

ADRIANO VALENTIN DA SILVA

**FENOLOGIA DE *Piper gaudichaudianum* KUNTH E *P. vicosanum* YUNCK.
(PIPERACEAE) EM FRAGMENTO DE FLORESTA ATLÂNTICA, COM
ENFOQUE NA BIOLOGIA FLORAL DE *P. vicosanum***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Botânica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

VIÇOSA
MINAS GERAIS – BRASIL
2013

Ficha catalográfica preparada pela Seção de Catalogação e
Classificação da Biblioteca Central da UFV

T

S586f
2013

Silva, Adriano Valentin da, 1986-

Fenologia de *Piper guadichaudianum* Kunth e *P. vicosanum* Yunck. (Piperaceae) em fragmento de Floresta Atlântica, com enfoque na biologia floral de *P. vicosanum* / Adriano Valentin da Silva. – Viçosa, MG, 2013.
ix, 49f. : il. (algumas color.) ; 29cm.

Orientador: Milene Faria Vieira

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Viçosa.
Inclui bibliografia.

1. Fenologia vegetal. 2. Plantas - Reprodução. 3. Pólen - Dispersão. I. Universidade Federal de Viçosa. Departamento de Biologia Vegetal. Programa de Pós-Graduação em Botânica. II. Título.

CDD 22. ed. 583.25

ADRIANO VALENTIN DA SILVA

**FENOLOGIA DE *Piper gaudichaudianum* KUNTH E *P. vicosanum* YUNCK.
(PIPERACEAE) EM FRAGMENTO DE FLORESTA ATLÂNTICA, COM
ENFOQUE NA BIOLOGIA FLORAL DE *P. vicosanum***

Dissertação apresentada à Universidade Federal de Viçosa, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Botânica, para obtenção do título de *Magister Scientiae*.

APROVADA: 20 de fevereiro de 2013

Ana Paula Santos Gonçalves

Denise Maria Trombert de Oliveira

Marília Contin Ventrella

Milene Faria Vieira
(Orientadora)

AGRADECIMENTOS

À UFV e ao Programa de Pós-Graduação em Botânica pela oportunidade de realização do mestrado.

Ao CNPq pela bolsa que me foi concedida e que me permitiram pagar minhas contas em dia.

Ao Departamento de Biologia Vegetal pelo apoio logístico.

Aos funcionários da Mata do Paraíso, do Laboratório de Anatomia Vegetal e do Núcleo de Microscopia e Microanálise onde realizei minha pesquisa.

Ao Pedro por ter me apresentado à prof^a Milene. Graças a você tive essa parceria de um “doutorado” (= iniciação científica, monografia e mestrado).

À Rúbia pelo auxílio com as análises fenológicas.

Ao Victor por ter me incentivado e ajudado com o trabalho de anatomia.

Aos bons professores que contribuíram na minha formação profissional.

À minha orientadora, prof^a Milene, pela efetiva orientação e pelo exemplo de como ser um bom profissional. São pessoas como você, que parecem estar em extinção, que mantêm acesa minha esperança de continuar na carreira acadêmica. E também pelas conversas e ensinamentos de vida.

À prof^a Marília pela coorientação.

Às professoras Ana Paula, Denise e Marília que prontamente aceitaram participar da minha banca e que deram contribuições significativas.

A Deus pela presença e força em todos os momentos, principalmente nos mais difíceis.

À minha família, minha fortaleza, pelo apoio constante, em especial à minha mãe que sempre me incentivou a estudar, apesar das dificuldades.

À Lígia pelo amor, companheirismo e imensa compreensão com minha vida acadêmica.

Aos velhos amigos, que o tempo e a distância não diminuíram a amizade.

Aos floresteiros de 2006, especialmente Karina, Márcia e Simone, com quem a amizade continua mesmo após a formatura.

Aos companheiros do 311 e da república Toca Gado por me ensinarem a arte de conviver.

Aos novos amigos conquistados durante o mestrado.

À Josi, Isla, Lívia, Van, Mari e Zé, a “salinha” foi muito especial. Foram momentos de risos e também de choro, mas de apoio mútuo e que nunca serão esquecidos.

A todos que de uma forma ou de outra contribuíram para a realização deste trabalho.

RESUMO

SILVA, Adriano Valentin da, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, fevereiro de 2013. **Fenologia de *Piper gaudichaudianum* Kunth e *P. vicosanum* Yunck. (Piperaceae) em fragmento de Floresta Atlântica, com enfoque na biologia floral de *P. vicosanum*.** Orientadora: Milene Faria Vieira.

Estudos fenológicos em espécies de *Piper* são escassos. Essas plantas são importantes componentes de sub-bosques de florestas tropicais e possuem flores e frutos morfológicamente semelhantes entre espécies do gênero. Devido às semelhanças de habitat e morfológicas, informações fenológicas são particularmente relevantes, pois auxiliam no entendimento da manutenção da identidade taxonômica de cada espécie coocorrente, incluindo aspectos dos seus mecanismos reprodutivos. As flores de *Piper* apresentam sequência assincrônica no desenvolvimento dos quatro (2, 1, 1) ou seis (2, 1, 1, 2) estames. Estudos mostraram que a dicogamia é comum em flores das espécies desse gênero. Entretanto, não há informações sobre a longevidade dos estigmas e o modo de exposição de suas áreas receptivas associadas à liberação dos grãos de pólen. Foram objetivos analisar e comparar as fenofases vegetativas e reprodutivas de duas espécies coocorrentes de *Piper*, *P. gaudichaudianum* e *P. vicosanum*, e verificar a influência de fatores abióticos nos seus comportamentos fenológicos. Além disso, descrever a cronologia de liberação dos grãos de pólen dos quatro estames das flores de *P. vicosanum*, associando-a ao período de receptividade dos estigmas e ao modo de exposição de suas áreas receptivas. O estudo fenológico foi realizado de setembro/2008 a agosto/2010 em fragmento de Floresta Atlântica, em Viçosa, Minas Gerais, sudeste brasileiro. Foram avaliados, em 20 indivíduos de *P. gaudichaudianum* e 24 de *P. vicosanum*, os seguintes eventos fenológicos: emissão de rebentos (caules emitidos a partir do solo), brotação, produção e aborto de espigas, espigas com flores em pré-antese, em antese, com frutos e espigas com frutos dispersadas. Os dados foram coletados semanalmente e analisados pelo índice de atividade e, ou pela intensidade. Adicionalmente, foi verificada a sazonalidade das fenofases e sua correlação com variáveis ambientais. No estudo de biologia floral foram avaliadas a receptividade dos estigmas, com Peroxtesmo KO[®], e a viabilidade dos grãos de pólen, com carmim acético. Observações em campo foram feitas, durante 46 horas, dos períodos de receptividade dos estigmas e liberação de pólen. Espigas foram ensacadas para verificar a ocorrência de autopolinização espontânea. Aspectos da biologia floral também foram

analisados com auxílio de estudos em microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura, aplicando-se métodos usuais. As fenofases, com poucas exceções, foram sazonais e correlacionaram-se positivamente com as variáveis ambientais temperatura média, precipitação e, principalmente, comprimento do dia. A maioria dos rebentos emitidos por *P. gaudichaudianum* permaneceu latente. Em *P. vicosanum*, os rebentos produziram espigas que floresceram, aumentando o número total de espigas. A brotação, nas espécies, ocorreu durante todo ou quase todo o ano, com picos síncronos na estação chuvosa (outubro e novembro). As espigas produzidas por *P. vicosanum*, ao longo do ano, permaneceram latentes por até 12 meses. Em *P. gaudichaudianum*, as espigas foram produzidas na estação chuvosa, entre outubro e dezembro, e floresceram em seguida. Nas espécies, o aborto de espigas foi acima de 73%. Ambas apresentaram picos de floração (antese), frutificação e dispersão de espigas com frutos, também na estação chuvosa (de outubro a março), sem sobreposição desses eventos entre as espécies. *Piper vicosanum* apresentou protoginia incompleta (a fase pistilada durou até o sexto dia) e houve 100% de frutificação, provavelmente devido à fase bissexuada das flores; portanto, é autocompatível. O período de receptividade dos estigmas foi longo (até 14 dias) e a exposição e senescência das papilas estigmáticas ocorreram de forma escalonada, em sentido basípeto, características inéditas para o gênero. Nas papilas senescentes, houve acúmulo de compostos fenólicos, no mesmo sentido. A liberação de pólen assíncrona, na sequência 1, 1, 1, 1, diferiu da sequência de desenvolvimento dos estames e é descrita pela primeira vez. O processo de liberação do pólen durou por até seis dias. Concluindo, as espécies possuem estratégias reprodutivas distintas, com separação temporal das fenofases reprodutivas, que são reguladas por variáveis ambientais semelhantes. O conjunto da morfologia funcional de *P. vicosanum* - flores protogínicas, longos períodos de receptividade do estigma e liberação de pólen, e uma fase bissexual das flores - parecem ser eventos-chave para suas estratégias reprodutivas na área de estudo.

ABSTRACT

SILVA, Adriano Valentin da, M. Sc., Universidade Federal de Viçosa, February, 2013. **Phenology of *Piper gaudichaudianum* Kunth and *P. vicosanum* Yunck. (Piperaceae) in Atlantic Forest fragment, with focus on floral biology of *P. vicosanum*.** Adviser: Milene Faria Vieira.

Phenological studies in *Piper* species are scarce. These plants are an important component in tropical forests understory and have similar floral and fruit attributes between species of the genus. Due to these similarities, including the habitat, phenological informations are particularly relevant because they aid to understand the maintenance of taxonomic identity and the aspects of the reproductive mechanisms in each co-occurring species. The flowers of *Piper* exhibit an asynchronous sequence in development of four (2, 1, 1) or six (2, 1, 1, 2) stamens. Studies have shown that dichogamy is common in flowers this genus. However, there is not information about the longevity of stigmas and the mode of exposure of their receptive areas associated with the release of pollen grains. Our goals were to analyze and compare vegetative and reproductive phenophases of two co-occurring *Piper* species, *P. gaudichaudianum* and *P. vicosanum*, and the influence of abiotic factors in their phenological behavior. Also, describe the chronology of pollen release of four stamens of *P. vicosanum* flowers, associating it with period of stigma receptivity and exposure mode of their receptive areas. The study was carried out from September/2008 to August/2010 in a fragment of Atlantic Forest located in the municipality of Viçosa, Minas Gerais State, southeastern Brazil. Twenty individuals of *P. gaudichaudianum* and 24 of *P. vicosanum* were monitored in the following phenological events: emission of sprouts (aerial stem formed from rhizome), leaf flush, production of spikes, abortion of spikes, flowering (flowers in pre-anthesis and anthesis), fruiting, and dispersal of spikes with fruits. Data were collected weekly and analyzed by activity index and, or by intensity. Additionally, was verified seasonality of the phenophases and their correlation with environmental variables. In the study of floral biology were evaluated receptivity of stigmas, with Peroxtesmo KO[®], and viability of pollen grains, with acetic carmine. Field observations of periods of stigmatic receptivity and pollen release were made during 46 hours. Spikes were bagged to check the occurrence of spontaneous self-pollination. Aspects of floral biology were also analyzed with the aid of studies in light microscopy and scanning electron microscopy. For that, we applied the usual methods. With few exceptions, the

phenophases were seasonal and positively correlated with environmental variables: mean temperature, precipitation, and, mainly, day length. Most of sprouts emitted by *P. gaudichaudianum* remained latent. In *P. vicosanum*, the sprouts produced spikes and they flowered, increasing the total number of spikes. The leaf flush, of the both species, occurred throughout or nearly throughout the year, with synchronous peaks in rainy season (October and November). The spikes produced by *P. vicosanum*, throughout the year, remained latent for up to 12 months. In *P. gaudichaudianum* the spikes were produced in the rainy season, between October and December, and flowered shortly thereafter. In both species, the abortion of spikes was higher than 73%. The species showed peaks of flowering (anthesis), fruiting and dispersion of spikes with fruits also in rainy season (October to March), without overlap of these events between them. *Piper vicosanum* presents incomplete protogyny (pistillate phase lasted until the sixth day) and were observed 100% of fruit set, probably due to the bisexual phase of the flowers; so it is self-compatible. The receptivity of stigmas lasted until 14 days and the exposure and senescence of stigmatic papillae occurred in staggered way, in basipetal direction, new characteristics to the genus. In senescent papillae there was accumulation of phenolic compounds in the same direction. The pollen release was asynchronously, following the sequence 1, 1, 1, 1, differs from the sequence of stamens development and is here described for the first time. The process of releasing pollen lasted up to six days. In conclusion, the species have distinct reproductive strategies, with temporal isolation of the reproductive phenophases, which are regulated by similar environmental variables. The set of the functional morphology of *P. vicosanum* - protogynous flowers, long periods of stigma receptivity and pollen release, and a bisexual phase of the flowers - seems to be key events for its reproductive strategies in the study area.

SUMÁRIO

INTRODUÇÃO GERAL	1
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	2
CAPÍTULO 1 - Fenologia de duas espécies coocorrentes de <i>Piper</i> L. (Piperaceae) em floresta estacional semidecidual no sudeste do Brasil	4
RESUMO	4
ABSTRACT	5
INTRODUÇÃO	6
MATERIAL E MÉTODOS.....	7
Local de estudo	7
Espécies estudadas	8
Fenologias vegetativa e reprodutiva	8
RESULTADOS	10
Emissão de rebentos e brotação	10
Produção de espigas e espigas abortadas	10
Espigas com flores em pré-antese e em antese	11
Espigas em frutificação e com frutos dispersadas	12
Sazonalidade e correlação com variáveis ambientais	13
DISCUSSÃO	14
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	18
FIGURAS	22
TABELAS	29
CAPÍTULO 2 - Cronologia da deiscência das anteras e período de receptividade dos estigmas em <i>Piper vicosanum</i> Yunck. (Piperaceae): novos registros para o gênero	32
RESUMO	32
ABSTRACT	33

INTRODUÇÃO	34
MATERIAL E MÉTODOS	35
Espécie estudada e área de estudo	35
Biologia floral e testes de polinização	35
Microscopia de luz e eletrônica de varredura	36
RESULTADOS	37
DISCUSSÃO	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	42
FIGURAS	44
CONCLUSÕES GERAIS	49

INTRODUÇÃO GERAL

A fenologia estuda a ocorrência de eventos biológicos repetitivos (floração, frutificação, queda foliar e brotação) e sua relação com fatores abióticos (variações climáticas) e bióticos (herbívoros, dispersores e polinizadores); além disso, busca-se estabelecer a sazonalidade desses eventos (Lieth 1974). Os ciclos fenológicos de plantas tropicais são complexos e podem variar, mesmo sendo de uma espécie, se avaliados em ecossistemas diferentes (Newstrom *et al.* 1994). É possível que ocorra variação na floração e frutificação entre populações, entre indivíduos e entre anos (Bencke & Morellato 2002).

A biologia floral estuda os eventos relacionados com a vida da flor, desde a abertura até sua senescência; são exemplos, o período de receptividade do estigma e de liberação dos grãos de pólen e a produção de odor (Vieira *et al.* 2012). Analisando-se os dois primeiros eventos verifica-se a ocorrência da dicogamia (amadurecimento do androceu em época diferente do gineceu na flor) ou da adicogamia (amadurecimento síncrono dos órgãos sexuais na flor). Nesse contexto, a morfologia floral é uma ferramenta essencial se aliada à funcionalidade da flor. Dessa forma, geram-se subsídios para estudos dos sistemas reprodutivos das espécies.

A família Piperaceae é pantropical e possui pouco mais de 2.000 espécies distribuídas em seis gêneros (Judd *et al.* 2009). No Brasil, a família ocorre nos domínios da Amazônia, Caatinga, Cerrado e Floresta Atlântica. Possui quatro gêneros, *Manekia*, *Ottonia*, *Peperomia* e *Piper s.l.* (*Piper s.s.*+ *Pothomorphe*), e 450 espécies (Guimarães *et al.* 2012). Dessas, 307 são endêmicas (Guimarães *et al.* 2012) e 63 são consideradas raras (Oliveira *et al.* 2009). Na Floresta Atlântica já foram registradas 272 espécies (Guimarães *et al.* 2012).

Algumas espécies de Piperaceae apresentam importância medicinal (Di Stasi *et al.* 2002) e ornamental (Judd *et al.* 2009). A pimenta-do-reino (*Piper nigrum* L.) é o representante mais conhecido (Semple 1974). Os indivíduos dessa família comumente ocorrem em sub-bosques sombreados e, ou em locais abertos (borda e clareiras), em diferentes estádios sucessionais; algumas espécies são encontradas em áreas úmidas ou paludosas (Silva 2010).

Piper s.l. inclui mais de 1.000 espécies arbustivas, herbáceas ou trepadeiras e sua maior diversidade ocorre na região tropical das Américas (700 espécies) e no sudeste da Ásia (300) (Jaramillo & Manos 2001). É representado nas florestas brasileiras por 285 espécies, sendo 192 endêmicas do Brasil (Guimarães *et al.* 2012).

Na Estação de Pesquisa Treinamento e Educação Ambiental Mata do Paraíso (EPTEAMP), maior fragmento florestal de Viçosa e local do presente estudo, foram reconhecidos 18 táxons de Piperaceae, distribuídos em dois gêneros: *Ottonia* e *Piper s.l.*; esse último foi o mais representativo, com 17 espécies (Carvalho-Okano & Alves 1998). Dentre essas espécies, as mais abundantes, *Piper gaudichaudianum* Kunth e *P. vicosanum* Yunck. (Figura 1), são coocorrentes e habitam o sub-bosque e, por isso, foram selecionadas como objetos do presente estudo.



Figura 1: Espécies estudadas: *Piper gaudichaudianum* Kunth (foto da esquerda) e *P. vicosanum* Yunck. (foto da direita).

Diante do pouco conhecimento sobre aspectos reprodutivos de espécies de Piperaceae e de sua importância na composição do sub-bosque de florestas tropicais, foram objetivos: estudar a fenologia vegetativa e reprodutiva de duas espécies coocorrentes de *Piper s.l.*, *P. gaudichaudianum* e *P. vicosanum*, e analisar detalhadamente a biologia floral de *P. vicosanum*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Bencke, C.S.C. & Morellato, L.P.C. 2002. Comparação de dois métodos de avaliação da fenologia em plantas, sua interpretação e representação. **Revista Brasileira de Botânica** 25: 269-275.
- Carvalho-Okano, R.M. & Alves, S.A.M. 1998. Piperaceae C. Agardh da Estação Experimental Mata do Paraíso, Viçosa, MG. **Acta Botanica Brasílica** 12: 497-513.
- Di Stasi, L.C.; Hiruma-Lima, C.A.; Mariot, A.; Portilho, W.G. & Reis, M.S. 2002. Piperales medicinais. In: Di Stasi, L.C. & Hiruma-Lima, C.A. (eds). **Plantas medicinais na Amazônia e na Mata Atlântica**. 2 ed. Editora Unesp, São Paulo, p. 120-138.

- Guimarães, E.F.; Carvalho-Silva, M.; Monteiro, D. & Medeiros, E. 2012. Piperaceae. In: **Lista de espécies da flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB000190>>. Acesso em: 29 jan 2013.
- Jaramillo, M.A. & Manos, P.S. 2001. Phylogeny and patterns of floral diversity in the genus *Piper* (Piperaceae). **American Journal of Botany** 88: 706-716.
- Judd, W.S.; Campbell, C.S.; Kellogg, E.A., Stevens, P.F. & Donoghue, M.J. 2009. **Sistemática vegetal: um enfoque filogenético**. 3 ed. Artmed, Porto Alegre.
- Lieth, H. 1974. Introduction to phenology and the modeling of seasonality. Phenology and seasonality modeling. In: Lieth, H. (ed). **Ecological Studies** 8. Springer-Verlag, Berlin, p.3-19.
- Newstrom, L.E. ; Frankie, G.W. & Baker, H.G. 1994. A new classification for plant phenology based on flowering patterns in lowland tropical rain forest trees at La Selva, Costa Rica. **Biotropica** 26: 141-159.
- Oliveira, R.P.; Costa, M.F.; Dórea, M.C.; Ferreira, F.M. & Guimarães, E.F. 2009. Piperaceae. In: Giuliatti, A.M.; Rapini, A.; Andrade, M.J.G.; Queiroz, L.P. & Silva, J.M.C. (orgs). **Plantas raras do Brasil**. Conservação Internacional, Belo Horizonte, p. 317-323.
- Semple, K.S. 1974. Pollination in Piperaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden** 61: 868-871.
- Silva, A.V. 2010. **Piperaceae em Florestas Estacionais Semidecíduais: riqueza de espécies, hábitat e reprodução sexuada**. 33f. Monografia (Engenharia Florestal) – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa.
- Vieira, M.F.; Fonseca, R.S. & Araújo, L.M. 2012. Floração, polinização e sistemas reprodutivos em florestas tropicais. In: Martins, S.V. (ed). **Ecologia de florestas tropicais do Brasil**. 2 ed. Editora UFV, Viçosa, p. 53-83.

CAPÍTULO 1

Fenologia de duas espécies coocorrentes de *Piper* L. (Piperaceae) em floresta estacional semidecidual no sudeste do Brasil

RESUMO

Estudos fenológicos em espécies de *Piper* são escassos. Essas plantas são importantes componentes de sub-bosques de florestas tropicais e possuem flores e frutos morfológicamente semelhantes entre espécies do gênero. Devido às semelhanças de habitat e morfológicas, informações fenológicas são particularmente relevantes, pois auxiliam no entendimento da manutenção da identidade taxonômica de cada espécie coocorrente, incluindo aspectos dos seus mecanismos reprodutivos. Foram objetivos analisar e comparar as fenofases vegetativas e reprodutivas de duas espécies coocorrentes de *Piper* e verificar a influência de fatores abióticos nos seus comportamentos fenológicos. O estudo foi realizado de setembro/2008 a agosto/2010 em fragmento florestal, em Viçosa, Minas Gerais, sudeste brasileiro. Foram avaliados, em 20 indivíduos de *P. gaudichaudianum* e 24 de *P. vicosanum*, os seguintes eventos fenológicos: emissão de rebentos (caules emitidos a partir do solo), brotação, produção e aborto de espigas, espigas com flores em pré-antese, em antese, com frutos e espigas com frutos dispersadas. Os dados foram coletados semanalmente e analisados pelo índice de atividade e, ou pela intensidade. Adicionalmente, foi verificada a sazonalidade das fenofases e sua correlação com variáveis ambientais. As fenofases, com poucas exceções, foram sazonais e correlacionaram-se positivamente com as variáveis ambientais temperatura média, precipitação e, principalmente, comprimento do dia. A maioria dos rebentos emitidos por *P. gaudichaudianum* permaneceu latente. Em *P. vicosanum*, os rebentos produziram espigas que floresceram, aumentando o número total de espigas. A brotação, nas espécies, ocorreu durante todo ou quase todo o ano, com picos síncronos na estação chuvosa (outubro e novembro). As espigas produzidas por *P. vicosanum*, ao longo do ano, permaneceram latentes por até 12 meses. Em *P. gaudichaudianum*, as espigas foram produzidas na estação chuvosa, entre outubro e dezembro, e floresceram em seguida. Nas espécies, o aborto de espigas foi acima de 73%. Ambas apresentaram picos de floração (antese), frutificação e dispersão de espigas com frutos, também na estação chuvosa (de outubro a março), sem sobreposição desses eventos entre as espécies. Concluindo, as espécies possuem estratégias reprodutivas distintas, com separação temporal das fenofases reprodutivas, que são reguladas por variáveis ambientais semelhantes.

Palavras-chave: Rebentos, espigas latentes, sazonalidade.

Phenology of two co-occurring species of *Piper* L. (Piperaceae) in seasonal semideciduous forest in southeastern Brazil

ABSTRACT

Phenological studies in *Piper* species are scarce. These plants are an important component in tropical forests understory and have similar floral and fruit attributes between species of the genus. Due to these similarities, including the habitat, phenological informations are particularly relevant because they aid to understand the maintenance of taxonomic identity and the aspects of the reproductive mechanisms in each co-occurring species. Our goals were to analyze and compare vegetative and reproductive phenophases of two co-occurring *Piper* species and the influence of abiotic factors in their phenological behavior. The study was carried out from September/2008 to August/2010 in a forest fragment located in the municipality of Viçosa, Minas Gerais State, southeastern Brazil. Twenty individuals of *P. gaudichaudianum* and 24 of *P. vicosanum* were monitored in the following phenological events: emission of sprouts (aerial stem formed from rhizome), leaf flush, production of spikes, abortion of spikes, flowering (flowers in pre-anthesis and anthesis), fruiting, and dispersal of spikes with fruits. Data were collected weekly and analyzed by activity index and, or by intensity. Additionally, was verified seasonality of the phenophases and their correlation with environmental variables. With few exceptions, the phenophases were seasonal and positively correlated with environmental variables: mean temperature, precipitation, and, mainly, day length. Most of sprouts emitted by *P. gaudichaudianum* remained latent. In *P. vicosanum*, the sprouts produced spikes and they flowered, increasing the total number of spikes. The leaf flush, of the both species, occurred throughout or nearly throughout the year, with synchronous peaks in rainy season (October and November). The spikes produced by *P. vicosanum*, throughout the year, remained latent for up to 12 months. In *P. gaudichaudianum* the spikes were produced in the rainy season, between October and December, and flowered shortly thereafter. In both species, the abortion of spikes was higher than 73%. The species showed peaks of flowering (anthesis), fruiting and dispersion of spikes with fruits also in rainy season (October to March), without overlap of these events between them. In conclusion, the species have distinct reproductive strategies, with temporal isolation of the reproductive phenophases, which are regulated by similar environmental variables.

Key words: Latent spikes, seasonality, sprouts.

INTRODUÇÃO

Em florestas tropicais sazonais, as fenofases vegetativas e reprodutivas das espécies que as compõem são influenciadas pelas variações, por exemplo, de precipitação e temperatura (Singh & Singh 1992, Wright & van Schaik 1994, Stevenson *et al.* 2008, Rubim *et al.* 2010). A brotação tende a aumentar quando há maior disponibilidade hídrica (Wright 1991, Aide 1993), os picos de floração geralmente ocorrem no fim da estação seca ou no começo da chuvosa e os de frutificação (frutos maduros), na estação seca (Daubenmire 1972, Morellato *et al.* 1989). A sazonalidade das fenofases é uma característica marcante nessas florestas (Daubenmire 1972, Morellato *et al.* 1989, Morellato & Leitão-Filho 1996, Stranghetti & Ranga 1997, Thies & Kalko 2004).

A ocorrência síncrona de eventos fenológicos em indivíduos de uma mesma espécie parece ser vantajosa. A sincronização pode ser uma estratégia para atrair polinizadores, favorecendo a polinização cruzada e, conseqüentemente, aumentando o fluxo gênico, ou para evitar predadores de sementes e herbívoros (Opler *et al.* 1976, Augspurger 1981, Aide 1993, van Scaik *et al.* 1993). Em espécies pertencentes a uma mesma família, por outro lado, são esperados padrões fenológicos similares devido às restrições filogenéticas (Wright & Calderon 1995, Bawa *et al.* 2003). Entretanto, quando as espécies são coocorrentes, pressões seletivas tendem a atuar de modo a evitar a competição entre elas (Fleming 1985), por polinizadores (Thomson 1980) e, ou por dispersores (Snow 1965).

A coocorrência de representantes de Piperaceae em florestas tropicais é comum. Hartshorn & Hammel (1994) observaram na Estação Biológica La Selva, Costa Rica, mais de 60 espécies, com predomínio de indivíduos de *Piper* L. Na Mata do Paraíso, em Minas Gerais, sudeste brasileiro e área do presente estudo, foram registradas 17 espécies de *Piper s.l.* (Carvalho-Okano & Alves 1998). Entretanto, em consulta ao acervo do Herbário VIC, foram encontradas outras duas espécies de *Piper s.l.* coletadas na Mata do Paraíso; logo, existem 19 espécies nesse local (obs. pess.). Esse gênero engloba cerca de 1.000 espécies arbustivas, herbáceas ou trepadeiras e sua maior diversidade ocorre na região tropical das Américas (700 espécies) e no sudeste da Ásia (300) (Jaramillo & Manos 2001). É representado nas florestas brasileiras por 285 espécies, 192 delas endêmicas do Brasil (Guimarães *et al.* 2012).

Estudos fenológicos em *Piper* são escassos e poucos abordaram fenofases vegetativas (Opler *et al.* 1980, Marquis 1988, Angulo-Sandoval & Aide 2000, Thies &

Kalko 2004). Dentre os que abordaram a fenologia reprodutiva (Opler *et al.* 1980, Fleming 1985, Marquis 1988, Mariot *et al.* 2003, Figueiredo & Sazima 2004, Thies & Kalko 2004), um avaliou apenas a floração (Figueiredo & Sazima 2000) e outro a frutificação (Marinho-Filho 1991). Esses estudos demonstraram que espécies de *Piper* apresentam uma diversidade de padrões fenológicos. Entretanto, houve a tendência da brotação ocorrer ao longo do ano, da floração ocorrer na estação chuvosa ou na seca e da frutificação (frutos maduros) ocorrer na estação chuvosa.

Foram objetivos analisar e comparar fenofases vegetativas e reprodutivas de duas espécies coocorrentes de *Piper*, *P. gaudichaudianum* e *P. vicosanum*, e verificar a influência de fatores abióticos (temperatura, precipitação e comprimento do dia) nas suas fenofases. Buscou-se responder as seguintes questões: 1) As espécies apresentam sobreposição nos períodos de brotação, floração (antese) e frutificação? 2) As fenofases são sazonais? 3) Qual a magnitude da correlação entre as variáveis ambientais e o comportamento fenológico das espécies?

MATERIAL E MÉTODOS

Local de estudo

O estudo foi realizado de setembro de 2008 a agosto de 2009 (primeiro ano de observações) e de setembro de 2009 a agosto de 2010 (segundo ano) no fragmento florestal Estação de Pesquisa, Treinamento e Educação Ambiental Mata do Paraíso (daqui em diante, Mata do Paraíso). A Mata do Paraíso localiza-se no município de Viçosa (20°49' e 20°50'S; 42°51' e 42°49'O), Zona da Mata de Minas Gerais, sudeste do Brasil, e possui 194 ha, com altitudes variando entre 690 e 870 m. É o maior fragmento florestal de Viçosa e sua vegetação pertence à formação Floresta Estacional Semidecidual Montana (Veloso *et al.* 1991), situada dentro dos limites da Floresta Atlântica *sensu lato* (Oliveira-Filho & Fontes 2000). No passado sofreu desmatamentos com vistas ao cultivo de café e, a partir de 1966, quando passou para a responsabilidade da Universidade Federal de Viçosa (UFV), cessou-se a retirada de madeira (Ribon 2005).

O clima de Viçosa é do tipo Cwb (mesotérmico com verões quentes e chuvosos e invernos frios e secos), segundo a classificação de Köppen. De acordo com a última normal climatológica (1961 a 1990), a estação seca concentra-se entre os meses de abril a setembro, com menos de 60 mm de chuva por mês e temperaturas variando de 10,1 a 26,6 °C; a estação chuvosa inicia-se em outubro e estende-se até março, apresentando

pluviosidade maior que 100 mm mensais e temperaturas entre 15,8 e 30 °C. Ao longo do período de observações, a precipitação foi maior no primeiro ano (1771 mm, setembro/2008 a agosto/2009) e menor no segundo (1103 mm, setembro/2009 a agosto/2010), em relação à média de 30 anos (1221 mm); outubro de 2008 e janeiro e fevereiro de 2010 foram atípicos, com menos de 60 mm de chuva. A temperatura, em geral, foi maior do que os valores da normal climatológica e variou de 12,6 a 29,3 °C e de 9,9 a 31,5 °C, respectivamente, no primeiro e segundo anos de observações.

Espécies estudadas

Dentre as espécies ocorrentes na Mata do Paraíso (Carvalho-Okano & Alves 1998), foram selecionadas as duas mais comumente observadas: *Piper gaudichaudianum* Kunth e *P. vicosanum* Yunck. Material testemunho foi coletado e depositado no acervo do Herbário VIC do Departamento de Biologia Vegetal da UFV (VIC 35.606 e 35.609).

Piper gaudichaudianum é arbusto com até 3 m de altura; apresenta o ramo, a folha e o pedúnculo pilosos; a lâmina foliar é ovado-elíptica com base assimétrica, sendo um lado agudo, oblíquo, e o outro obtuso, e o ápice acuminado; a espiga tem 8-10 cm de comprimento e é comumente curvada (Carvalho-Okano & Alves 1998).

Piper vicosanum é arbusto com 1-3 m de altura; o ramo, a folha e o pedúnculo são glabros; a lâmina foliar é elíptica com base sub-simétrica, subcuneada, e o ápice é acuminado; a espiga tem 2,5-4,5 cm e é ereta. Foi coletada pela primeira vez em Viçosa por Y. Mexia, em 1930. No Herbário VIC encontram-se depositados o isótipo e parátipo dessa espécie (Carvalho-Okano & Alves 1998).

Nessas espécies as flores são aclamídeas, hermafroditas, sésseis e protegidas pela bractéola durante a pré-antese; o androceu é constituído por quatro estames; o gineceu possui ovário súpero com três estigmas sésseis, unilocular, uniovular e placentação basal; o fruto é drupáceo (Yuncker 1972).

Os indivíduos de ambas as espécies tendem a apresentar-se em touceiras, ou seja, agrupamentos de caules proximamente emitidos a partir do solo (rebentos), que caracteriza a produção de clones e propagação assexuada.

Fenologias vegetativa e reprodutiva

Foram selecionados 20 indivíduos de *P. gaudichaudianum* e 24 de *P. vicosanum*. Adotou-se como critério de seleção de indivíduos adultos, a altura mínima de 1 m, de acordo com as recomendações de Fleming (1985). Entre indivíduos da

mesma espécie, foi mantida a distância mínima de 3 m para se evitar o uso de clones. Foi considerado como um mesmo indivíduo todos os caules que estavam dentro de uma circunferência de 15 cm de raio.

Para a avaliação da fenologia vegetativa, observou-se semanalmente a emissão de rebentos por indivíduo e a presença de brotação, durante os dois anos de estudo. Foi considerada como brotação, folha emitida com lâmina foliar não expandida e coloração verde-clara; as folhas com lâmina foliar expandida são verde-escuras.

Para a avaliação da fenologia reprodutiva, foi anotada a presença ou a ausência de espigas com flores (em pré-antese ou em antese) e com frutos (imaturos e maduros) por indivíduo durante o primeiro ano de observações. No segundo ano, foram contados os números de espigas com flores e com frutos por indivíduo. Do total de espigas produzidas, foram contadas as espigas abortadas (com flores em pré-antese e, ou em antese) e as espigas com frutos dispersadas.

Os padrões das fenofases vegetativa (brotação) e reprodutivas foram classificados *sensu* Newstrom *et al.* (1994). Foi calculado o índice de atividade (porcentagem de indivíduos numa dada fenofase; Bencke & Morellato 2002a), considerando-se os resultados dos dois anos de estudo. Para tanto, os dados coletados no segundo ano foram convertidos em presença ou ausência. Os eventos fenológicos foram classificados, de acordo com Bencke & Morellato (2002b), em: assíncrono (< 20% dos indivíduos, para uma dada fenofase), pouco síncrono (20-60%) e altamente síncrono (> 60% dos indivíduos).

A intensidade das fenofases reprodutivas (*sensu* d'Eça-Neves & Morellato 2004) foi calculada utilizando-se a média dos valores semanais de cada mês do número de espigas com flores em pré-antese e com frutos. A intensidade dos eventos espigas produzidas, abortadas, com flores em antese e com frutos dispersadas foi calculada utilizando-se a soma dos valores semanais.

Adicionalmente, foram coletadas 72 espigas (54 de *P. vicosanum* e 18 de *P. gaudichaudianum*) com frutos maduros, em outros indivíduos, para calcular o número médio de sementes produzidas por espiga.

A sazonalidade das fenofases foi avaliada por meio de estatística circular, utilizando o teste de Rayleigh (Zar 1999). Também foi feita a correlação de Spearman (Zar 1999) com variáveis ambientais (temperatura média, precipitação e comprimento do dia), avaliando a correlação dessas variáveis com as fenofases de zero a seis meses antes de sua ocorrência. Para tanto, os dados meteorológicos foram obtidos na Estação Meteorológica da UFV. Foi calculada a média dos valores semanais de temperatura

média e comprimento do dia e a soma dos valores semanais de precipitação. Essas análises foram feitas no BioEstat v. 5.0 (Ayres *et al.* 2007), utilizando os valores semanais do índice de atividade (apenas do segundo ano de observações) e dos números de espigas produzidas, abortadas, com flores em pré-antese, com flores em antese e com frutos (imaturos e maduros).

RESULTADOS

Emissão de rebentos e brotação

No início das observações, em setembro/2008, 16 indivíduos de *P. vicosanum* e três de *P. gaudichaudianum* possuíam rebentos, variando entre um a quatro e de um a dois rebentos por indivíduo, respectivamente. A partir dessa data, a emissão de outros rebentos (um ou, raramente, dois) foi observada em nove indivíduos de cada espécie (37,5% dos indivíduos de *P. vicosanum* e 45% de *P. gaudichaudianum*), durante os dois anos de estudo. A produção de rebentos predominou (66,7%) na estação chuvosa em indivíduos de *P. vicosanum*; em *P. gaudichaudianum* houve pouca diferença entre as estações (55,6% na chuvosa e 44,4% na seca). Alguns desses rebentos tornaram-se reprodutivos durante o período de estudo: 16 em *P. vicosanum*, que corresponde a 45,7% do total de rebentos, e um em *P. gaudichaudianum*, que corresponde a 7,1%.

A brotação em *Piper vicosanum* ocorreu principalmente durante a estação chuvosa, com picos em outubro e novembro/2008 e 2009, ocasião com mais de 75% dos indivíduos nessa fenofase, caracterizando-a como altamente síncrona; na seca não houve brotação, especialmente entre junho e agosto (Figura 1). Em *P. gaudichaudianum*, a brotação ocorreu durante todo o ano, com picos em sobreposição com *P. vicosanum*, ocasião com mais de 90% dos indivíduos nessa fenofase, também altamente síncrona (Figura 1). Nos demais meses, a brotação foi pouco síncrona (variou de 28,8 a 46,3%). Os padrões de brotação das espécies foram, portanto, anual estendido em *P. vicosanum* e contínuo em *P. gaudichaudianum*.

Produção de espigas e espigas abortadas

O número de indivíduos que se reproduziram variou entre os anos de estudo. Dos 24 indivíduos selecionados de *P. vicosanum*, 23 produziram espigas no primeiro ano e 22 no segundo. Dos 20 indivíduos de *P. gaudichaudianum*, apenas 11 e oito produziram espigas em cada ano.

Piper vicosanum produziu espigas durante todo o ano, mas com o pico na estação chuvosa, em dezembro/2009, ocasião com 53,1% dos indivíduos nessa fenofase (Figura 2A), caracterizando-a como pouco síncrona. Em *P. gaudichaudianum*, a produção de espigas ocorreu na estação chuvosa, com pico (média de 21,3% dos indivíduos) entre outubro e novembro/2009 (Figura 2A); o evento também foi pouco síncrono. Os padrões de produção de espigas das espécies foram, portanto, contínuo em *P. vicosanum* e anual intermediário em *P. gaudichaudianum*.

Piper vicosanum apresentou o pico de intensidade sobreposto com o de atividade, com 121 espigas, assim como *P. gaudichaudianum*, com 134 espigas (Figura 2B). Essas espécies produziram, no total, 474 e 231 espigas, respectivamente. Apesar do menor número total de espigas produzidas por *P. gaudichaudianum*, essa espécie apresentou maior número de espigas por indivíduo; em média, 28,9 contra 21,5 em *P. vicosanum*.

O aborto de espigas ocorreu ao longo do ano em *P. vicosanum* e apresentou pico (42,7% dos indivíduos) em março/2010 (Figura 3A), no final da estação chuvosa e três meses após o pico de produção de espigas (Figura 2A). O aborto de espigas em *P. gaudichaudianum* ocorreu durante a estação chuvosa, com pico entre dezembro/2009 e janeiro/2010 (média de 12,9% dos indivíduos, Figura 3A), período seguinte ao pico de produção de espigas (outubro e novembro/2009, Figura 2A). Esse evento foi pouco síncrono em *P. vicosanum* e assíncrono em *P. gaudichaudianum*.

Os picos de intensidade se sobrepuseram com os de atividade em ambas as espécies (Figuras 3A, B). Nos picos, 98 e 109 espigas foram abortadas em *P. vicosanum* e *P. gaudichaudianum*, respectivamente. Nessas espécies, foram observados, respectivamente, os totais de 350 e 196 espigas abortadas, que correspondem a 73,8 e 84,8% do total de espigas produzidas.

Espigas com flores em pré-antese e em antese

Piper vicosanum apresentou espigas com flores em pré-antese durante todo o período de observações (mais de 70% dos indivíduos), com pequena redução em outubro/2009, caracterizando essa fenofase como altamente síncrona (Figura 4A). Essas espigas permaneceram latentes por até 12 meses e apresentavam cerca de 0,5 cm de comprimento. Nessa espécie, o número médio de espigas com flores em pré-antese (intensidade) foi alto na maioria dos meses; em média, 188,4 espigas (Figuras 4B). Houve redução em outubro e novembro/2009 (média de 110,9 espigas), período semelhante ao da redução do índice de atividade.

Em *P. gaudichaudianum*, flores em pré-antese foram observados durante a estação chuvosa, com picos entre novembro e dezembro/2008 e 2009 (30 a 40% dos indivíduos, Figura 4A); foi um evento pouco síncrono. Houve sobreposição dos picos de intensidade e de atividade (Figuras 4A, B). No pico de intensidade foram contadas, em média, 173,5 espigas com flores em pré-antese. Os padrões da fenofase flor em pré-antese das espécies foram, portanto, contínuo e anual intermediário, para *P. vicosanum* e *P. gaudichaudianum*, respectivamente.

Espigas com flores em antese foram observadas em *P. vicosanum* na estação chuvosa, em outubro/2008 e 2009 (Figura 5A), durante duas semanas por ano de estudo. Essa fenofase foi pouco síncrona no primeiro ano (23,3% dos indivíduos) e assíncrona no segundo (18,3%). Houve sobreposição do pico de intensidade com o de atividade (Figuras 5A, B), ocasião em que 141 espigas possuíam flores em antese (média de 6,4 espigas por indivíduo). Apenas quatro indivíduos apresentaram espigas com flores em antese fora desse período (16,7% deles).

A antese em *P. gaudichaudianum* também ocorreu na estação chuvosa, em meses (de dezembro a fevereiro) posteriores à floração de *P. vicosanum* (Figura 5A). Os picos ocorreram em janeiro/2009 e 2010. Foi um evento pouco síncrono (média de 20,5% dos indivíduos, Figura 5A). Essa espécie apresentou 179 espigas com flores em antese (média de 22,4 espigas por indivíduo) e o pico de intensidade ocorreu em janeiro/2010, mesma época do pico de atividade (Figuras 5A, B), com 121 espigas.

A antese apresentou padrão anual nas duas espécies, sendo curto em *P. vicosanum* e intermediário em *P. gaudichaudianum*. Nelas houve redução do número de espigas com flores em antese em relação ao número médio de espigas com flores em pré-antese (Figuras 4B, 5B). Essa redução foi devida ao aborto de espigas.

Espigas em frutificação e com frutos dispersadas

As espigas que não foram abortadas resultaram em frutificação. Em *P. vicosanum*, a frutificação ocorreu principalmente na estação chuvosa, com picos em novembro/2008 e 2009, ocasião com mais de 70% dos indivíduos nessa fenofase (Figura 6A), caracterizando-a como altamente síncrona. Poucos frutos foram observados durante a estação seca, devido à floração esporádica em alguns indivíduos (veja Figura 5A). Em *P. gaudichaudianum*, a frutificação se estendeu da estação chuvosa até o início da seca, com pouca sobreposição com a frutificação de *P. vicosanum*. Os picos ocorreram entre fevereiro e abril/2009 (média de 13,8% dos indivíduos, Figura 6A) e entre janeiro e março/2010 (média de 26,4% dos indivíduos,

Figura 6A). Nessa espécie, a frutificação foi assíncrona no primeiro ano e pouco síncrona no segundo. Ambas as espécies apresentaram padrão anual intermediário de frutificação.

Os picos de intensidade se sobrepuseram com os de atividade (Figuras 6A, B), com 108,3 espigas com frutos, em média, em *P. vicosanum* e 22,8 em *P. gaudichaudianum*. Em ambas as espécies houve redução do número médio de espigas com frutos em relação ao número de espigas com flores em antese (Figuras 5B, 6B), também causada pelo aborto de espigas.

A dispersão dos frutos foi observada em período semelhante ao de frutificação em ambas as espécies (Figuras 6, 7A). O pico ocorreu em novembro/2009 em 22,9% dos indivíduos de *P. vicosanum*; *P. gaudichaudianum* não teve um pico definido. *Piper vicosanum* dispersou 164 espigas com frutos, sendo 118 em novembro/2009, mês do pico de intensidade; *P. gaudichaudianum*, 35 espigas com frutos, 15 em abril/2010 (Figura 7B). O número médio de espigas com frutos dispersadas por indivíduo foi 7,5 em *P. vicosanum* e 4,4 em *P. gaudichaudianum*. Essas espécies apresentaram, em média, 292,8 (amplitude de 97 a 452) e 1.167,7 (amplitude de 577 a 1.948) sementes por espiga, respectivamente. Portanto, os indivíduos de *P. vicosanum* dispersaram 2.196 sementes e os de *P. gaudichaudianum*, 5.137,9.

Sazonalidade e correlação com variáveis ambientais

As fenofases foram sazonais, excetuando-se os eventos espigas abortadas e em pré-antese em *P. vicosanum* e brotação em *P. gaudichaudianum* (Tabela 1). A data média para a intensidade antecedeu a do índice de atividade. Os valores de r foram maiores para a intensidade se comparados aos do índice de atividade em todas as fenofases; a intensidade das fenofases foi mais concentrada e síncrona em torno da data média que a atividade. Os maiores valores de r em *P. gaudichaudianum* demonstraram que as suas fenofases foram mais concentradas e síncronas em torno da data média do que as de *P. vicosanum*.

A maioria das fenofases foi influenciada pelas três variáveis ambientais em ambas as espécies, exceto antese e número de espigas em pré-antese em *P. vicosanum* e brotação em *P. gaudichaudianum* (Tabela 2). Além disso, a antese em *P. vicosanum* foi influenciada apenas pela precipitação. Os valores de r foram semelhantes entre índice de atividade e intensidade. Comprimento do dia foi a variável que apresentou maior magnitude (maior valor de r) na correlação com os eventos fenológicos, exceto para

antese, número de espigas em pré-antese e com frutos em *P. vicosanum*. O gatilho das fenofases variou de zero a cinco meses.

DISCUSSÃO

A produção de rebentos pelas espécies estudadas é uma estratégia reprodutiva vegetativa e foi registrada em várias outras espécies de *Piper* (Gartner 1989, Greig 1993, Lasso *et al.* 2009). Essa estratégia contribui para a manutenção de suas populações e, segundo Lasso *et al.* (2012), a redução da diversidade genética causada pela reprodução assexuada não ameaça a habilidade das espécies de responderem às variações ambientais. A reprodução vegetativa mais comum em *Piper* é a do tipo "reposição de caule" *sensu* Greig (1993). Esse tipo caracteriza-se pela emissão de rebentos a partir da base da planta original, que frequentemente ocorre após danos no caule principal.

Algumas espécies de *Piper* produzem vários rebentos, tal como observado em *P. vicosanum*, mas outras possuem apenas um caule, que é substituído ao ser danificado (Greig 1993). Em *P. gaudichaudianum*, a maioria dos rebentos emitidos, tanto na estação chuvosa como na seca, permaneceu latente. Nesse caso, os rebentos tendem a se desenvolver após a danificação de um dos caules, resultando na "reposição de caule". Em *P. vicosanum*, por outro lado, a produção de rebentos não caracteriza apenas uma reposição de caules, considerando que mais da metade deles (66,7%) foi emitida na estação chuvosa, período de pico da floração, e produziu espigas (45,7% do total de rebentos). Nesse caso, os rebentos parecem também estar relacionados à reprodução sexuada, aumentando o número de espigas produzidas pelos indivíduos.

A brotação durante todo ou quase todo o ano, nas espécies estudadas, assemelhou-se ao comumente registrado em espécies de *Piper* (Opler *et al.* 1980, Marquis 1988, Angulo-Sandoval & Aide 2000, Thies & Kalko 2004). Picos de brotação na estação chuvosa, como observado, têm sido interpretados como uma "fuga" à herbivoria. Segundo Aide (1993), nessa estação, os níveis de herbivoria são menores por causa da maior disponibilidade de alimentos. Confirmando esse autor, foi verificado menor dano por herbívoros às folhas de *Piper glabrescens* (Miq.) C. DC. no seu pico de brotação, na estação chuvosa, se comparado aos danos verificados em outros períodos (Angulo-Sandoval & Aide 2000). Estudos posteriores poderão confirmar se os graus de intensidade de herbivoria nas espécies estudadas seguem os observados em *P. glabrescens*.

Picos de brotação em alta sincronia, nas populações analisadas, parecem favorecer picos de produção de espigas, que é dependente da produção de folhas (Marquis 1988). De fato, os picos de produção de espigas ocorreram concomitantemente (em *P. gaudichaudianum*) ou em meses subsequentes (em *P. vicosanum*) aos de brotação. A redução da atividade de brotação durante a estação seca, em ambas as espécies, deve estar relacionada com as variáveis ambientais devido à correlação positiva com essa fenofase. Wright (1991) verificou que a ocorrência de estresse hídrico durante essa estação influencia nos períodos de brotação e produção de espigas em três espécies de *Piper*, podendo atrasá-los. Esse autor, entretanto, não analisou a relação dessas fenofases com a temperatura e o comprimento do dia.

A ausência de espigas em nove indivíduos de *P. gaudichaudianum*, dentre os 20 monitorados, demonstrou que plantas juvenis foram incluídas na amostragem. O critério utilizado (altura \geq 1m), sugerido por Fleming (1985), adequou-se melhor para *P. vicosanum*; apenas um indivíduo, dentre os 24, não produziu espigas. Em estudos fenológicos de espécies arbóreas é comum o uso de um valor de diâmetro mínimo como critério de inclusão para garantir que os indivíduos estejam em fase reprodutiva (d'Eça-Neves & Morellato 2004). Porém, para espécies arbustivas não existe um padrão semelhante. Uma possível solução, aqui sugerida para espécies de *Piper*, é, além do critério proposto por Fleming (1985), selecionar indivíduos que apresentem cicatrizes de espigas de episódios reprodutivos anteriores. As cicatrizes localizam-se nos nós, em posição oposta ao local de inserção da folha.

A produção contínua de espigas em *P. vicosanum* e sua latência por até 12 meses também foi verificada em *Piper arieianum* C. DC. (Marquis 1988) e *P. cernuum* Vell. (Mariot *et al.* 2003). Esse comportamento fenológico explica a alta sincronia da fenofase flor em pré-antese dessa espécie, diferentemente do observado em *P. gaudichaudianum*.

Nas espécies estudadas, a alta produção de espigas seguida pela alta porcentagem de aborto mostrou que existe um superávit de espigas produzidas, provavelmente ampliando a função masculina (doação de pólen) em relação à feminina (produção de semente), conforme salientou Stephenson (1981). Segundo esse autor, plantas com superávit de flores hermafroditas sofrem pressão seletiva que leva a uma mudança na expressão sexual, do hermafroditismo para a andromonoiccia, intensificando a função masculina. De fato, espigas funcionalmente estaminadas foram verificadas em *P. gaudichaudianum* (obs. pess.), além das funcionalmente hermafroditas. Nas estaminadas, foram observados pistilos reduzidos e não-funcionais (= pistilódios), além

dos estames. Essas espigas são abortadas após liberarem o pólen, já que não frutificam, e talvez explique a maior porcentagem de espigas abortadas por essa espécie em relação à de *P. vicosanum*. A andromonoiccia é aqui citada pela primeira vez em *P. gaudichaudianum* e foi também verificada em *Piper arboreum* Aubl. (Figueiredo & Sazima 2000).

As fenofases floração (antese) e frutificação, das espécies estudadas, foram semelhantes, ou seja, os picos ocorreram na estação chuvosa, caracterizando-as como sazonais. Adicionalmente, correlacionaram-se positivamente com a precipitação e a temperatura média, que são variáveis ambientais importantes devido à sazonalidade climática existente em florestas tropicais (Wright & van Schaik 1994, Stevenson *et al.* 2008, Rubim *et al.* 2010). Entretanto, o comprimento do dia, que não é uma variável estocástica, foi o melhor preditor dos eventos fenológicos entre as variáveis ambientais, semelhante ao observado por Stevenson *et al.* (2008) e Rubim *et al.* (2010). Segundo esses autores, o comprimento do dia pode atuar como um gatilho da floração e correlacionou-se com o número de espécies em floração e frutificação; houve mais espécies florescendo durante os dias mais longos e frutificando durante os dias mais curtos.

A floração anual, em ambas as espécies, confirma o padrão mais comum em *Piper* (Opler *et al.* 1980, Fleming 1985, Figueiredo & Sazima 2004, Thies & Kalko 2004). A floração anual intermediária e pouco síncrona, como registrado em *P. gaudichaudianum*, resulta na disponibilidade de recursos florais (pólen) aos polinizadores por um período mais longo (três meses). Essa característica reprodutiva pode favorecer a polinização e, conseqüentemente, a frutificação dessa espécie, tal como verificado em *Dipteryx alata* Vogel (Fabaceae; Oliveira & Sigrist 2008) e *Senna cana* (Nees & Mart.) H.S. Irwin & Barneby (Fabaceae; Souza *et al.* 2012). A floração pouco síncrona ou assíncrona em *P. vicosanum* foi inesperada, considerando que a antese restringiu-se ao mês de outubro. Esses resultados devem ser consequência do método adotado (índice de atividade; Bencke & Morellato 2002b), com coleta semanal e análise mensal dos dados. Adicionalmente, o padrão anual curto encontrado para essa espécie mostra a importância de coletas em intervalos inferiores, semanais ou quinzenais, para uma correta padronização da floração. Mariot *et al.* (2003) utilizaram intervalos mensais no estudo fenológico de *Piper cernuum* e não conseguiram registrar as fenofases floração (antese) e frutificação (fruto maduro), pois elas ocorreram em intervalos inferiores aos adotados.

A ausência de sobreposição da floração, entre as espécies estudadas, caracteriza um isolamento reprodutivo sazonal *sensu* Stace (1989) e foi também observada por Fleming (1985), em estudo realizado com espécies de *Piper* na Costa Rica. As florações, entretanto, foram sequenciais, iniciando-se com *P. vicosanum*. Eventos reprodutivos escalonados devem fazer parte dos mecanismos de polinização dessas plantas, ainda desconhecidos. Essa suposição origina-se das semelhanças morfológicas de suas flores, organizadas em espigas. Em florestas tropicais, florações escalonadas de espécies congêneres coocorrentes têm sido consideradas uma estratégia reprodutiva para atrair polinizadores em comum, sem competição interespecífica (Thomson 1980, Fleming 1985, Araújo *et al.* 1994).

O padrão anual de frutificação, observado em ambas as espécies, é o mais comum em *Piper* (Opler *et al.* 1980, Fleming 1985, Marinho-Filho 1991, Thies & Kalko 2004). A ausência de sobreposição das frutificações foi observada também por Fleming (1985), Marinho-Filho (1991) e Thies & Kalko (2004), em outras espécies coocorrentes desse gênero. Períodos sequenciais de frutificação estão relacionados ao suprimento de frutos ao longo do ano, que contribui na manutenção da população de dispersores frugívoros (Snow 1965, Thies & Kalko 2004), principalmente morcegos para as espécies de *Piper* (Palmeirim *et al.* 1989, Marinho-Filho 1991, Fleming 2004, Mello *et al.* 2004). A separação temporal de disponibilidade de frutos diminui a sobreposição de nichos e, conseqüentemente, a competição por dispersores e sítios germinativos (Fleming 1985, Thies & Kalko 2004).

O número de espigas com frutos dispersadas por *P. gaudichaudianum*, cerca de 4,7 vezes menor que o de *P. vicosanum*, não refletiu em menor número de sementes dispersadas. Essa constatação é resultante do maior número de sementes produzidas por espiga pela primeira espécie (cerca de 4 vezes mais) se comparada à produzida pela segunda. Em *P. gaudichaudianum*, o menor número de espigas com frutos dispersadas e maior número de espigas abortadas (descrito anteriormente) parecem ser fatores compensados pela maior quantidade de sementes produzidas por espiga. Estudos posteriores sobre o estabelecimento de plântulas e dinâmica populacional poderão elucidar esses aspectos da estratégia reprodutiva de cada espécie.

Concluindo, as espécies apresentam fenofases reprodutivas semelhantes, ou seja, ambas são sazonais. Essa semelhança deve-se, provavelmente, aos aspectos filogenéticos e pressões seletivas do ambiente. Entretanto, a coocorrência pode ser um fator importante que levou à separação temporal dos períodos de floração e frutificação.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Aide, T.M. 1993. Patterns of leaf development and herbivory in a tropical understory community. **Ecology**, 74: 455-466.
- Angulo-Sandoval, P. & Aide, T.M. 2000. Leaf phenology and leaf damage of saplings in the Luquillo Experimental Forest, Puerto Rico. **Biotropica**, 32: 415-422.
- Araújo, A.C.; Fischer, E.A. & Sazima, M. 1994. Floração seqüencial e polinização de três espécies de *Vriesea* (Bromeliaceae) na região da Juréia, sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, 17: 113-118.
- Augsburger, C.K. 1981. Reproductive synchrony of a tropical shrub: experimental studies on effects of pollinators and seed predators on *Hybanthus prunifolius* (Violaceae). **Ecology**, 32: 775-788.
- Ayres, M.; Ayres Júnior, M.; Ayres, D.L. & Santos, A.A. 2007. **BioEstat – aplicações estatísticas nas áreas das ciências biomédicas**. Ong Mamiraua, Belém.
- Bawa, K.S.; Kang, H. & Grayum, M.H. 2003. Relationships among time, frequency, and duration of flowering in tropical rain forest trees. **American Journal of Botany**, 90: 877-887.
- Bencke, C.S.C. & Morellato, L.P.C. 2002a. Comparação de dois métodos de avaliação da fenologia em plantas, sua interpretação e representação. **Revista Brasileira de Botânica**, 25: 269-275.
- Bencke, C.S.C. & Morellato, L.P.C. 2002b. Estudo comparativo da fenologia de nove espécies arbóreas em três tipos de floresta atlântica no sudeste do Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, 25: 237-248.
- Carvalho-Okano, R.M. & Alves, S.A.M. 1998. Piperaceae C. Agardh da Estação Experimental Mata do Paraíso, Viçosa, MG. **Acta Botanica Brasilica**, 12: 497-513.
- Daubenmire, R. 1972. Phenology and other characteristics of tropical semi-deciduous forest in north-western Costa Rica. **Journal of Ecology**, 60: 147-170.
- d'Eça-Neves, F.F. & Morellato, L.P.C. 2004. Métodos de amostragem e avaliação utilizados em estudos fenológicos de florestas tropicais. **Acta Botanica Brasilica**, 18: 99-108.
- Figueiredo, R.A. & Sazima, M. 2000. Pollination biology of Piperaceae species in southeastern Brazil. **Annals of Botany**, 85: 455-460.
- Figueiredo, R.A. & Sazima, M. 2004. Pollination ecology and resource partitioning in neotropical *Pipers*. In: Dyer, L.A. & Palmer, A.D.N. (eds). **Piper: a model genus**

- for studies of phytochemistry, ecology, and evolution.** Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, p. 33-57.
- Fleming, T.H. 1985. Coexistence of five sympatric *Piper* (Piperaceae) species in a tropical dry forest. **Ecology**, 66: 688-700.
- Fleming, T.H. 2004. Dispersal ecology of neotropical *Piper* shrubs and treelets. In: Dyer, L.A. & Palmer, A.D.N. (eds). **Piper: a model genus for studies of phytochemistry, ecology, and evolution.** Kluwer Academic/Plenum Publishers, New York, p. 58-77.
- Gartner, B.L. 1989. Breakage and regrowth of *Piper* species in rain forest understory. **Biotropica**, 21: 303-307.
- Greig, N. 1993. Regeneration mode in neotropical *Piper*: habitat and species comparisons. **Ecology**, 74: 2125-2135.
- Guimarães, E.F.; Carvalho-Silva, M.; Monteiro, D. & Medeiros, E. 2012. Piperaceae. In: **Lista de espécies da flora do Brasil.** Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/2012/FB000190>>. Acesso em: 24 ago 2012.
- Hartshorn, G.S. & Hammel, B.E. 1994. Vegetation types and floristic patterns. In: McDade, L.A.; Bawa, K.S.; Hespenheide, H.A. & Hartshorn, G.S. (eds). **La Selva: ecology and natural history of a neotropical rain forest.** The University Chicago Press, Chicago and London, p. 73-89.
- Jaramillo, M.A. & Manos, P.S. 2001. Phylogeny and patterns of floral diversity in the genus *Piper* (Piperaceae). **American Journal of Botany**, 88: 706-716.
- Lasso, E.; Engelbrecht, B.M.J. & Dalling, J.W. 2009. When sex is not enough: ecological correlates of resprouting capacity in congeneric tropical forest shrubs. **Oecologia**, 161: 43-56.
- Lasso, E.; Dalling, J.W. & Bermingham, E. 2012. Tropical understory *Piper* shrubs maintain high levels of genotypic diversity despite frequent asexual recruitment. **Biotropica**, 44: 35-43.
- Marinho-Filho, J.S. 1991. The coexistence of two frugivorous bat species and the phenology of their food plants in Brazil. **Journal of Tropical Ecology**, 7: 59-67.
- Mariot, A., Mantovani, A. & Reis, M.S. 2003. Uso e conservação de *Piper cernuum* Vell. (Piperaceae) na Mata Atlântica: I. Fenologia reprodutiva e dispersão de sementes. **Revista Brasileira de Plantas Mediciniais**, 5: 1-10.
- Marquis, R.J. 1988. Phenological variation in the neotropical understory shrub *Piper arieianum*: causes and consequences. **Ecology**, 69: 1552-1565.

- Mello, M.A.R.; Schittini, G.M.; Selig, P. & Bergallo, H.G. 2004. A test of the effects of climate and fruiting of *Piper* species (Piperaceae) on reproductive patterns of the bat *Carollia perspicillata* (Phyllostomidae). **Acta Chiropterologica**, 6: 309-318.
- Morellato, L.P.C.; Rodrigues, R.R.; Leitão Filho, H.F. & Joly, C.A. 1989. Estudo comparativo da fenologia de espécies arbóreas de floresta de altitude e floresta mesófila semidecídua na Serra do Japi, Jundiaí, São Paulo. **Revista Brasileira de Botânica**, 12: 85-98.
- Morellato, L.P.C. & Leitão-Filho, H.F. 1996. Reproductive phenology of climbers in a southeastern Brazilian forest. **Biotropica**, 28: 180-191.
- Morellato, L.P.C.; Alberti, L.F. & Hudson, I.L. 2010. Applications of circular statistics in plant phenology: a case studies approach. In: Hudson, I.L. & Keatley, M.R. (eds). **Phenological research: methods for environmental and climate change analysis**. Springer, Dordrecht, p. 339-359.
- Newstrom, L.E.; Frankie, G.W. & Baker, H.G. 1994. A new classification for plant phenology based on flowering patterns in lowland tropical rain forest trees at La Selva, Costa Rica. **Biotropica**, 26: 141-159.
- Oliveira, M.I.B. & Sigrist, M.R. 2008. Fenologia reprodutiva, polinização e reprodução de *Dipteryx alata* Vogel (Leguminosae-Papilionoidae) em Mato Grosso do Sul, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, 31: 195-207.
- Oliveira-Filho, A.T. & Fontes, M.A.L. 2000. Patterns of floristic differentiation among Atlantic Forests in southeastern Brazil and the influence of climate. **Biotropica**, 32: 793-810.
- Opler, P.A.; Frankie, G.W. & Baker, H.G. 1976. Rainfall as a factor in the release, timing, and synchronization of anthesis by tropical trees and shrubs. **Journal of Biogeography**, 3: 231-236.
- Opler, P.A.; Frankie, G.W. & Baker, H.G. 1980. Comparative phenological studies of treelet and shrub species in tropical wet and dry forests in the lowlands of Costa Rica. **Journal of Ecology**, 68: 167-188.
- Palmeirim, J.M.; Gorchov, D.L. & Stoleson, S. 1989. Trophic structure of a neotropical frugivore community: is there competition between birds and bats? **Oecologia**, 79: 403-411.
- Ribon, R. 2005. Demarcação de uma grade de trilhas no Centro de Pesquisa Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais. **Revista Árvore**, 29: 151-158.

- Rubim, P.; Nascimento, H.E.M. & Morellato, L.P.C. 2010. Variações interanuais na fenologia de uma comunidade arbórea de floresta semidecídua no sudeste do Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, 24: 756-764.
- Singh, J.S. & Singh, V.K. 1992. Phenology of seasonally dry tropical forest. **Current Science**, 63: 684-689.
- Snow, D.W. 1965. A possible selective factor in the evolution of fruiting seasons in tropical forest. **Oikos**, 15: 274-281.
- Souza, I.M.; Coutinho, K. & Funch, L.S. 2012. Estratégias fenológicas de *Senna cana* (Nees & Mart.) H.S. Irwin & Barneby (Fabaceae: Caesalpinioideae) como mecanismo eficiente para atração de polinizadores. **Acta Botanica Brasilica**, 26: 435-443.
- Stace, C.A. 1989. **Plant taxonomy and biosystematics**. Edward Arnold, London.
- Stephenson, A.G. 1981. Flower and fruit abortion: proximate causes and ultimate functions. **Annual Review of Ecology and Systematics**, 12: 253-279.
- Stevenson, P.R.; Castellanos, M.C.; Cortés, A.I. & Link, A. 2008. Flowering patterns in a seasonal tropical lowland Forest in western Amazonia. **Biotropica**, 40: 559-567.
- Stranghetti, V. & Ranga, N.T. 1997. Phenological aspects of flowering and fruiting at the Ecological Station of Paulo de Faria-SP-Brazil. **Tropical Ecology**, 38: 323-327.
- Thies, W. & Kalko, E.K.V. 2004. Phenology of neotropical pepper plants (Piperaceae) and their association with their main dispersers, two short-tailed fruit bats, *Carollia perspicillata* and *C. castanea* (Phyllostomidae). **Oikos**, 104: 362-376.
- Thomson, J.D. 1980. Skewed flowering distributions and pollinator attraction. **Ecology**, 61: 72-579.
- Veloso, H.P.; Rangel Filho, A.L.R. & Lima, J.C.A. 1991. **Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal**. IBGE, Rio de Janeiro.
- Wright, S.J. 1991. Seasonal drought and the phenology of understory shrubs in a tropical moist forest. **Ecology**, 72: 1643-1657.
- Wright, S.J. & van Schaik, C.P. 1994. Light and the phenology of tropical trees. **The American Naturalist**, 143: 192-199.
- Wright, S.J. & Calderon, O. 1995. Phylogenetic patterns among tropical flowering phenologies. **Journal of Ecology**, 83: 937-948.
- Yuncker, T.G. 1972. The Piperaceae of Brazil – I. **Hoehnea**, 2: 19-366.
- Zar, J.H. 1999. **Biostatistical analysis**. 4 ed. Prentice-Hall, New Jersey.

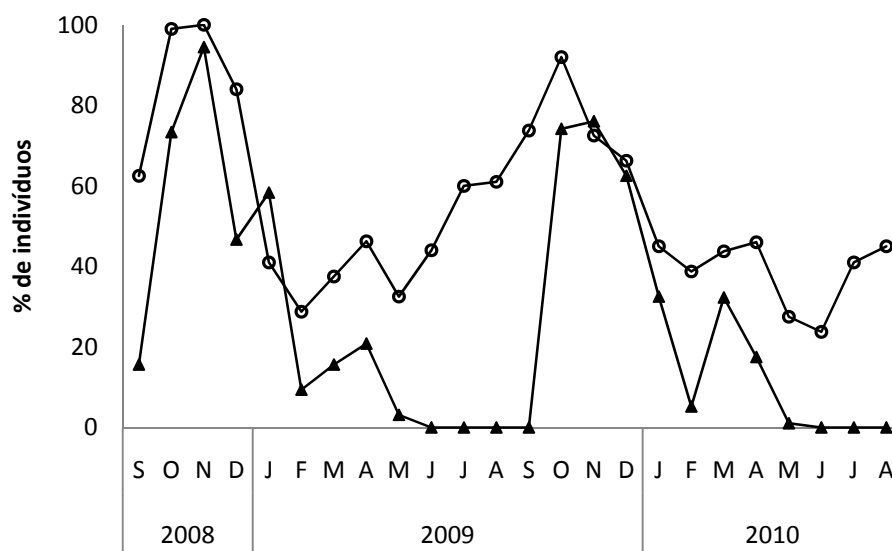


Figura 1: Brotação (índice de atividade) em *Piper vicosanum* (▲) e *P. gaudichaudianum* (○), na Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais.

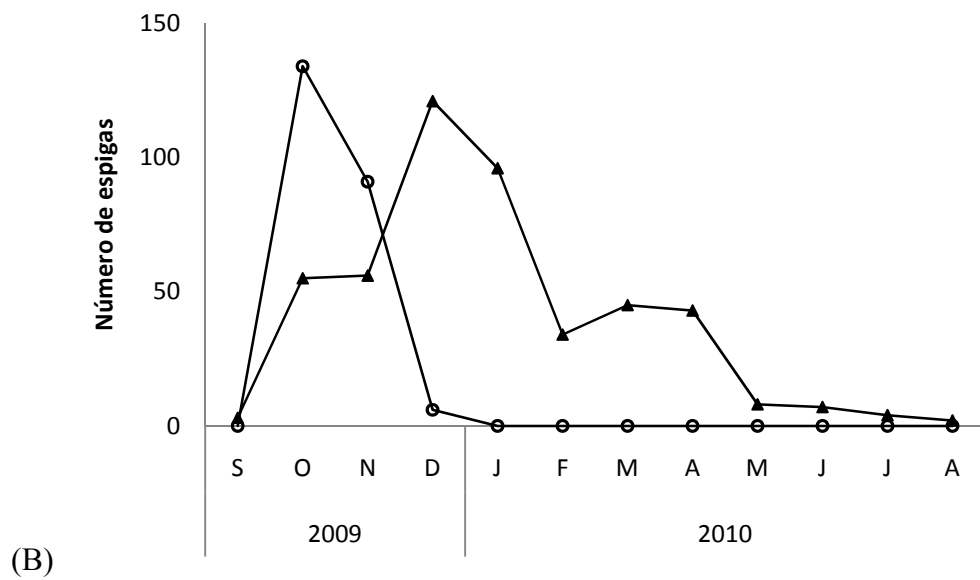
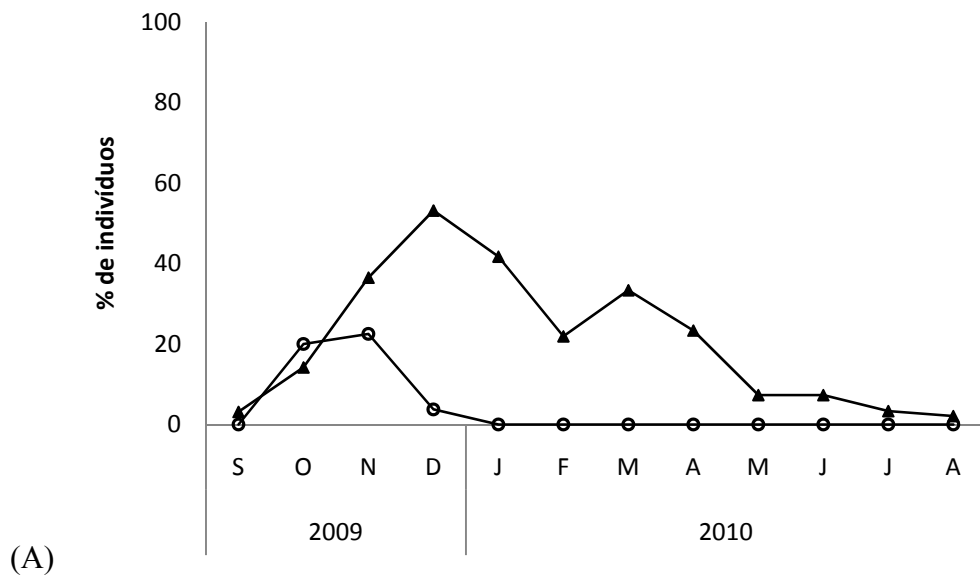


Figura 2: Produção de espigas (índice de atividade) (A) e número de espigas produzidas (intensidade) (B) em *Piper vicosanum* (▲) e *P. gaudichaudianum* (○), na Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais.

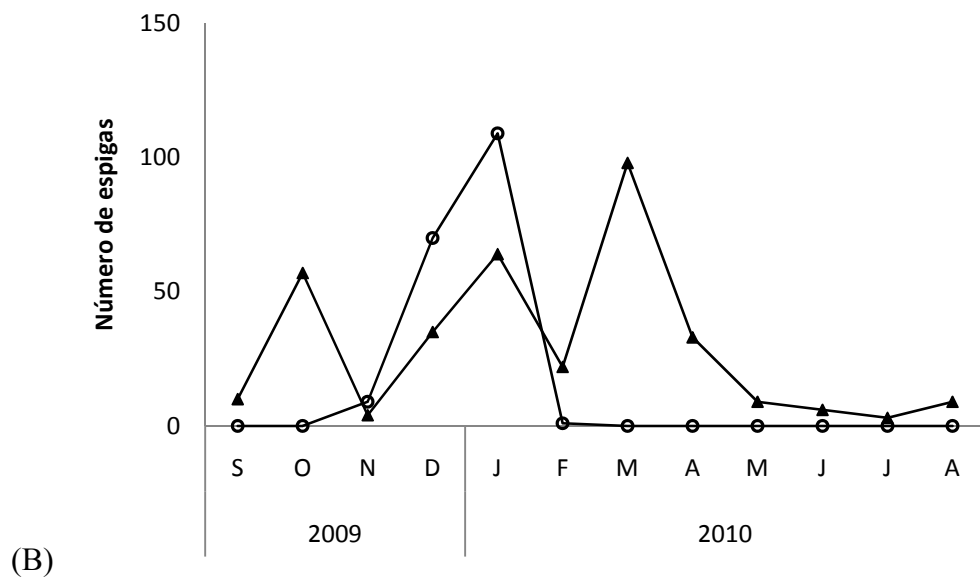
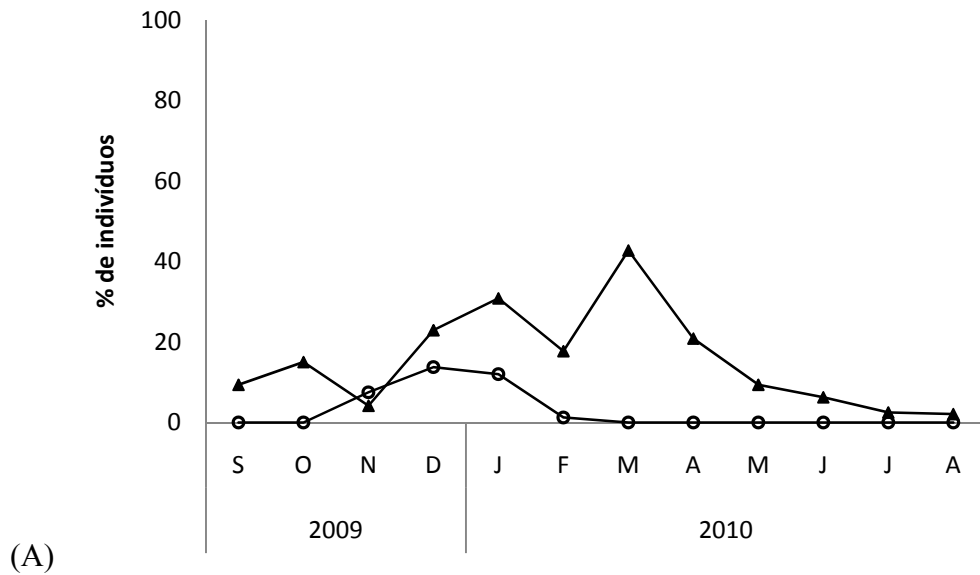


Figura 3: Aborto de espigas (índice de atividade) (A) e número de espigas abortadas (intensidade) (B) em *Piper vicosanum* (▲) e *P. gaudichaudianum* (○), na Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais.

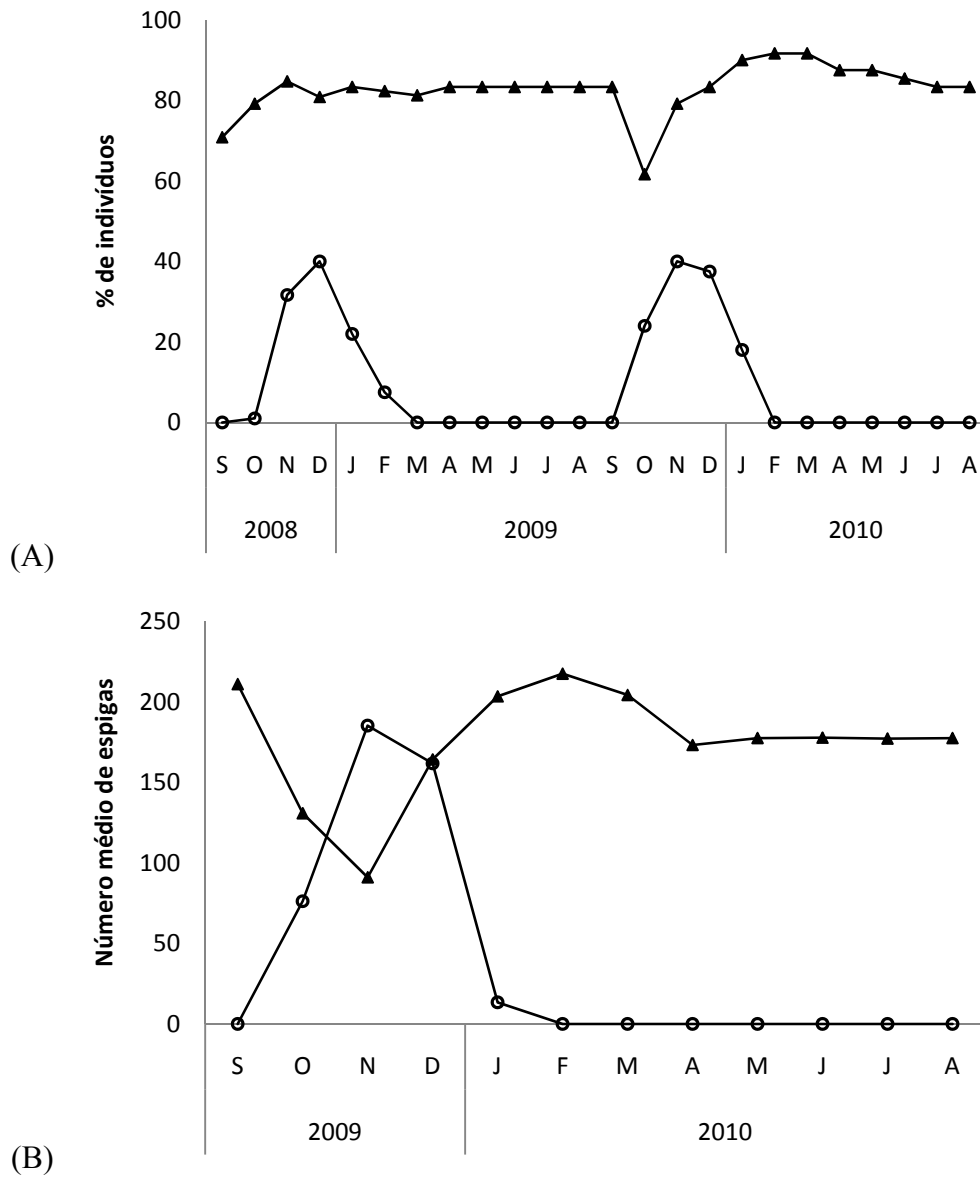


Figura 4: Espigas com flores em pré-antese (índice de atividade) (A) e número médio de espigas com flores em pré-antese (intensidade) (B) em *Piper vicosanum* (▲) e *P. gaudichaudianum* (○), na Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais.

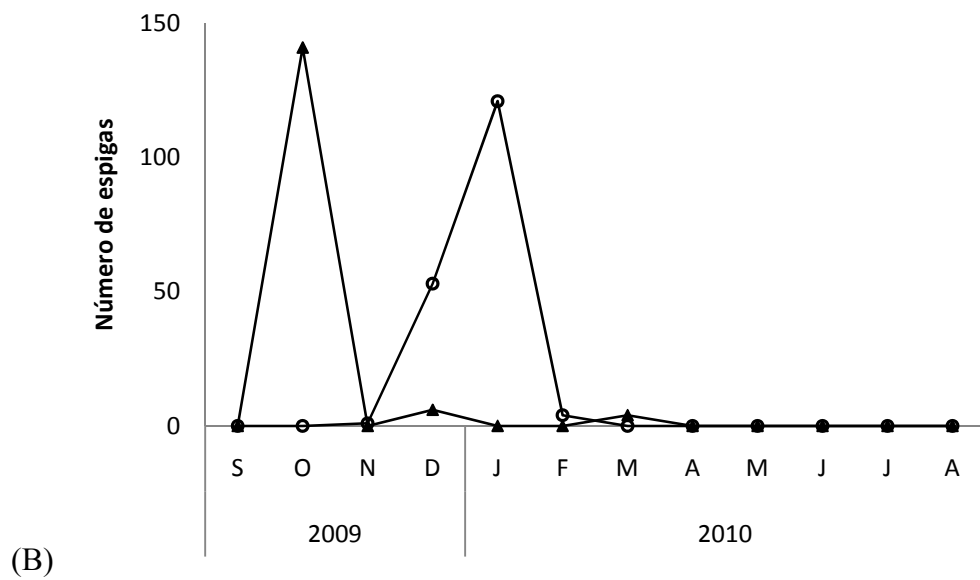
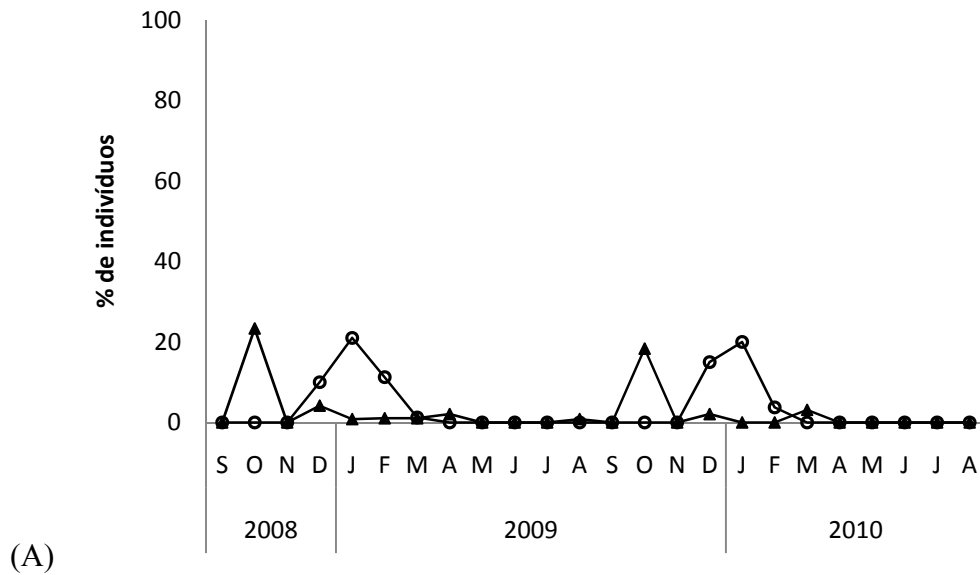


Figura 5: Espigas com flores em antese (índice de atividade) (A) e número de espigas com flores em antese (intensidade) (B) em *Piper vicosanum* (▲) e *P. gaudichaudianum* (○), na Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais.

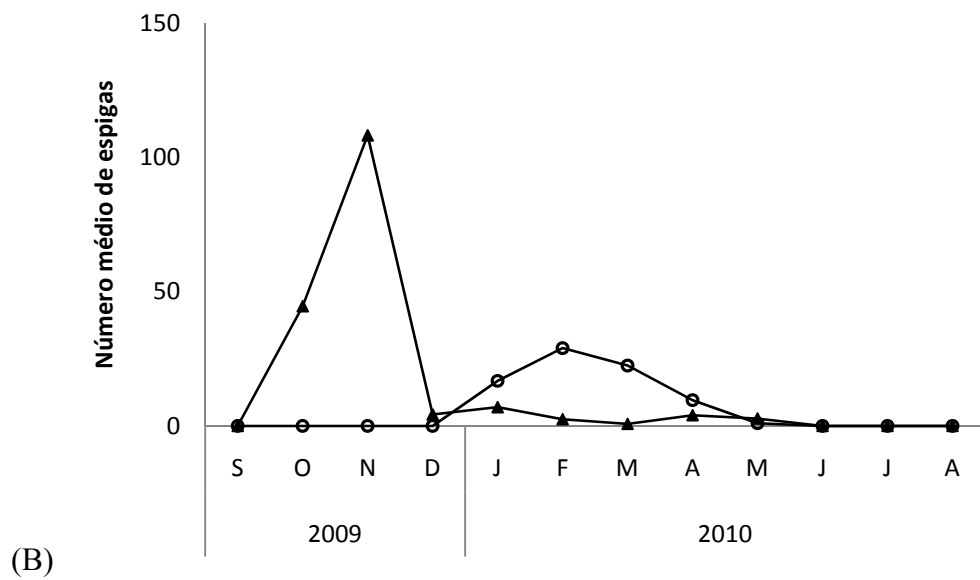
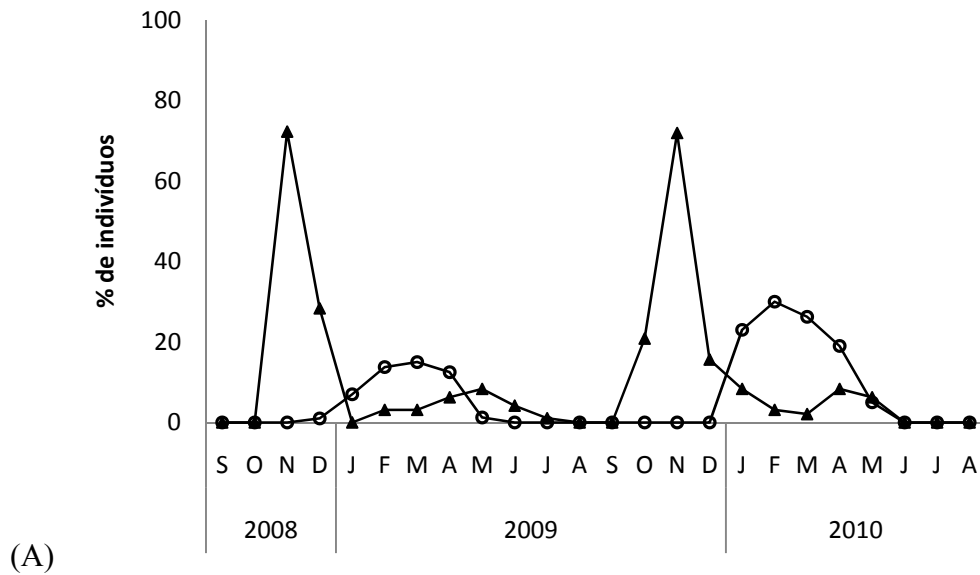


Figura 6: Espigas com frutos (índice de atividade) (A) e número médio de espigas com frutos (intensidade) (B) em *Piper vicosanum* (▲) e *P. gaudichaudianum* (○), na Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais.

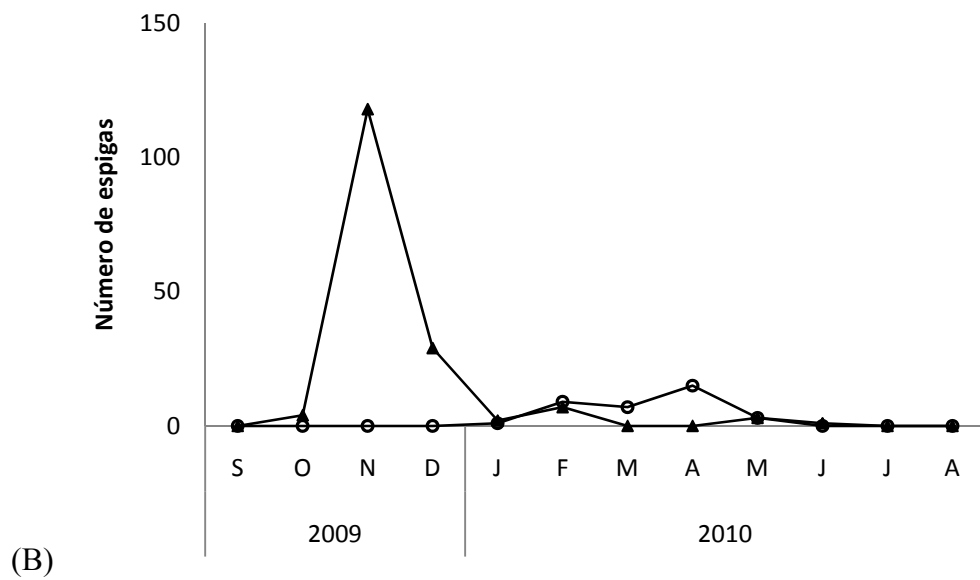
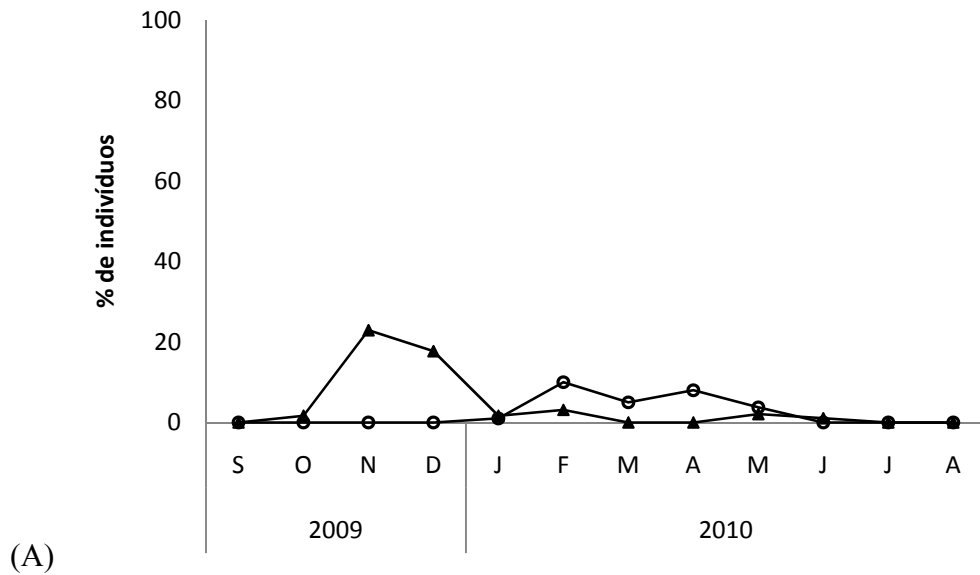


Figura 7: Espigas com frutos dispersadas (índice de atividade) (A) e número de espigas com frutos dispersadas (intensidade) (B) em *Piper vicosanum* (▲) e *P. gaudichaudianum* (○), na Mata do Paraíso, Viçosa, Minas Gerais.

Tabela 1: Resultados da estatística circular ($r > 0,5$; Morellato *et al.* 2010) utilizando os valores semanais do índice de atividade (IA) e intensidade (número de espigas – NE) do segundo ano de observações (setembro/2009 a agosto/2010).

	Brotação		Espigas								
	Produzidas		Abortadas		Em pré-antese		Em antese		Com frutos		
	IA	IA	NE	IA	NE	IA	NE	IA	NE	IA	NE
<i>Piper vicosanum</i>											
Média angular	332,4°	13,6°	344,7°		20,9°			298,6°	291,6°	324,5°	304,5°
Data média	3 Dez	14 Jan	15 Dez		21 Jan			30 Out	23 Out	25 Nov	5 Nov
Comprimento do vetor médio (r)	0,63	0,51	0,84	0,45	0,51	0,05	0,04	0,76	0,97	0,69	0,99
Teste de Rayleigh (p)	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	ns	ns	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01
<i>Piper gaudichaudiaum</i>											
Média angular		302,3°	292,1°	352,2°	351,3°	326,6°	321,0°	7,1°	1,6°	59,5°	38,5°
Data média		3 Nov	24 Out	23 Dez	22 Dez	27 Nov	22 Nov	8 Jan	2 Jan	1 Mar	8 Fev
Comprimento do vetor médio (r)	0,23	0,96	0,98	0,92	0,98	0,87	0,99	0,96	0,98	0,82	0,99
Teste de Rayleigh (p)	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01	<0,01

Tabela 2: Resultados da correlação de Spearman ($p < 0,05$) com as variáveis ambientais (temperatura média, precipitação e comprimento do dia), utilizando os valores semanais do índice de atividade e intensidade (número de espigas) do segundo ano de observações (setembro/2009 a agosto/2010).

	Mês	<i>Piper vicosanum</i>			<i>Piper gaudichaudianum</i>			
		Temp.	Precipitação	Comp. Dia	Temp.	Precipitação	Comp. Dia	
		média			média			
Índice de atividade	Brotação	0	0,53	0,60	0,70	ns	0,32	0,53
		1	0,52	0,47	0,57	-	-	-
	Produção	0	0,64	0,55	0,70	0,46	0,47	0,76
		1	0,71	0,56	0,79	-	-	-
		2	0,51	0,33	0,69	-	-	-
		3	ns	ns	0,44	-	-	-
	Aborto	0	0,59	0,57	0,52	0,50	0,33	0,77
		1	0,68	0,52	0,72	0,35	0,48	0,66
		2	0,57	ns	0,79	ns	ns	0,30
		3	0,28	ns	0,55	-	-	-
	Pré-antese	0	0,35	ns	ns	0,46	0,47	0,76
		1	0,53	ns	0,44	ns	0,42	0,51
		2	0,71	0,44	0,76	-	-	-
		3	0,68	0,49	0,82	-	-	-
		4	0,56	0,35	0,74	-	-	-
		5	ns	ns	0,40	-	-	-
	Antese	0	ns	0,28	ns	0,44	ns	0,66
		1	-	-	-	0,34	0,37	0,65
2		-	-	-	ns	0,32	0,38	
Frutos	0	0,47	0,40	0,62	0,59	ns	0,29	
	1	0,44	0,62	0,58	0,71	0,33	0,65	
	2	0,34	ns	0,36	0,72	0,35	0,86	
	3	-	-	-	0,54	0,38	0,80	
	4	-	-	-	0,30	0,39	0,57	
Número de espigas	Produção	0	0,65	0,55	0,71	0,45	0,47	0,76
		1	0,70	0,58	0,79	-	-	-
		2	0,50	0,32	0,67	-	-	-
		3	ns	ns	0,42	-	-	-
	Aborto	0	0,57	0,54	0,53	0,50	0,33	0,77
		1	0,66	0,47	0,70	0,36	0,47	0,67
		2	0,50	ns	0,66	ns	ns	0,31
		3	ns	ns	0,49	-	-	-
	Pré-antese	0	0,28	ns	ns	0,45	0,47	0,76
		1	ns	ns	ns	ns	0,40	0,50
		2	ns	ns	ns	-	-	-
		3	ns	0,34	ns	-	-	-

Continua

Continuação

		<i>Piper vicosanum</i>			<i>Piper gaudichaudianum</i>			
		Temp.		Comp.	Temp.		Comp.	
		Mês	média	Precipitação	Dia	média	Precipitação	Dia
Número de espigas	Antese	0	ns	0,28	ns	0,44	ns	0,66
		1	-	-	-	0,34	0,38	0,65
		2	-	-	-	ns	0,32	0,38
	Frutos	0	0,51	0,33	0,60	0,61	ns	0,30
		1	0,41	0,65	0,61	0,71	0,32	0,66
		2	0,36	ns	0,39	0,71	0,35	0,86
		3	-	-	-	0,53	0,39	0,80
		4	-	-	-	0,30	0,38	0,57

CAPÍTULO 2

Cronologia da deiscência das anteras e período de receptividade dos estigmas em *Piper vicosanum* Yunck. (Piperaceae): novos registros para o gênero

RESUMO

As flores de *Piper s.s.* são semelhantes morfológicamente e apresentam sequência assincrônica no desenvolvimento dos quatro (2, 1, 1) ou seis (2, 1, 1, 2) estames. Estudos mostraram que a dicogamia é comum em flores das espécies desse gênero. Entretanto, não há informações sobre a longevidade dos estigmas e o modo de exposição de suas áreas receptivas associadas à liberação dos grãos de pólen. Foi objetivo descrever a cronologia de liberação dos grãos de pólen dos quatro estames das flores de *Piper vicosanum*, associando-a ao período de receptividade dos estigmas e ao modo de exposição de suas áreas receptivas. Foram testadas as seguintes hipóteses: 1) A liberação do pólen pelos quatro estames segue a mesma sequência de desenvolvimento do androceu; 2) Suas flores, assim como as da maioria das espécies de *Piper s.s.*, apresentam protoginia. O estudo foi realizado em indivíduos de população natural em um fragmento de Floresta Atlântica, em Viçosa, Minas Gerais, sudeste do Brasil. A receptividade dos estigmas foi testada com Peroxtesmo KO[®] e a viabilidade dos grãos de pólen, com carmim acético. Observações em campo foram feitas, durante 46 horas, dos períodos de receptividade dos estigmas e liberação de pólen. Espigas foram ensacadas para verificar a ocorrência de autopolinização espontânea. Aspectos da biologia floral também foram analisados com auxílio de estudos em microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura, aplicando-se métodos usuais. *Piper vicosanum* apresentou protoginia incompleta (a fase pistilada durou até o sexto dia) e houve 100% de frutificação, provavelmente devido à fase bissexuada das flores; portanto, é autocompatível. O período de receptividade dos estigmas foi longo (até 14 dias) e a exposição e senescência das papilas estigmáticas ocorreram de forma escalonada, em sentido basípeto, características inéditas para o gênero. Nas papilas senescentes, houve acúmulo de compostos fenólicos, no mesmo sentido. A liberação de pólen assíncrona, na sequência 1, 1, 1, 1, diferiu da sequência de desenvolvimento dos estames e é descrita pela primeira vez. O processo de liberação do pólen durou por até seis dias. O conjunto da morfologia funcional de *P. vicosanum* - flores protogínicas, longos períodos de receptividade do estigma e liberação de pólen, e uma fase bissexual das flores - parecem ser eventos-chave para suas estratégias reprodutivas na área de estudo.

Palavras-chave: Deiscência assíncrona de anteras, exposição escalonada de estigma, protoginia incompleta.

**Chronology of anther dehiscence and stigma receptivity period of *Piper vicosanum*
Yunck. (Piperaceae): new findings for the genus**

ABSTRACT

The flowers of *Piper s.s.* are morphologically similar and exhibit an asynchronous sequence in development of four (2, 1, 1) or six (2, 1, 1, 2) stamens. Studies have shown that dichogamy is common in flowers this genus. However, there is not information about the longevity of stigmas and the mode of exposure of their receptive areas associated with the release of pollen grains. The goal was to describe the chronology of pollen release of the four stamens of *Piper vicosanum* flowers, associating it with the period of stigma receptivity and exposure mode of their receptive areas. We tested the following hypotheses: 1) The release of pollen by the four stamens follows the same sequence of the androecium development; 2) The flowers, like those of most species of *Piper s.s.*, present protogyny. The study was conducted in individuals from natural population of a fragment of Atlantic Forest, in Viçosa municipality, Minas Gerais State, southeastern Brazil. The stigmatic receptivity was tested with Peroxtesmo KO[®] and pollen grains viability, with acetic carmine. Field observations of stigmatic receptivity periods and pollen release were made during 46 hours. Spikes were bagged to check the occurrence of spontaneous self-pollination. Aspects of floral biology were also analyzed with the aid of studies in light microscopy and scanning electron microscopy. For that, we applied the usual methods. *Piper vicosanum* presents incomplete protogyny (pistillate phase lasted until the sixth day) and were observed 100% of fruit set, probably due to the bisexual phase of the flowers; so it is self-compatible. The receptivity of stigmas lasted until 14 days and the exposure and senescence of stigmatic papillae occurred in staggered way, in basipetal direction, new characteristics to the genus. In senescent papillae there was accumulation of phenolic compounds in the same direction. The pollen release was asynchronously, following the sequence 1, 1, 1, 1, differs from the sequence of stamens development and is here described for the first time. The process of releasing pollen lasted up to six days. The set of the functional morphology of *P. vicosanum* - protogynous flowers, long periods of stigma receptivity and pollen release, and a bisexual phase of the flowers - seems to be key events for its reproductive strategies in the study area.

Key-words: Asynchronous anther dehiscence, incomplete protogyny, staggered stigmatic exposure.

INTRODUÇÃO

Piper s.s. apresenta uma uniformidade morfológica em atributos sexuados. Sua inflorescência, a espiga, é característica comum às espécies. A flor é aclamídea, bi- ou unissexuada, e protegida por uma bractéola durante a pré-antese; o androceu é constituído por dois a seis estames; o gineceu apresenta de dois a quatro estigmas, que podem ser sésseis, e ovário súpero, unilocular, uniovular com placentação basal; o fruto é drupáceo (Yuncker 1972).

Estudo realizado por Tucker (1982), com base em análises ontogenéticas, demonstrou que há assincronia no desenvolvimento dos estames em espécies de *Piper s.s.* com quatro e seis estames. De acordo com essa autora, em espécies com quatro estames, o desenvolvimento do androceu inicia-se com dois estames, simultaneamente, seguidos por um terceiro e, por último, pelo quarto; em espécies com seis estames, os quatro primeiros seguem a mesma sequência de espécies com quatro estames e os outros dois desenvolvem-se por último e simultaneamente. Entretanto, inexistem estudos que tenham verificado se a ordem cronológica de liberação dos grãos de pólen segue a do desenvolvimento dos estames.

O período de receptividade dos estigmas em espécies de *Piper s.s.*, com dois a seis estames, tem sido abordado em estudos que envolveram a biologia de suas flores. Nesses estudos, a liberação de pólen e a receptividade dos estigmas foram descritos, na maioria das espécies, como eventos temporalmente isolados na flor, caracterizando a dicogamia. Foram registradas a protoginia completa ou incompleta (Menon 1949, Martin & Gregory 1962, Figueiredo & Sazima 2000), a protandria incompleta (Figueiredo & Sazima 2000, Kikuchi *et al.* 2007), além da adicogamia (= homogamia; Figueiredo & Sazima 2000). Esses estudos, entretanto, não forneceram informações sobre a longevidade dos estigmas e o modo de exposição de suas áreas receptivas associadas à liberação dos grãos de pólen. Essa associação é importante para esclarecer os mecanismos reprodutivos em espécies com quatro ou seis estames, principalmente as que apresentam a dicogamia parcial, se considerada a assincronia do desenvolvimento dos estames, segundo Tucker (1982).

Foi objetivo descrever a cronologia de liberação de pólen dos quatro estames das flores de *Piper vicosanum*, associando-a ao período de receptividade dos estigmas e ao modo de exposição de suas áreas receptivas. Foram testadas as seguintes hipóteses: 1) A liberação do pólen pelos quatro estames segue a mesma sequência de desenvolvimento

do androceu; 2) Suas flores, assim como as da maioria das espécies de *Piper s.s.*, apresentam protoginia.

MATERIAL E MÉTODOS

Espécie estudada e área de estudo

Piper vicosanum Yunck. é arbusto com 1-3 m de altura; sua espiga ereta mede 2,5-4,5 cm (Carvalho-Okano & Alves 1998). As flores (cerca de 300 por espiga; obs. pessoal) são bissexuadas e possuem quatro estames e gineceu tricarpelar, com três estigmas sésseis (Yuncker 1972). As demais características são as mesmas descritas anteriormente para as espécies de *Piper s.s.* As espigas são produzidas ao longo do ano e permanecem latentes por cerca de 12 meses; a antese e a frutificação ocorrem na estação chuvosa, respectivamente, em outubro e em novembro (veja Capítulo 1).

Foram analisados indivíduos de *P. vicosanum* de população natural no fragmento florestal Estação de Pesquisa, Treinamento e Educação Ambiental Mata do Paraíso (daqui em diante, Mata do Paraíso). A Mata do Paraíso localiza-se no município de Viçosa (20°49' e 20°50'S; 42°51' e 42°49'O), Zona da Mata de Minas Gerais, sudeste do Brasil, e possui 194 ha, com altitudes variando entre 690 e 870 m. É o maior fragmento florestal de Viçosa e sua vegetação pertence à formação Floresta Estacional Semidecidual Montana (Veloso *et al.* 1991), situada dentro dos limites da Floresta Atlântica *s.l.* (Oliveira-Filho & Fontes 2000).

Biologia floral e testes de polinização

Espigas em diferentes estádios, frescas ou estocadas em etanol 70%, foram analisadas sob estereomicroscópio, visando à melhor compreensão da sua morfologia e biologia floral.

A receptividade dos estigmas foi testada em 35 espigas frescas que apresentavam flores entre a pré-antese e a senescência. Foi utilizado o Peroxtesmo KO[®], seguindo a metodologia proposta por Dafni & Maués (1998). Em cada espiga, o teste foi realizado em flores localizadas em três áreas: no terço inferior, no meio e no terço superior. Adicionalmente, foram observados em indivíduos da população natural, ao longo de 19 dias consecutivos (total de 46 horas), o período de receptividade dos estigmas, observando-se a exposição das papilas estigmáticas em flores de 20 espigas, desde a pré-antese até a senescência, com auxílio de lupa de mão (aumento de 30X).

A viabilidade dos grãos de pólen foi testada de acordo com a sequência de desenvolvimento dos estames sugerida por Tucker (1982). Para tanto, 15 espigas foram fixadas em FAA₇₀ por 48 horas e, posteriormente, estocadas em etanol 70%. Foram utilizados os estames que se encontravam completamente expostos, sem a proteção da bractéola. Em cada lâmina foram colocadas cinco anteras de flores da mesma espiga, que foram maceradas sobre uma gota de carmim acético (Radford *et al.* 1974). Por lâmina foram contados 200 grãos, separando-os em viáveis e inviáveis (Kearns & Inouye 1993). O período de disponibilidade de grãos de pólen na flor foi observado nos mesmos dias e flores utilizados para verificar o período de receptividade dos estigmas em indivíduos de população natural.

Para verificar a independência de polinizadores para que ocorra a frutificação, foi testada a autopolinização espontânea em 20 espigas isoladas com sacos de tecido (failete) antes do início da receptividade dos estigmas; as espigas permaneceram assim até a sua queda ou frutificação. Outras 20 foram marcadas e deixadas expostas à visitação (polinização aberta ou controle).

Microscopia de luz e eletrônica de varredura

Aspectos da biologia floral também foram analisados com auxílio de estudos em microscopia de luz (ML) e microscopia eletrônica de varredura (MEV). Para tanto, espigas coletadas desde botão floral até a senescência foram fixadas em glutaraldeído a 2,5% (tampão fosfato 0,1 M, pH 7,2) por 48 horas, lavadas em tampão e, posteriormente, desidratadas em série etanólica crescente e estocadas em etanol 70%.

As análises de ML foram realizadas no Laboratório de Anatomia Vegetal do Departamento de Biologia Vegetal, da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, Minas Gerais. Amostras de algumas das espigas estocadas em etanol 70% foram desidratadas em série etanólica crescente e incluídas em resina hidróxi-etilmetacrilato (Historesin[®] – Leica) de acordo com as recomendações do fabricante. No estágio em que os dois primeiros estames poderiam liberar pólen, de acordo com a sequência de desenvolvimento (Tucker 1982), foram feitas seis repetições; para os demais estágios foi utilizada apenas uma amostra. O material foi seccionado transversal e longitudinalmente em micrótomo rotativo de avanço automático (modelo RM2155, Leica, Deerfield, EUA) com 5µm de espessura, corado com azul de toluidina, pH 4,4 (O'Brien *et al.* 1964) e montado sob lamínula com resina sintética (Permount[®]). As lâminas foram observadas em fotomicroscópio (modelo AX-70 TRF, Olympus Optical,

Tokyo, Japão) equipado com sistema U-Photo com câmara digital acoplada (modelo AxioCamHRc, Zeiss, Göttinger, Alemanha).

Amostras de outras espigas foram preparadas para análise em MEV, etapa realizada no Núcleo de Microscopia e Microanálise (NMM) do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Federal de Viçosa (UFV), em Viçosa, Minas Gerais. As amostras foram desidratadas em série etanólica e levadas à secagem em ponto crítico de CO₂ (equipamento Critical Point Dryer, modelo CPD 020, Bal-Tec, Balzers, Liechtenstein). Após a fixação das amostras nos suportes com uma mistura de esmalte e pó de grafite, foi realizada a deposição metálica com ouro (equipamento Sputter Coater, modelo FDU 010, Bal-Tec, Balzers, Liechtenstein). A observação e a captura de imagens foram realizadas em microscópio eletrônico de varredura (modelo LEO 1430 VP, Zeiss, Cambridge, Inglaterra).

RESULTADOS

Nas flores em pré-antese (botões florais), o androceu e o gineceu encontram-se totalmente encobertos pela bractéola (Figura 1). Com o início da retração da bractéola, nos botões florais, ocorre a exposição parcial do androceu: porção apical das anteras de três dos quatro estames. Dois estames posicionam-se lateralmente em relação à bractéola (estames 1 e 2) e acima do terceiro estame (estame 3), posicionado entre os dois primeiros (Figura 2). Seis dias, em média, após o início da retração da bractéola, os três estigmas, justapostos e eretos, tornam-se visíveis entre os três estames, agora com as anteras quase totalmente expostas (Figuras 3, 4); os estames 1 e 2 permanecem acima do 3. Nessa ocasião, a flor, ainda em pré-antese, apresenta o quarto estame oculto pela bractéola.

A antese inicia-se com a receptividade dos estigmas, que possuem papilas localizadas na face ventral (Figura 5), em flores que apresentam as anteras de três estames expostas (estames 1-3), mas indeiscentes (Figura 6). Nesse início, os estigmas encontram-se parcialmente afastados entre si, na porção distal, e as papilas receptivas (teste positivo com o Peroxtesmo KO[®]) estão posicionadas no terço superior e estão túrgidas; o restante das papilas está oculto pela porção dos estigmas ainda justaposta (Figuras 6, 7). Os estigmas encontram-se em posição oposta em relação aos estames 1, 2 e 3 e um deles (o oposto ao estame 3) é menor em comprimento que os outros dois (Figuras 6, 7). A receptividade dos estigmas em período anterior à liberação de pólen caracteriza a dicogamia protogínica.

Um ou dois dias após o início da antese, a antera do quarto e último estame (estame 4), localizado entre a bractéola e o ovário, é parcialmente exposta, devido à total retração da bractéola (Figuras 8, 9). Nessa ocasião, observa-se que os estames encontram-se em três alturas distintas: os estames 1 e 2 são os mais altos, seguidos pelo 3, e, por último, o 4 (Figura 10). Essas diferenças em alturas estão relacionadas à dinâmica de retração da bractéola e à sequência de desenvolvimento dos estames na flor, observada pela ordem cronológica de sua exposição, parcial (apenas antera) e total (filete e antera). Embora todos os estames estejam parcialmente expostos, ainda não há liberação de pólen, mas ocorre maior afastamento dos estigmas. Com o afastamento, as papilas túrgidas e receptivas são quase que totalmente expostas (Figuras 8, 11); a porção superior do ovário torna-se visível (Figura 8). A fase pistilada durou de dois a seis dias. Quando a duração dessa fase foi superior a dois dias, a flor permaneceu como mostrada na figura 8.

A antera do estame 4 torna-se mais visível após maior afastamento entre os estames 1 e 2 (Figura 12). As papilas estigmáticas estão quase totalmente expostas e continuam receptivas; entretanto, as papilas da porção distal dos estigmas começam o processo de senescência celular, tornando-se plasmolisadas (Figura 13). Nessa ocasião, inicia-se a atividade do androceu, caracterizando a protoginia incompleta e uma fase bissexuada da flor. A liberação de pólen ocorreu, em geral, durante as horas mais quentes do dia, entre 10 e 13h. As anteras são esbranquiçadas e túrgidas antes da liberação do pólen e tornam-se amareladas e murchas após a liberação. O pólen liberado, de coloração branca, forma grumos que podem permanecer sobre a antera de um dia para o outro.

Os estames 1 e 2 são os primeiros a liberar pólen, porém não simultaneamente: apesar de apresentarem polens em fase semelhante de desenvolvimento, apenas uma das anteras apresentou os estômios rompidos (Figura 14). Em geral, um desses estames torna-se mais alto que o outro, devido à sua total exposição (filete e antera); o que estiver mais alto é o primeiro a liberar pólen (Figura 15). Foram observadas duas possibilidades (Figura 23). Os estames liberam pólen no mesmo dia, porém em horários diferentes: o primeiro pela manhã e o outro, no início da tarde, com diferença de uma a três horas. A outra possibilidade é a liberação em dias subsequentes pela manhã, com, no mínimo, 24 horas de diferença (Figura 16; veja cicatriz do filete do estame que já liberou pólen). Nessa fase, o estame 1 apresentou 92,3% de polens viáveis e o 2, 91,4%.

A antera deiscente dos estames 1 e 2 é abortada um dia após liberar pólen (Figura 17; veja o tecido de abscisão na Figura 15). O estame 3, com 77,4% de polens

viáveis, pode liberar pólen no dia imediatamente após a liberação pelos estames 1 e 2 ou um dia depois (Figura 23). Nessa ocasião, as papilas estigmáticas estão totalmente expostas e ainda receptivas. As papilas das porções distal e mediana dos estigmas já estão plasmolisadas (Figura 18). Também foi observado que as papilas plasmolisadas começam a acumular compostos fenólicos nos vacúolos, inicialmente as localizadas na porção distal dos estigmas (Figura 19).

No dia seguinte à deiscência da antera do estame 3, está presente na flor somente o estame 4 (Figura 20). A variação na liberação de pólen do estame 4 é semelhante à do terceiro (Figura 23). O estame 4 apresentou 89,8% dos grãos viáveis. Nessa fase, os estigmas estão afastados entre si desde a base (Figura 20) e as papilas podem estar receptivas (algumas flores apresentam os estigmas não receptivos nessa fase); nos estigmas receptivos, a maior parte da superfície estigmática possui papilas com compostos fenólicos nos vacúolos.

Devido a essa diferença temporal na abertura das anteras, o período de liberação de pólen pode variar de três a seis dias (Figura 23). Após o aborto da antera do estame 4, algumas flores podem apresentar parte da superfície estigmática receptiva por até dois dias. Nessa ocasião, muitas papilas estão colapsadas e são as papilas localizadas no terço proximal dos estigmas que permanecem receptivas (células ainda túrgidas; Figura 21). Em seguida, o ovário aumenta de tamanho por causa da formação do fruto e as papilas estigmáticas estão totalmente colapsadas (Figura 22).

Na espiga, a exposição dos órgãos reprodutivos começa pelas flores proximais, mas em poucos dias as demais iniciam a retração da bractéola. Quando as flores proximais estão na fase pistilada, a maioria das flores na espiga também está, com poucas exceções no ápice que permanecem em pré-antese. Durante a liberação de pólen, não há uma sequência específica de liberação entre as flores (p. ex., da base para o ápice da espiga), o que demonstra que há pouca diferença temporal na antese ao longo da espiga.

Houve frutificação em todas as espigas, nos testes de polinização realizados.

DISCUSSÃO

A dicogamia protogínica, verificada em *Piper vicosanum*, também foi descrita para outras espécies do gênero (Menon 1949, Martin & Gregory 1962, Figueiredo & Sazima 2000) e é característica comum em representantes de angiospermas basais, grupo de plantas que engloba Piperaceae (Endress 2010). É considerada um mecanismo

reprodutivo que favorece a polinização cruzada (Lloyd & Webb 1986, Bertin & Newman 1993), embora a protoginia incompleta, como a de *P. vicosanum*, não impeça a autopolinização devido à fase bissexuada da flor (Lloyd & Webb 1986), tal como verificado aqui. Protoginia incompleta é a dicogamia mais comumente observada em espécies de *Piper*. Figueiredo & Sazima (2000) observaram essa característica em oito espécies do sudeste brasileiro.

Além da protoginia, a protandria incompleta e a adicogamia também foram mencionadas para espécies de *Piper* por Figueiredo & Sazima (2000) e Kikuchi *et al.* (2007). Entretanto, esses mecanismos, nessas plantas, precisam ser analisados com cautela, pois para sua correta identificação há necessidade de análises micromorfológicas associadas com observações em campo e testes de receptividade, tal como as do presente estudo, e que não foram realizadas pelos autores citados.

A protoginia incompleta em flores de *P. vicosanum* parece ser consequência do longo período de receptividade dos estigmas (por até 14 dias). Essa longevidade, por sua vez, parece ser resultante da exposição escalonada das papilas estigmáticas receptivas. Outros autores mencionaram estigmas receptivos longevos (até 10 dias) em espécies de *Piper* (Menon 1949, Martin & Gregory 1962, Figueiredo & Sazima 2000), sem detalhar sobre o modo de exposição da área receptiva ou qualquer outra característica estigmática.

Estigmas com superfície papilosa e papilas unicelulares, como os de *P. vicosanum*, já haviam sido descritos por Heslop-Harrinson & Shivanna (1977) para espécies desse gênero. A apresentação escalonada das papilas estigmáticas, entretanto, é aqui descrita pela primeira vez. Essa apresentação confere aos três estigmas, aparentemente com áreas receptivas contínuas, uma fragmentação. Cada fragmento é constituído por um conjunto de papilas receptivas apresentando-se em sentido basípeto.

A mudança das células de túrgidas para plasmolisadas e o posterior acúmulo de compostos fenólicos reforçam a exposição gradual das papilas estigmáticas. Segundo Beckman (2000), há uma correlação entre as células que sofrem morte celular programada, processo que inclui a senescência, e as que acumulam fenólicos. Além disso, uma das funções desses compostos é a resistência a patógenos (Beckman 2000). É possível que o acúmulo de fenólicos nas papilas plasmolisadas impeça a contaminação dessas células por patógenos, protegendo indiretamente as papilas ainda funcionais. Logo, tanto a exposição dos estigmas quanto a senescência celular das papilas estigmáticas ocorrem de forma escalonada em *P. vicosanum*.

A assincronia de abertura das anteras em *P. vicosanum* foi descrita pela primeira vez no gênero e diferiu da sequência de desenvolvimento dos estames proposta por Tucker (1982); os estames 1 e 2 não liberaram pólen simultaneamente. Essa autora mencionou que a deiscência das anteras em *Piper* ocorre em diferentes momentos, mas não apresentou uma sequência de liberação de pólen, tal como no presente estudo. Outra sequência de liberação de pólen em representante de Piperaceae com quatro estames por flor foi observada por Arias & Williams (2008) em *Manekia naranjoana* (C. DC.) Callejas ex N. Zamora, Hammel & Grayum. Nesse caso, os estames 1 e 2 liberaram pólen em sincronia, mas o estame 4 liberou pólen antes do 3. Entretanto, esses autores não fizeram acompanhamento da antese em flores de indivíduos na população natural, o que pode levar à falsa impressão da deiscência simultânea dos estames 1 e 2.

Em *P. vicosanum*, assim como em muitas outras espécies de distintas famílias de angiospermas basais, o pólen é o recurso oferecido aos polinizadores (Endress 2010). Nessa espécie, a polinização biótica foi aqui inferida baseando-se na permanência dos grãos de pólen sobre as anteras de um dia para outro, também observada por Semple (1974) em espécies de *Piper*, além da posição dos verticilos reprodutivos na flor, estigmas proximamente circundados pelos estames, que desfavorece a polinização anemófila. De fato, a entomofilia foi o sistema de polinização mais observado em *Piper* (Martin & Gregory 1962, Semple 1974, Fleming 1985, Figueiredo & Sazima 2000, Thomazini & Thomazini 2002, Kikuchi *et al.* 2007). O vento tem sido citado como vetor de pólen para algumas espécies, assim como a ambifilia (Martin & Gregory 1962, Figueiredo & Sazima 2000), mas inexistem estudos que confirmem a polinização abiótica em *Piper*.

Na espécie estudada, excetuando-se alguns curculionídeos que acasalavam sobre as flores, não foram observados outros insetos em 46 horas de trabalho no campo (obs. pess.). A ausência de visitantes florais e 100% de frutificação obtida nas espigas de *P. vicosanum* mostram a independência de polinizadores e a importância da assincronia de liberação de pólen pelas anteras. A assincronia favorece a autopolinização, durante a fase bissexuada da flor, e, conseqüentemente, a autogamia garante o sucesso reprodutivo. A autogamia como uma estratégia reprodutiva substituta da alogamia, devido à ausência de polinizadores, foi observada em outras plantas (Herlihy & Eckert 2002, Kalisz *et al.* 2004). Pelo exposto, *P. vicosanum* parece possuir sistema misto de reprodução, a alogamia e a autogamia. Entretanto, na área de estudo, a autogamia parece prevalecer. Estudos posteriores, em outras populações naturais onde os

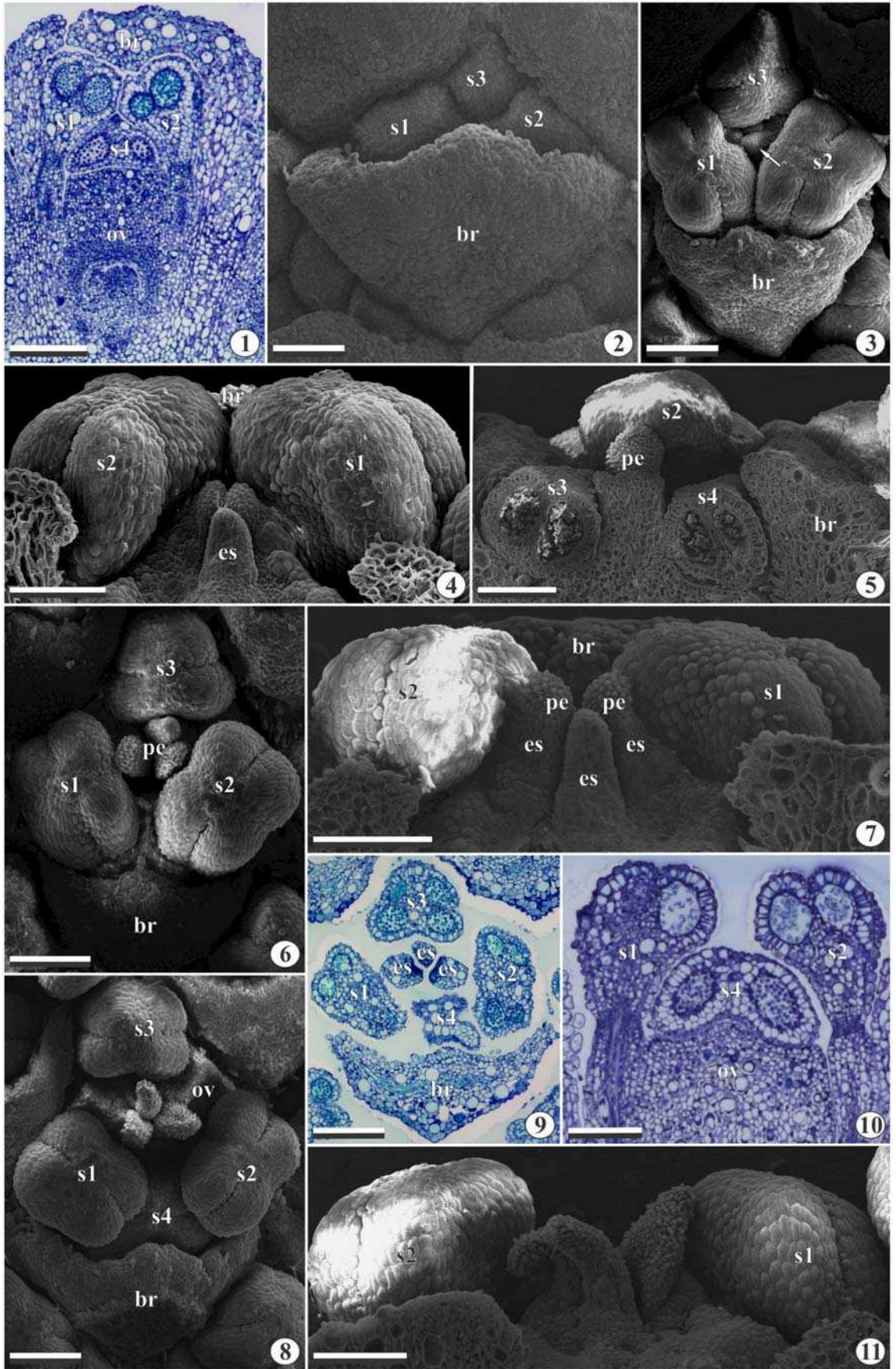
polinizadores sejam atuantes, poderiam testar essas hipóteses e esclarecer ainda mais essas questões.

Protoginia incompleta, longos períodos de receptividade estigmática e de liberação de pólen e um provável sistema misto de reprodução são estratégias de *P. vicosanum* que parecem garantir o seu sucesso reprodutivo, na área de estudo.

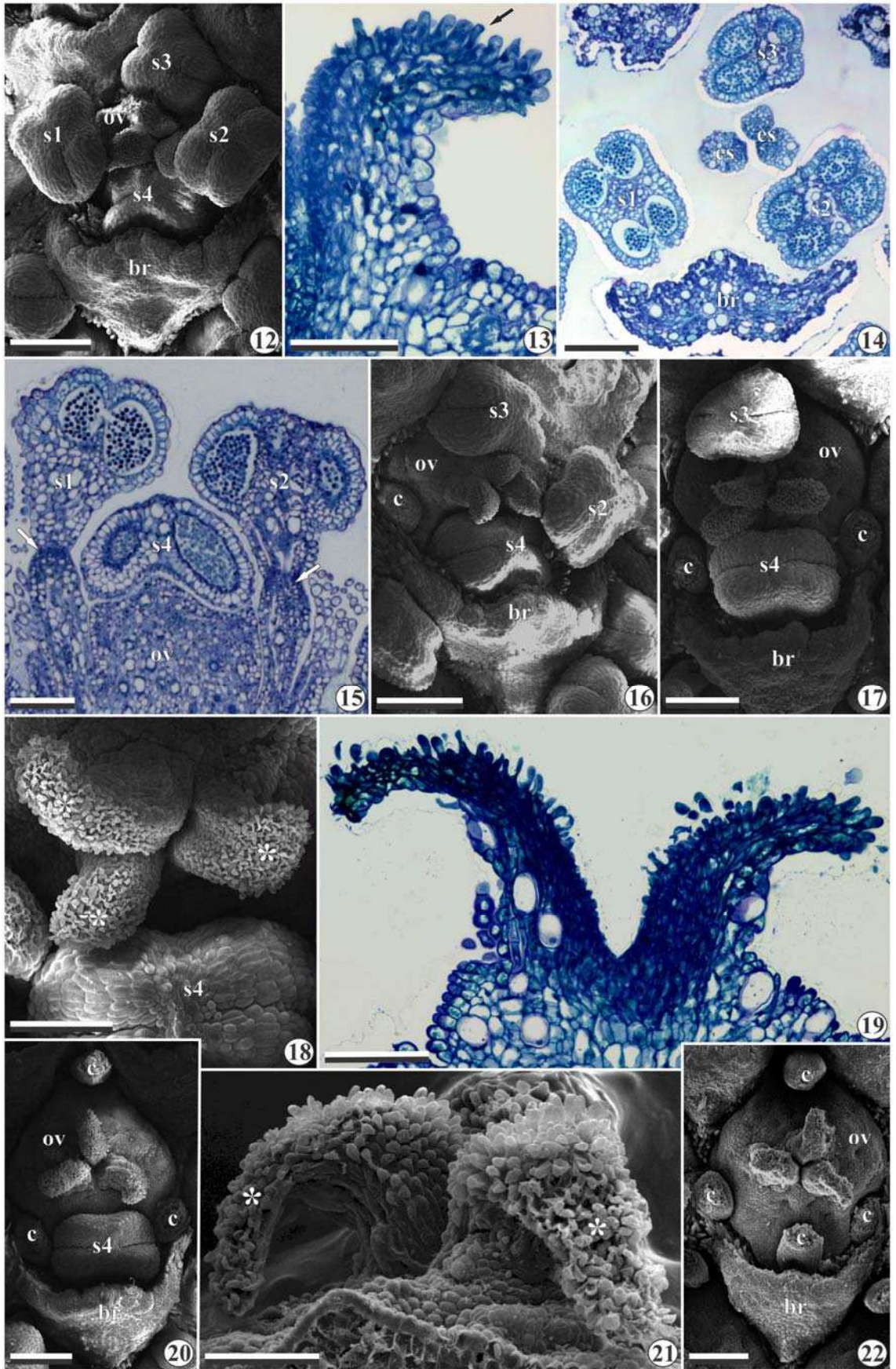
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Arias, T. & Williams, J.H. 2008. Embryology of *Manekia naranjoana* (Piperaceae) and the origin of tetrasporic, 16-nucleate female gametophytes in Piperales. **American Journal of Botany**, 95: 272-285.
- Beckman, C.H. 2000. Phenolic-storing cells: keys to programmed cell death and periderm formation in wilt disease resistance and in general defence responses in plants? **Physiological and Molecular Plant Pathology**, 57: 101-110.
- Bertin, R.I. & Newman, C.M. 1993. Dichogamy in angiosperms. **The Botanical Review**, 59: 112-152.
- Carvalho-Okano, R.M. & Alves, S.A.M. 1998. Piperaceae C. Agardh da Estação Experimental Mata do Paraíso, Viçosa, MG. **Acta Botanica Brasilica**, 12: 497-513.
- Dafni, A. & Maués, M.M. 1998. A rapid and simple procedure to determine stigma receptivity. **Sexual Plant Reproduction**, 11: 177-180.
- Endress, P.K. 2010. The evolution of floral biology in basal angiosperms. **Philosophical Transactions of The Royal Society B**, 365: 411-421.
- Figueiredo, R.A. & Sazima, M. 2000. Pollination biology of Piperaceae species in southeastern Brazil. **Annals of Botany**, 85: 455-460.
- Fleming, T.H. 1985. Coexistence of five sympatric *Piper* (Piperaceae) species in a tropical dry forest. **Ecology**, 66: 688-700.
- Herlihy, C.R. & Eckert, C.G. 2002. Genetic cost of reproductive assurance in a self-fertilizing plant. **Nature**, 416: 320-323.
- Heslop-Harrison, Y. & Shivanna, K.R. 1977. The receptive surface of the angiosperm stigma. **Annals of Botany**, 41: 1233-1258.
- Johansen, D.A. 1940. **Plant microtechnique**. McGraw Hill Book, New York.
- Kalisz, S.; Vogler, D.W. & Hanley, K.M. 2004. Context-dependent autonomous self-fertilization yields reproductive assurance and mixed mating. **Nature**, 430: 884-887.

- Kearns, C.A. & Inouye, D.W. 1993. **Techniques for pollination biologists**. University Press, Colorado.
- Kikuchi, D.W.; Lasso, E.; Dalling, J.W. & Nur, N. 2007. Pollinators and pollen dispersal of *Piper dilatatum* (Piperaceae) on Barro Colorado Island, Panama. **Journal of Tropical Ecology**, 23: 603-606.
- Lloyd, D.G. & Webb, C.J. 1986. The avoidance of interference between the presentation of pollen stigmas in angiosperms I. Dichogamy. **New Zealand Journal of Botany**, 24: 135-162.
- Martin, F.W. & Gregory, L.E. 1962. Mode of pollination and factors affecting fruit set in *Piper nigrum* L. in Puerto Rico. **Crop Science**, 2: 295-299.
- Menon, K.K. 1949. The survey of *pollu* and root diseases of pepper. **The Indian Journal of Agricultural Science**, 19: 89-136.
- O'Brien, T.P.; Feder, N. & McCully, M.E. 1964. Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. **Protoplasma**, 59: 368-373.
- Oliveira-Filho, A.T. & Fontes, M.A.L. 2000. Patterns of floristic differentiation among Atlantic Forests in southeastern Brazil and the influence of climate. **Biotropica**, 32: 793-810.
- Radford, A.E.; Dickison, W.C.; Massey, J.R. & Bell, C.R. 1974. **Vascular plant systematics**. Harper and Row, New York.
- Semple, K.S. 1974. Pollination in Piperaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, 61: 868-871.
- Thomazini, M.J. & Thomazini, A.P.B.W. 2002. Diversidade de abelhas (Hymenoptera: Apoidea) em inflorescências de *Piper hispidinervum* (C.DC.). **Neotropical Entomology**, 31: 27-34.
- Tucker, S.C. 1982. Inflorescence and flower development in the Piperaceae III. Floral ontogeny of *Piper*. **American Journal of Botany**, 69: 1389-1401.
- Veloso, H.P.; Rangel Filho, A.L.R. & Lima, J.C.A. 1991. **Classificação da vegetação brasileira, adaptada a um sistema universal**. IBGE, Rio de Janeiro.
- Yuncker, T.G. 1972. The Piperaceae of Brazil - I *Piper* group I, II, III, IV. **Hoehnea**, 2: 19-366.



Figuras 1-11: Flores de *Piper vicosanum* em pré-antese e na fase pistilada. (1) botão floral em corte longitudinal; (2) início da exposição dos estames; (3) botão floral com estigma entre as anteras (seta); (4) estigmas eretos e justapostos (estame 3 foi retirado); (5) flor com três estames e um dos estigmas com papilas na face ventral (estame 1 e dois estigmas foram retirados); (6) flor com três anteras expostas; (7) exposição de papilas na porção distal dos estigmas (estame 3 foi retirado); (8) exposição parcial do estame 4; (9) flor com quatro anteras expostas em corte transversal; (10) diferença de altura entre os estames, em corte longitudinal; (11) papilas estigmáticas quase totalmente expostas (estame 3 foi retirado). O ápice da bractéola está direcionado para a região distal da espiga. br = bractéola, es = estigma, ov = ovário, pe = papilas estigmáticas, s1 = estame 1, s2 = estame 2, s3 = estame 3, s4 = estame 4. Escalas: 150 μm (2, 4, 7, 10, 11), 200 μm (1, 3, 5, 6, 8), 250 μm (9).



Figuras 12-22: Flores de *Piper vicosanum* na fase bissexuada e após a liberação de pólen. (12) flor com quatro estames; (13) estigma com papilas plasmolisadas na porção distal (seta), em corte longitudinal; (14) assincronia na abertura das anteras dos estames 1 e 2, em corte transversal; (15) diferença de altura entre os estames 1 e 2 durante a liberação de pólen e tecido de abscisão no filete (setas), em corte longitudinal; (16) flor após o primeiro estame liberar pólen; (17) flor com os estames 3 e 4; (18) detalhe dos estigmas, mostrando que a maioria das papilas está plasmolisada (*); (19) acúmulo de compostos fenólicos (coloração esverdeada), principalmente na porção distal dos estigmas, em corte longitudinal; (20) flor com estame 4; (21) papilas receptivas no terço proximal dos estigmas (* = papilas plasmolisadas); (22) início da formação do fruto. O ápice da bractéola está direcionado para a região distal da espiga. br = bractéola, c = cicatriz do filete, es = estigma, ov = ovário, s1 = estame 1, s2 = estame 2, s3 = estame 3, s4 = estame 4. Escalas: 100 μm (13, 19, 21), 150 μm (15, 18), 250 μm (12, 14, 16, 17, 20, 22).

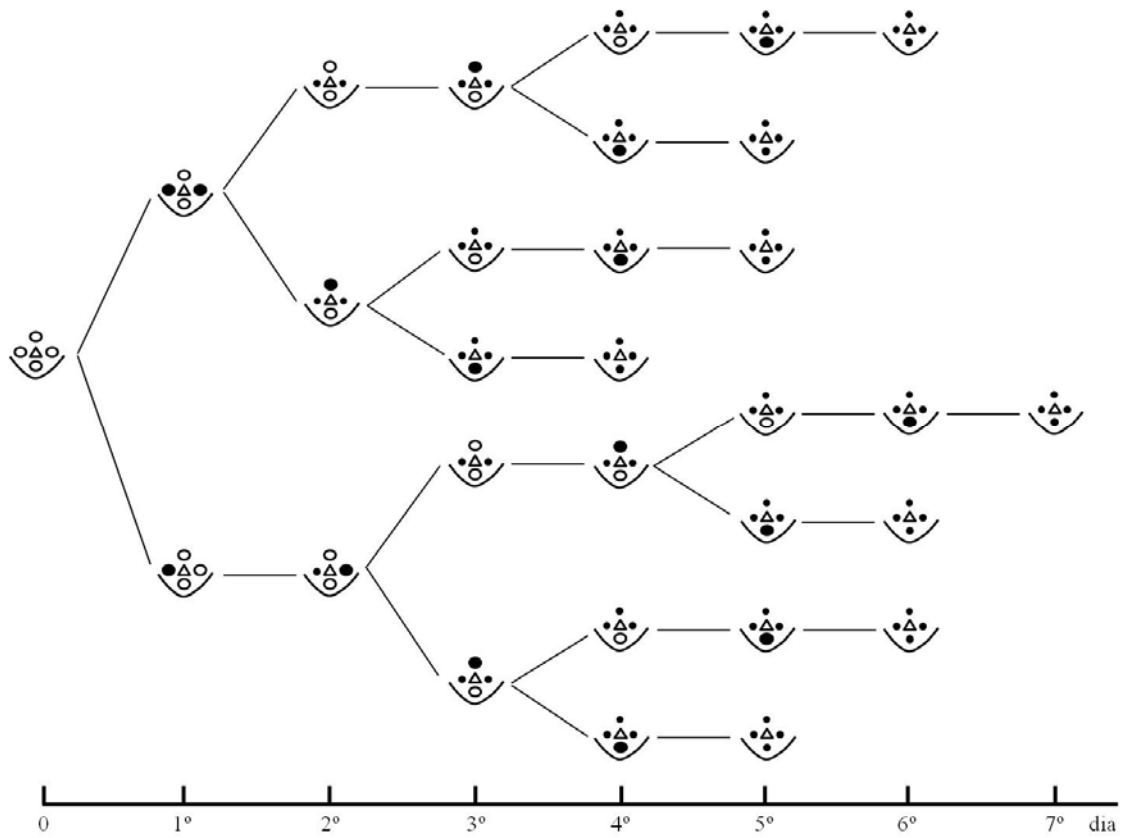


Figura 23: Esquemas de flores de *Piper vicosanum* com as possíveis seqüências de liberação de pólen pelos quatro estames. \circ = antera indeiscente, \bullet = antera liberando pólen, \bullet = cicatriz do filete, Δ = gineceu e \smile = bractéola.

CONCLUSÕES GERAIS

- Em *P. vicosanum*, os rebentos produziram espigas que floresceram, aumentando o número total de espigas; os de *P. gaudichaudianum* permaneceram latentes.
- A brotação, nas espécies, ocorre durante todo ou quase todo o ano, com picos síncronos na estação chuvosa (outubro e novembro).
- *Piper vicosanum* apresenta espigas com flores em botão floral durante todo o ano, que permanecem latentes por 12 meses.
- *Piper vicosanum* e *P. gaudichaudianum* apresentam floração (flores em antese) anual, na estação chuvosa, respectivamente, em outubro e de novembro a março.
- Há isolamento reprodutivo sazonal das espécies, que são coocorrentes e florescem sequencialmente.
- A frutificação de ambas também é anual e não houve sobreposição; a de *P. vicosanum* ocorre na estação chuvosa e a de *P. gaudichaudianum* entre a estação chuvosa e a seca.
- Em *P. gaudichaudianum*, o menor número de espigas com frutos dispersadas e maior número de espigas abortadas parecem ser fatores compensados pela maior quantidade de sementes produzidas por espiga.
- As fenofases, com poucas exceções, foram sazonais e correlacionaram-se positivamente com as variáveis ambientais temperatura média, precipitação e, principalmente, comprimento do dia.
- *Piper vicosanum* apresenta protoginia incompleta.
- A exposição e senescência das suas papilas estigmáticas ocorrem de forma escalonada.
- A liberação de pólen pelos quatro estames é assíncrona (1, 1, 1, 1) e difere do desenvolvimento dos estames (2, 1, 1).