newstrom, L.E.; Frankie, G.W. & Baker, H. G. 1994. A new classification for plant phenology based on flowering patterns in lowland tropical forest trees at La Selva, Costa Rica. *Biotropica*, 26:141-159.
- Ohashi, K. & Yahara, T. 1998. Effects of variation in flower number on pollinator visits in *Cirsium purpuratum* (Asteraceae). *American Journal of Botany* 85: 219-224.
- Pennington, T. D. 1990. Flora Neotropica: Sapotaceae. Organization for Flora Neotropica by Hafner Publishing Company. (Monograph, 52), York Botanical Garden, 770p.
- Pennington, T. D. 1991. The Genera of Sapotaceae. Royal Botanic Gardens, Kew, 295p.
- Pennington, T.D. 2006. Flora Da Reserva Ducke, Amazonas, Brasil: Sapotaceae. *Rodriguésia*, 57(2): 251-366.
- Perry, D. 1978. A method of access into the crowns of emergent and canopy trees. *Biotropica*, 13: 283-5.
- Petanidou, T.; Den Nijs, J. C. M.; Oostermeijer, J. G. B.; Ellis-Adam, A. C. 1995. Pollination ecology and patch-dependent reproductive success of the rare perennial *Gentiana pneumonanthe* L. *New Phytologist*, 129: 155-163.
- Patten, M. A. & Campbell, K. F. 2000. Typological thinking and the conservation of subspecies: the case of the San Clemente Island loggerhead shrike. *Biodiversity Research*, 6: 177-188.

- Ribeiro, J. E. L. S.; Hopkins, M. J. G.; Vicentini, A.; Sothers, C. A.; Costa, M. A. S.; Brito, J. M.; Souza, M. A. D.; Martins, L. H. P.; Lohmann, L. G.; Assunção, P. A. C. L.; Pereira, E. C.; Silva, C. F.; Mesquita, M. R.; Procópio, L. C. 1999. Flora da Reserva Ducke: Guia de identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra firme na Amazônia Central. INPA/DFID, Manaus, AM, 816 p.
- Richards, A.J. 1997. Plant Breeding Systems. Second edition. Chapman & Hall. 529p.
- Ridley, M. (2006). Evolução, 3^a edição, Editora Artmed, Porto Alegre-RS.
- Salinas-Peba, L. & Parra-Tabla, V. 2007. Phenology and pollination of *Manilkara zapota* in forest and homegardens. Forest Ecology and Management 248, 136–142.
- Saoud, N. S.; Knio, K. & Jury, S. 2007. Phenetic analysis of *Anemone coronaria* (Ranunculaceae) and related species. Botanical Journal of the Linnean Society, 153: 417-438.
- Selin, E. 2000. Morphometric differentiation between populations of *Papaver radicatum* (Papaveraceae) in northern Scandinavia Botanical Journal of the Linnean Society, 133: 263-284.
- Silva, L. M. de M.; Bergemann de Aguiar, I.; Viégas, R. A.; Candeia de Mendonça, I. F. 2006. Biologia Reprodutiva de *Cnidosculus juercifolius* Pax & K. Hoffm (Euphorbiaceae). Revista de Biologia e Ciências da Terra, 6 (2): 25-34.
- Sites, Jr, J. W. & Marshall, J. C. 2004. Operational criteria for delimiting species. Annual Review of Ecology and Evolutionary System, 35: 199-227.

- Souza, V. C. & Lorenzi, H. 2005. Botânica Sistemática: Guia ilustrado para identificação das famílias de Angiospermas da flora brasileira, baseado em APG II. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum, 640p.
- Sokal, R. R. & Rohlf, J. F. 1997. Biometry: The principles and practice of statistics in biological research. 3. ed. New York: W. H. Freeman and Company, 850p.
- Starrett, A. 1958. What is the subspecies problem? *Systematic Zoology*, 7(3), sep: 111-115.
- Steege, H. T.; Sabatier, D.; Castellanos, H.; Van Andel, T. V.; Duivenvooden, J.; Oliveira, A. A.; EK, R.; Lilwah, R.; Maas, P.; Mori, S. 2000. An analysis of floristic composition forest including those of the Guiana Shield. *Journal of Tropical Ecology*, 16: 801-828.
- Stuessy, T. F. 1990. Plant taxonomy; the systematic evaluation of comparative data. Columbia University Press, New York, 514p.
- Teixeira, L. A. G. & Machado, I. C. 2004. Biologia da polinização e sistema reprodutivo de *Psychotria barbiflora* DC. (Rubiaceae). *Acta bot. bras.* 18(4): 853-862.
- Thiébaud, M. 2000. A foliar morphometric approach to the study of Salicaceae. *The Botanical Review*, 66(3): 423-439.
- Vieira, S. 1980. Introdução a bioestatística. 3 ed. revista e ampliada. Rio de Janeiro, RJ. Elsevier. 196p.
- Wake, D. B. 2006. Problems with species: patterns and processes of species formation in salamanders. *Annals of the Missouri Botanical Garden*, 93 (1): 8-23.

- Whang, S. S.; Choi, K.; Hill, R. S. & Pak, J. H. 2002. A morphometric analysis of infraspecific taxa within the *Ixeris chinensis* complex (Asteraceae, Lactuceae). Botanical Bulletin of Academia Sinica, 43: 131-138.
- Williams, W. M.; Ansari, H. A.; Ellison, N. W. & Hussain, S. W. 2001. Evidence of three subspecies In *Trifolium nigrescens* Viv. Annals of Botany, 87: 683-691.
- Wilson, E. O. & Brown, W. L. Jr. 1953. The subspecies concept and its taxonomic application. Systematic Zoology, 2(3), sep: 97-111.
- Zink, R. M. 2004. The role of subspecies in obscuring avain biological diversity and misleading conservation policy. Proc. Royal Society of London B. 271: 561-564.

Anexo 1. Exsicatas presentes na coleção do Instituto nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), Instituto agrônômico do Pará (IAM) e Universidade Federal do Mato Grosso (UFMT) analisadas pelo estudo morfométrico, (0) *Micropholis guyanensis*; (1) *M. guyanensis duckeana*; (2) *M. guyanensis guyanensis*; (3) *M. guyanensis* subsp. 3

Núm. depósito	Local de Coleta	Coletor	SUBSP.	
1	INPA/ 187. 842	Manaus, AM rod. BR 174, Km 64	M. J. R. Pereira 14 Nov. 1984	0
2	INPA /148.159	UHE, Balbina-AM	F. Dionizia, <i>et al.</i> 183/ 4 set.87	0
3	INPA / 157.177	Cucuí-AM, Rio Xié	W. A. Rodrigues n. 10756/ 25 out. 87	0
4	INPA / 170. 503	Manaus, AM, Dist. Agrop. Res. 1501, Km 41-	S. Mori <i>et al.</i> 26 jun. 89	0
5	INPA / 175.801	Manaus, AM BR 174, Km. 72	E. Palheta / 24 jun 89	0
6	INPA / 158.507	Almeirim- PA	N. T. Silva n. 5197/ 8 nov. 79	0
7	INPA / 36.553	Manaus, AM Estrada Manaus Porto Velho	M. F. Silva <i>et al.</i> 462/ 11 set. 72	0
8	INPA / 87.059	Rio Uatumã, Cachoeira da Morena, AM,	C. A.Cid <i>et al.</i> N. 201/ 10 jul. 79	0
9	INPA / 9158	Manaus, AM Km 68 BR 174	W. Rodrigues, 2615/ 17 maio 61	0
10	INPA / 125.330	Almeirim, PA, Monte Dourado	M. R. Santos 276/ 11 nov. 78	0
11	INPA / 31.104	Cruzeiro do Sul, AC Rio Jurua & Rio Moa	P. J. M. Maas <i>et al.</i> / 6 maio 71	0
12	INPA /85. 758	Colombia, Rio Guariven . Caño Bocón	A. Roa 449/ 9 jun 76	0
13	INPA / 60. 836	Nova Prainha, AM Projeto Randan	C. D. A. Mota & Momteiro / 20 jul 76	0
14	INPA / 73.201	Manaus-, AM, Res. Exp. Silv. Trop.	J. Ribamar & J. Ramos, 154/ 11 set 1977	0
15	INPA / 66.450	Estrada Manaus Caracará, Km 57	C. D. A. Mota, 582/ 13 set 76	0
16	INPA / 6634	Belém, PA	J. M. Pires <i>et al.</i> 4427/ 13 jan 53	0
17	INPA / 84. 451	Tefê, AM, lago de Tefê	W. Rodrigues <i>et al.</i> 10168/ 23 jul 79	0
18	INPA / 40 494	Rio Javari, AM embaixo do estirão do equador	E. Lieras <i>et al.</i> / 11 agosto 73	0
19	INPA / 40726	Estrada Manaus Itacoatiara Km 70	G. T. Prance <i>et al.</i> / 5 set. 73	0
20	INPA / 105553	Manaus, AM, Dist. Agrop. Surama ZF3 Km26	A.J.C. Ferreira <i>et al.</i> / 30 abr 81	0
21	INPA / 36.706	Estrada Manaus Porto Velho	M. F. Silva <i>et al.</i> 615/ 13 jul 72	0
			W. Rodrigues & A. loureiro, 5942/ 6 jul 64	0
22	INPA / 14 886	Manaus. AM, Res. Ducke		0
23	INPA / 197 390	Campina do Pataua Parq. Nac. do Jaú, AM	A. Vicentini <i>et al.</i> 1305/ 28 ago 98	0
24	INPA /36 856	Estrada Manaus Porto Velho	M. F. Silva <i>et al.</i> 765/ 17 jul 72	0
25	INPA / 151 609	Porto Velho, RO Represa Samuel	W. Thomas <i>et al.</i> / 18 jun 86	0
26	INPA / 148 322	Manaus, AM, Estação Exp. Silv. Trop.	João Aluísio & Aemando/ 6 ago 87	0
27	INPA / 149 226	Almeirim, PA, Monte Dourado	M. J. Pires & N. T. Silva/ 15 out 76	0
28	INPA / 187896	Manaus, AM, Dist. Agrop. Km 26, faz. Dimona	C. A. Mackenzie <i>et al.</i> / 11 ago 82	0
29	INPA / 85950	Bolívia, Vila Marieta, camino a extrema	E. Meneces/ 24 jun 78	0
			Ribeiro J. E. L. S. <i>et al.</i> 923/ 29 junho 1993	2
30	INPA /179288	Manaus, AM Res. Ducke, igarapé ipiranga		2
31	INPA / 179285	Manaus, AM Res. Ducke, igarapé bolívia	Ribeiro J. E. L. S. <i>et al.</i> 870/ 5 junho 1993	3
32	INPA / 179291	Manaus, AM, Res. Ducke, igarapé Ipiranga	Ribeiro J. E. L. S. <i>et al.</i> 956/ 1 junho 1993	2
33	INPA / 36466	Estrada Manaus Porto velho, rio castanho	M. F. Silva <i>et al.</i> 375/ 10 jul 72	2
34	INPA / 59399	Estrada Manaus Porto Velho	O. P. Monteiro & J. Ramos 938/ 24 abr 76	2
35	INPA / 28 360	Manaus, AM, Reserva Ducke	W. Rodrigues 8974/ 20 out 70	2
36	INPA / 179358	Manaus, AM, Reserva Ducke, igarapé do acará	A. Vicentine <i>et al.</i> 964/ 23 maio 95	2
37	INPA / 179296	Manaus, AM, Reserva Ducke igarapé do tinga	Ribeiro J. E. L. S. 1112 <i>et al.</i> 12 ago 93	2
38	INPA / 120993	RO Município de Rolin Moura	C.A.Cid <i>et al.</i> 4620 18 jun 84	2
39	INPA / 151.422	Porto Velho, RO, Represa Samuel	W. Thomas <i>et al.</i> / 7 jun 1986	2
40	INPA / 218530	Manaus, AM, Res. ZF3 , BR 173, Km 63	Oliveira A. C. A. 391 <i>et al.</i> / 23 ago 2004	1
41	INPA / 218531	Manaus, AM, Res. ZF3 , BR 173, Km 63	Oliveira A.C.A. 392 <i>et al.</i> / 23 ago 2004	1
42	INPA / 14886	Manaus, AM Res. Ducke, estrada da Petrobrás	W. Rodrigues & A. loureiro 5942/ 6 jul 64	1

43	INPA / 218530	Manaus, AM, Res. Ducke estrada para torre	Sothers C.A. 895/ 15 ago96	1
44	INPA / 149.996	Monts La Fumée, (Guyana Francesa)	S. Mori & B. Boom / 21 ago 82	1
45	INPA / 151693	Balbina, AM, Rio Uatumã	W. Thomas <i>et al.</i> /1 jul 86	1
46	INPA / 172 093	Suriname(Jodensavanne, Mapane creek area)	J. P. Schulz 7748/ 2 set 56	1
47	INPA /135 451	Tucuruí, PA	M. G. Silva 5497/ 14 jun 80	0
48	INPA / 59 814	Manaus, AM, Res. Ducke	Adair R. de Oliveira/ 22 jul 76	1
49	INPA / 72911	Manaus, AM, Res. Ducke	Adair/ 13 out 76	1
50	INPA / 9.627	Manaus, AM, Res. Ducke	W. Rodrigues <i>et al.</i> 2279/ 1 ago 61	1
51	INPA / 17.734	Manaus, AM, Res. Ducke	G.T.Prance <i>et al.</i> / 2 set 66	1
52	INPA / 15631	Manaus, AM, Res. Ducke	W. Rodrigues <i>et al.</i> 6954/ 20 jul 65	1
53	INPA / 41.150	AM Manaus. Rio branquinho (rio cuieras)	G.T. Prance <i>et al.</i> / 12 set 73	1
54	INPA / 150540	Faz. Atlântica, Porto dos Gaúchos (MT220)	W. Thomas <i>et al.</i> / 25set 85	1
55	INPA / 151509	Porto Velho, RO, Represa Samuel	W. Thomas <i>et al.</i> / 13 jun 86	1
56	INPA / 179284	Manaus, AM, Res. Ducke igarapé bolívia	Ribeiro J. E. L. S. 867 <i>et al.</i> / 5 jun 93	1
57	INPA / 179248	Manaus, AM, Res. Ducke	Hopkins M. J.G. 1475 <i>et al.</i> /5 ago 94	1
58	INPA / 179280	Manaus, AM, Res. Ducke, igarapé bolívia	Ribeiro J. E. L. S. 847 <i>et al.</i> / 4 jun 93	1
59	INPA /15069	Manaus, AM, Res. Ducke	W. Rodrigues <i>et al.</i> 6019/ 27 ago 64	1
60	INPA / 59367	Estrada Manaus Porto Velho, BR 319, KM 460	O. P. Monteiro & J. Ramos 908/ 24 abr 76	1
61	UFMT/ 9942	Estrada Manaus Itacoatiara, Km 69-70	G.T.Prance <i>et al.</i> / 5 set 73	0
62	UFMT/ 9943	Rio Javari, AM	E. Lieras <i>et al.</i> /11 ago 73	0
63	IAN/75312	Porto Velho, RO	G.A. Black/ 31 maio 52	0
64	IAN/127693	Rio Jarí, Monte Dourado, PA	Nilo T. Silva/ 26 out 68	0
65	IAN/100077	Região do Rio Curuá-Uma, baixo Amazonas,PA	R. L. Fróes 33880/ jun 57	0
66	IAN/ 102706a	Rodovia Belém Brasília km 93	M. Kuhlmann & S. Jimbo 140/ 27 ago 59	0
67	IAN/121273	Belém, PA, IPEAN, Reserva Mocambo	J. M. Pires & N. T. Silva 10561/26 maio 67	0
68	IAN/123983	Rio Jarí, PA, estrada de Monte Dourado a Caracurú	E de Oliveira 3738/ 16 nov 67	0
69	.IAN/98334	Mata da Cia. Pirelli, faz. Uriboca,PA	J. M. Pires 6947/ jul 58	0
70	.IAN/ 149146	Suriname, Rio Lucie	H. S. Irwin <i>et al.</i> / 8 ago 63	0
71	IAN/113136	Manaus, AM, Res. Ducke	W. Rodrigues & D. Coelho 2279/ 1 ago 61	0
72	IAN/77844	Porto Velho, RO KM 8	J. F. Silva 177/ 19 jun 52	0
73	INPA/61.459	Manicoré, AM, Rio Madeira	C. D. A. Mota s/n/ 19 ago 76	0
74	INPA/135.451	Tucuruí, PA	M.G. Silva 5497/ 14 jun de 80	0
75	INPA/218.483	Manaus, AM, Reserva ZF2, BR 174	Oliveira A.C.A. <i>et al.</i> / 24 set. 04	0
76	INPA/163.147	Marajó, PA, Cuanta dos Anajas,	G. T. Prance <i>et al.</i> / 4 nov de 87	0
77	INPA /51.337	AM Rio Juruá, Seringal Santa Rosa	D. Coelho <i>et al.</i> /12 ago 75	0
78	INPA /73.293	Estrada Manaus - Caracará Km 39	J. Ribamar & J. Ramos 246/ 15 set 77	0
79	INPA / 73.100	Estrada Manaus - Caracará Km 39	F. Mello & J. Ribamar 62/ 26 ago77	0
80	INPA /15.912	Estrada AM, 01, Km 100	Rodrigues A. A. & Loureiro 7186/ 23 set 65	0
81	INPA / 105.352	Manaus, AM, ZF3 Km 26	A. J. C. Ferreira <i>et al.</i> 24 abr 81	0
82	INPA/	Manaus, AM, ZF3 Km 26	A. J. C. Ferreira <i>et al.</i> / 29 abr 81	0
83	INPA /170.604	Manaus, AM, Dist. Agrop. Res.1501 Km 41	S. Mori <i>et al.</i> / 3 ago 89	0
84	INPA / 163.163	Marajó, PA, Cuanta dos Anajas,	G.T. Prance <i>et al.</i> / 5 nov 87	0
85	INPA / 169.558	Est. Eco. Do Jarí, PA	H. T. Beck <i>et al.</i> / 12 out.87	0
86	INPA /171.464	Manaus, AM, Dist. Agorp. Res.1501 Km 41	A. A. Oliveira <i>et al.</i> / 17 dez 91	0
87	INPA / 171.507	Manaus, AM, Dist. Agorp. Res.1501 Km 41	A. A. Oliveira <i>et al.</i> / 25 jan 92	0
88	INPA /174.982	Manaus, AM Dist. Agorp. PDBFF Faz. Dimona	M. Pacheco <i>et al.</i> / 3 nov 88	0
89	INPA /175.347	Manaus, AM Dist. Agorp. PDBFF Faz. Dimona	A. P. da Silva / 25 out 89	0
90	INPA /175.423	Manaus, AM Dist. Agorp. PDBFF, Faz. Esteio	A. P. da Silva/ 5 out 89	0

91	INPA / 175.845	Manaus, AM, Dist. Agrop. PDBFF, Faz. Esteio	S. S. da Silva/ 5 out. 89	0
92	INPA /175.848	Manaus, AM, Dist. Agorp. PDBFF Faz. Dimona	S. S. da Silva/ 8 set 89	0
93	INPA /175.849	Manaus, AM Dist. Agrop. PDBFF, Faz. Esteio	S. S. da Silva/ 5 out 89	0
94	INPA /57823	Manaus, AM, Res. Ducke	Roberto/ 7 maio 76	0
95	INPA /58.680	Manaus, AM, Res. Ducke	Adair R. & Oliveira/ 31 ago 76	0
96	INPA /59.685	Manaus, AM, Res. Ducke	Adair R. Oliveira/ 23 jun 76	0
97	INPA /70.341	Manaus, AM, Res. Ducke	J. Aluísio de Souza/ 21 set 76	0
98	INPA /70.351	Manaus, AM, Res. Ducke	J. Aluísio de Souza/ 6 ago 76	0
99	INPA / 218.482	Manaus, AM, Res. ZF2, Proj TEAM	Oliveira A. C.A. <i>et al.</i> 343/ 27 set 2004	0
100	INPA /218.389	Manaus, AM, Res. ZF3, Proj TEAM	Mello A.T. 48 & Oliveira I.G./19 set 05	1
101	INPA /212.284	Manaus, AM, Res. Ducke	J. Aluísio 44 /16 jul 68	0
102	INPA /72.912	Manaus, AM, Res. Ducke	Adair /7 out 76	0
103	INPA /14.041	Manaus, AM, Res. Ducke	W. Rodrigues 5372/ 9 jul 63	0
104	INPA /153.532	Porto Velho, RO	C.A.Cid Ferreira 8878/ 24 abr 87	0
105	INPA /36.724	Estrada Manaus Porto Velho	Silva M. F. <i>et al.</i> 663/ 13 jul 72	0
106	INPA /109.867	Brasiléia, AC	S. R. Lowrie <i>et al.</i> / 5 nov 80	0
107	INPA /35.46	Estrada Manaus Itacoatiara Km 45	Silva M. F. & Coelho L. 84 4/ abr 72	0
108	INPA /73.065	Estrada Manaus Caracará Km 39 EEST	F. Mello & J. Ribamar 27 23 /ago 77	0
109	INPA /47.465	Estrada Manaus Porto Velho Km 380	G. T. Prance <i>et al.</i> /13 out 74	0
110	INPA /104.707	Humaitá, AM	L. O. Teixeira <i>et al.</i> 971/ 6 jun 82	0
111	INPA /91532	Rio Urubu, AM	C. Calderoni 2935/ 5 ago 79	0
112	INPA /30916	Cruzeiro do Sul , AC	G. T. Prance <i>et al.</i> / 28 abr 71	0
113	INPA /15.730	Estrada AM 01 Km 79	W. Rodrigues & A. Loureiro 7068/ 1 set 65	0
114	INPA /184.392	Manaus, AM, Dist. Agorp. Res.1501 Km 41	N. M. Lepsch Cunha <i>et al.</i> / 21 jan 90	0
115	INPA /198.142	Manaus, AM Dist. Agrop. PDBFF, Faz. Esteio	S. E. T. Z. Eleonore/ 29 set 90	0
116	INPA /217.458	Manaus, AM, Res. Ducke	Oliveira A.C.A. 200/ 29 jun 04	0
117	INPA /17.739	Manaus, AM, Res. Ducke	G.T.Prance <i>et al.</i> 2 set 66	0
118	INPA /105.347	Manaus, AM, Dist. Agorp. ZF3 Km 26	A. J. C. Ferreira <i>et al.</i> / 25 set 81	0
119	INPA /10.325	Amapá, AP, Serra do Navio	W. Rodrigues 2969/ 1961	0
120	INPA /15.747	Estrada AM 01 Km 79	W. Rodrigues & A. Loureiro 7068/ 3 set 65	0
121	INPA /91.054	Nova Vilhena, RO	Bruce W. Nelson 353/ 3 nov 79	0
122	INPA /73.178	Estrada Manaus Caracará Km 39 EEST	J. Ribamar & J. Ramos 136 2/ set 77	0
123	INPA /73.101	Estrada Manaus Caracará Km 39 EEST	F. Mello & J. Ribamar 63/ 26 ago 77	0
124	INPA /73.176	Estrada Manaus Caracará Km 39 EEST	J. Ribamar & J. Ramos 134 2/ set 77	0
125	INPA /85.764	Colômbia Rio Apaporis	A. Roa/ 23 maio 77	0
126	INPA /85.767	Colômbia, Puika-ke (Puinave) Chivui-apelu	A. Roa / 384 maio 76	0
127	INPA /85.759	Colômbia Carretera Letícia-Taparacá Amazonas	A. Roa 475/ ago 79	0
128	INPA /50.071	Estrada Manaus Itacoatiara Km 134	O. P. Monteiro & F. Mello/ 10 jul 75	0
129	INPA /62.959	Estrada Manaus Itacoatiara Km 62	M. F. Silva <i>et al.</i> 2027/ 13 jan 77	0
130	INPA /141.826	Surinami	sem dados coletor/ 17 abr 25	0
131	INPA /105.349	Manaus, AM, Dist. Agorp. ZF3 Km 26	A. J. C. Ferreira <i>et al.</i> / 1 maio 81	0
132	INPA /105.348	Manaus, AM, Dist. Agorp. ZF3 Km 26	A. J. C. Ferreira <i>et al.</i> 6 maio 81	0
133	INPA /105.350	Manaus, AM Dist. Agorp. ZF3 Km 26	A. J. C. Ferreira <i>et al.</i> 29 abr 81	0
134	INPA /10.326	Amapá, AP, Serra do Navio	W. Rodrigues 2970/ 1961	0
135	INPA /136.678	Tucuruí, PA, Rio Tocantins, BR 422, Km 20	P. Lisboa <i>et al.</i> 1388/ 4 nov 80	0
136	INPA /39748	Manaus, AM, Res. Ducke	W. Rodrigues 9239/nov 72	0
137	INPA /46.995	Manaus, AM, Res. Ducke	W. Rodrigues 9579/ 27 ago 63	0
138	INPA /67.445	Rio Canumã, AM	O. P. Monteiro <i>et al.</i> 1368/ maio 77	0
139	INPA /66.875	Manaus Caracará BR 174 Km 57	C. D. A. Mota 678/ 15 set 77	0

140	INPA /206.854	Estrada Puraquequara Km 29	Silva S. F. da Silva 209 a/ 10 out 00	0
141	INPA /57.810	Estrada Manaus Itacoatiara Km27	F. Mello & J. Ramos/ 30 jun 76	0
142	INPA /101.458	Oriximiná, PA	Gustavo Martinelli 6821/ 9 jun 80	0
143	INPA /123.672	Tucuruí, PA	J. F. Ramos & E. F. Lima 1537	0
144	INPA /59.167	BR 319 Km 310	O. P. Monteiro & J. Ramos 740/ 14 abr 76	0
145	INPA /89.152	Vilhena, RO	M. G. Vieira <i>et al.</i> 829/ 31 out 79	0
146	INPA /36.611	Estrada Manaus Porto Velho, lago castanho	M. F. Silva <i>et al.</i> 520	0
147	INPA /70.335	Manaus, AM, Res. Ducke	Aluísio/ 25 ago 76	0
148	INPA /5229	Manaus, AM, Res. Ducke	L. Coelho / 4 maio 56	0
149	INPA /137.841	Sinop, MT, BR 163, entre Sinop e Itauba	C. A. Cid Ferreira <i>et al.</i> 6206/ 24 set 85	0
150	INPA /31.169	Cruzeiro do Sul, AC	P. J. M. Maas <i>et al.</i> / 8 maio 71	0
151	INPA /70.334	Manaus, AM, Res. Ducke	Aluísio 25 ago 76	0
152	INPA /152.995	Fonte Boa Rio Solimões, AM	C.A.Cid Ferreira <i>et al.</i> 8398/ 4 out 86	0
153	INPA /51.340	Rio Juruá Seringal Santa Rosa, AM	D. Coelho <i>et al.</i> /12 ago 75	0
154	INPA /33.610	Norte Rio Negro, abaixo Taruruquara, AM	G.T.Prance <i>et al.</i> 15394/ 18 out 71	0
155	INPA /140.830	Porto Velho, RO	C. A.Cid Ferreira 7443/ 13 jun 86	0
156	INPA / 57.830	Manaus, AM, Res. Ducke	F. Mello & J. Ramos/ 23 jun 76	0
157	INPA /5221	Manaus, AM, Res. Ducke	L. Coelho/ 96	0
158	INPA /5238	Manaus, AM, Res. Ducke	L. Coelho/ jun 62	0
159	INPA /5230	Manaus, AM, Res. Ducke	L. Coelho / 4 jan 62	0
160	INPA /5944	Manaus, AM, Res. Ducke	J. Chagas / 3 maio 62	0
161	INPA /59.615	Manaus, AM, Res. Ducke	Adair R. de Oliveira/ 28 jul 76	0
162	INPA /110.027	Manaus, AM, Res. Ducke	B. W. Nelson & S. P. Nelson 425/ 14 jun 80	0
163	INPA /179.262	Manaus, AM, Res. Ducke	Nascimento J. R. 662 <i>et al.</i> / 24 nov 94	0
164	INPA /23.979	Santa Barbara, RO	G. T. Prance & J. F. Ramos /17 ago 68	0
165	INPA /202.254	Manaus, AM ZF2 Estação Exp. Silvicultura	Lemos M. C. 219/ jan 97	0
166	INPA /202.280	Manaus, AM, ZF2 Estação Exp. Silvicultura	Lemos M. C. 217/ s/ data	0
167	INPA /164.076	Almeirim, PA, Est. Eco do Jari	A. Tavares <i>et al.</i> 188/ 12 out 87	0
168	INPA /179.294	Manaus, AM, Res. Ducke	Ribeiro J.E.L.S. 1001 <i>et al.</i> / 4 jul 93	0
169	INPA /179.224	Manaus, AM, Res. Ducke	Coêlho D. D & Lima R. D. /11 maio 88	2
170	INPA /187.928	Manaus, AM, ZF3, Faz Porto Alegre PDBFF	L. MARS <i>et al.</i> / 10 mar 84	2
171	INPA /179.293	Manaus, AM, Res. Ducke	Ribeiro J.E.L.S. 990 <i>et al.</i> / 3 jul 93	2
172	INPA /187.873	Manaus, AM, Faz Dimona PDBFF	M. J. R.Pereira <i>et al.</i> / 22 jun 85	2
173	INPA /162.559	Coai, AM, Rio Urucu	C. A. A.Freitas & C.D.A. Mota/ maio 91	2
174	INPA /60.094	Estrada Manaus Itacoatiara Km 118	O. P. Monteiro 1275/ 12 jul 76	2
175	INPA /25032	Porto Velho, RO	G. T. Prance <i>et al.</i> / 7 nov 68	2
176	INPA /64.707	Aripuanã, MT	M. Gomes <i>et al.</i> 564/ 25 jan 77	2
177	INPA /64.711	Aripuanã, MT	M. Gomes <i>et al.</i> 567/ 25 jan 77	2
178	INPA /62.361	AM Manaus Caracarai Km 58	D. Coelho & C. Damião 859/ set 76	2
179	INPA /65.419	Manaus, AM, Caracarai Km 58	J. R. Nascimento 02/ 20 set 76	2
180	INPA /92.190	Manaus, AM, ZF3 Faz Esteio PDBFF	J. Rankin <i>et al.</i> / 12 nov 79	2
181	INPA /85.768	Colômbia Rio Agaró Paraná Outumayo	Acero E. & R. Rodrogoez 102/ ago 77	2
182	INPA /20.564	Estrada Manaus Itacoatiara Km 104	Byron <i>et al.</i> 67-52/ 23 maio 67	2
183	INPA /50.910	Estrada Manaus Itacoatiara Km 118-135	O. Monteiro/ 24 ago 75	2
184	INPA /41.777	Rio Aripuanã, base do salto dos Dardanelos, MT	C. C. Berg <i>et al.</i> / 13 out 73	2
185	INPA /57.859	Araipuanã, MT	M. Gomes & S. Miranda 89/ 23 jul 76	2
186	INPA /59.410	Estrada Manaus Porto Velho Km 390	O. P. Monteiro & J. Ramos 949/ 26 abr 76	2
187	INPA /187.927	Manaus, AM, ZF3 Faz Porto Alegre PDBFF	L. MARS <i>et al.</i> /18 abr 84	2
189	INPA /179.332	Manaus, AM, Res. Ducke	Vicentini A. 386 & Assunção P.A.C.L. /4 dez 93	2

190	INPA /57.820	Manaus, AM, Res. Ducke	Haroldo /28 jun 76	2
191	INPA /57.815	Manaus, AM, Res. Ducke	F. Mello & J. Ramos /30 jun 76	2
192	INPA /57.818	Manaus, AM, Res. Ducke	F. Mello & J. Ramos /06 jun 76	2
193	INPA /57.829	Manaus, AM, Res. Ducke	F. Mello & J. Ramos/ 29 jun 76	2
194	INPA /59.874	Manaus, AM, Res. Ducke	João A. C. Souza /22 jun 76	2
195	INPA /59.841	Manaus, AM, Res. Ducke	Adair R. de Oliveira/ 20 jul 76	2
196	INPA /63.337	Aripuanã, MT	M. Gomes & S.Miranda 271/ 3 set 76	2
197	INPA /60.810	Nova Prainha, AM	C. D. A. Mota & O. P. Monteiro/ 25 jul 76	2
198	INPA /57.824	Manaus, AM, Res. Ducke	J. A. Souza /25 jun 76	1
199	INPA /91.779	Manaus, AM, Res. Ducke	J. Aluizio de Souza 8009/ 5 abr 80	1
200	INPA /142.676	Guyana, St. Laurent	C. Feuillet 1420/ 7 jull 84	1
201	INPA /179.335	Manaus, AM, Res. Ducke	Vicentini A. 397 <i>et al.</i> / 10 dez 93	1
202	INPA /179.279	Manaus, AM, Res. Ducke	Ribeiro J.E.L.S. 835 <i>et al.</i> / 4 jul 93	3
203	INPA /169.427	Peru Prov. Manu: Parque Nacional Manu	Robin B. Foster 11.848 <i>et al.</i> / 14 out 86	1
204	INPA /60.553	Manaus, AM, Res. Ducke	Adair /12 ago 76	1
205	INPA /158.933	Base do Rio Negro, São Gabriel, AM	S/ dados do coletor/ 24 mar 42	1
206	INPA / 158.887	Base Rio Trombetas,PA	C. W. Smith 600/ 26 abr 41	1
207	INPA / 158.894	Base do Rio Madeira, Boca Rio Manicoré, AM	C. W. Smith/ 27 set 41	1
208	INPA /158.895	Base do Rio Madeira, Boca Rio Manicoré, AM	C. W. Smith / 27 set 41	1
209	INPA /170.498	AM Distrito Agrop. Res. 1501	S. Mori <i>et al.</i> / 26 jun 89	1
210	INPA /170.574	Manaus, AM, Distrito Agrop. Res. 1501	S. Mori <i>et al.</i> / 27 jun 89	1
211	INPA /141.120	Tefê, AM Rio Curimitá de baixo	José Ribeiro 17/ 25 jun 82	1
212	INPA / 127.570	Carauari, AM, Poço Juruá	A. S. L. da Silva <i>et al.</i> 565	1
213	INPA / 165.466	Novo Airão, AM	Robert Miller 788/ 16 out 89	1
214	INPA /59.680	Manaus, AM, Res. Ducke	Adair R. de Oliveira/ 26 jun 76	1
215	INPA /6543	Manaus, AM, Res. Ducke	L. Coelho/ 21 jun 56	1
216	INPA /57.817	Manaus, AM, Res. Ducke	F. Mello & J. Ramos/ 7 jun 76	1
217	INPA /5955	Manaus, AM, Res. Ducke	J. Chagas/ mar 66	1
218	INPA /17.716	Manaus, AM, Res. Ducke	G. T. Prance/ 1 set 66	1
219	INPA /110.286	AM, Manaus, Cachoeira do Tarumã	Bruce W. Nelson 867 s/ data	1
220	INPA /60.553	Manaus, AM, Res. Ducke	Adair R. Oliveira/ 12 ago 76	1
221	INPA /21.368	Manaus, AM, Res. Ducke	J. Aluísio 92/ 19 ago 68	1
222	INPA /41.141	Manaus, AM, Rio Cuieras	G. T. Prance <i>et al.</i> / 12 set 73	1
223	INPA /151.681	Presidente Figueiredo, AM, Represa de Balbina	W. Thomas <i>et al.</i> / 1 jul 86	1
224	INPA /188.137	Manaus, AM, Distrito Agrop. Reserva 1501	B. Boom <i>et al.</i> / 6 dez 88	1
225	INPA /151.723	Presidente Figueiredo, AM, Represa de Balbina	W. Thomas <i>et al.</i> / 3 jul 86	1
226	INPA /14.006	Manaus, AM, Res. Ducke	W. Rodrigues 5737/ 5 jul 73	1
227	INPA /105.354	Manaus,AM, Distrito Agropecuário ZF3, Km 26	A. J. C. Ferreira/ 13 maio 81	1
228	INPA /120.495	Estrada Manaus Caracará Km 50 ZF 2, KM 17	S. Reniver & S. Penner/ 24 abr 76	1
229	INPA /39.367	Manaus, AM, Lago Castanho-Mirim	B. Albuquerque <i>et al.</i> 1026/ 2 jul 73	1
230	INPA /40.873	Estrada Manaus Itacoatiara Km 31	W. Steward & J.Ramos/ nov 73	1
231	INPA /66451	Manaus Caracará BR 174 Km 57	Cosme Damião 583/ 13 set 76	1
232	INPA / 94.146	Manaus, AM, ZF3 Km 24 Res. 1202	J. Lima & B. Zimmerman	1
234	INPA /104.294	Ariquemes, RO, Mineração Mibrasa	L. O. A.Teixera <i>et al.</i> 557/ 17 maio 82	1
235	INPA /98.291	AC Brasília, Estrada para Assis Brasil Km 13	C.A.Cid <i>et al.</i> 30902/ nov 80	1
236	INPA /28.237	Manaus, AM	W. Rodrigues 8873/ 19 maio 70	1
237	INPA /28.692	Uiacá, RR	G.T.Prance <i>et al.</i> / 7 fev 71	1
238	INPA / 61.660	Manicoré, AM	C. D. A. Mota/ 22 ago 76	1
239	INPA /59.412	Pataúá, AM	O. P. Monteiro & J. Ramos 951/ 26 abr 76	1
240	INPA /85.766	Colômbia Alto Inirida-Vaupés	Henrique Acero D. & A. Roa 874/ ago 78	1

241	INPA /85.765	Colômbia Rio Inirida-Guainia	Alvaro Roa T. & A. Roa 382/ maio 76	1
242	IAN/121.741	Belém, PA, IPEAM	J. M. Pires & N.T. Silva 11.031/ 29 set 67	0
243	IAN/98.139	Belém, PA, Mata da Cia. Pirelli, Faz. Uriboça	J. M. Pires 6787/ jun 58	0
244	IAN/105.079	Rodovia Belém Brasília Km 131	E. Oliveira 331/ 12 jan 60	0
245	IAN/121.639	Belém, PA, IPEAM Res. do Mocambo	J. M. Pires & N.T. Silva 10.926/ 21 set 67	0
246	IAN/136.915	Ilha do Mosqueiro, Belém, PA, Faz. Agropastoril	E. Oliveira/ 20 out 71	0
247	IAN/136.963	Ilha do Mosqueiro, Belém, PA, Faz. Agropastoril	E. Oliveira/ 3 set 71	0
248	IAN/42.830	Manaus, AM, Igarapé Jandiatuba	R. L. Frões 32895/ 12 jan 49	0

