

Crescimento de tubos polínicos e local de incompatibilidade em *Byrsonima sericea* DC (Malpighiaceae)

Gloria Matallana^{1*}, Lourdes Marcarini¹ &
Luis Fernando Tavares de Menezes¹

RESUMO: A autoincompatibilidade é a capacidade que as plantas com flores têm de distinguir o próprio pólen do pólen intraespecífico e inibir seu crescimento. É um mecanismo fisiológico controlado geneticamente, em muitos casos por um único locus, denominado de locus S, com uma grande quantidade de alelos. Além do controle genético, características específicas do pólen e pistilo, assim como o crescimento do tubo polínico e o local de interrupção do mesmo são observadas para inferir sobre o tipo de sistema de autoincompatibilidade. Este trabalho acompanhou o desenvolvimento dos tubos polínicos em *Byrsonima sericea* DC em tratamentos controlados de polinização cruzada e autopolinização para determinar o local de incompatibilidade e assim inferir o tipo de sistema de autoincompatibilidade, com ferramentas de microscopia de fluorescência. Observações foram feitas em pistilos após 12, 24, 48 e 72 horas à polinização. Os tubos polínicos nos tratamentos de autopolinização se desenvolveram no estilete, mas não chegaram a penetrar nos óvulos, sugerindo que o tipo de autoincompatibilidade é gametofítica. O gênero *Byrsonima*, por possuir ampla distribuição em ambientes diversos, além de ter registros tanto de espécies autocompatíveis com autoincompatíveis, se apresenta como um forte candidato para estudos mais aprofundados dos mecanismos de autoincompatibilidade em âmbito molecular para elucidar as diferentes estratégias dentro das angiospermas.

Palavras chave: autoincompatibilidade, microscopia de fluorescência, Restinga, sistema reprodutivo.

¹ Programa de Pós-graduação em Biodiversidade Tropical; Departamento de Ciências Agrárias e Biológicas DCAB, Universidade Federal de Espírito Santo/Centro Universitário Norte do Espírito Santo UFES/CEUNES, Rodovia BR 101 Norte Km 60, Bairro Litorâneo CEP 29932-540, São Mateus-ES. (+5527 3312 1704).

* Autor para contato. E-mail: gloriamatallanatobon@gmail.com

Recebido: 24 jul 2015 – Aceito: 19 out 2015

ABSTRACT: (Pollen tube growth and site of incompatibility in *Byrsonima sericea* DC (Malpighiaceae). Self-incompatibility is the ability of flowering plants to distinguish their own pollen from intraspecific pollen and inhibit their growth. It is a physiological mechanism genetically controlled, in many cases by a single locus, referred to as S locus, with a large number of alleles. Besides genetic control, specific characteristics of the pollen and pistil, pollen tube growth and the site of rejection are used to infer the type of self-incompatibility system. This work followed the development of pollen tubes in *Byrsonima sericea* DC in controlled treatments of cross and self-pollination to determine the site of incompatibility and thus infer the type of incompatibility system of this species. Observations were conducted in pistils 12, 24, 48 and 72 hours after pollination. Pollen tubes from self-pollination treatments developed in the style, but do not penetrate ovules, suggesting that the type of self-incompatibility is gametophytic. Due to its wide distribution in different environments, as well as the presence of self-compatible and self-incompatible species, the *Byrsonima* gender is presented as a strong candidate for further study of self-incompatibility mechanisms at the molecular level to elucidate the different strategies within the angiosperms.

Key words: Gametophytic self-incompatibility, fluorescence microscopy, sandy coastal plains, reproductive systems.

Introdução

Mecanismos de autoincompatibilidade têm sido frequentemente descritos na literatura por se tratarem de eventos que favorecem o isolamento reprodutivo e a especiação e diversificação das angiospermas (Levin, 1971; Hiscock & McInnis, 2003; Ferrer & Good, 2012). Ditos mecanismos podem ser pré-zigóticos, ou seja, ocorrem antes da fecundação e formação do zigoto e envolvem processos de diferenciação temporal (e.g. assincronia nos picos de floração); diferenciação etológica e de habitat (e.g. síndromes de polinização), assim como, competição gamética que inclui estratégias de autocompatibilidade (Levin, 1971) e competição de crescimento do tubo polínico no estigma ou incompatibilidade (Rieseberg & Carney, 1998). Já os mecanismos pós-zigóticos mais comuns, abrangem a inviabilidade ou fraqueza da progênie, esterilidade e o fenômeno conhecido como “*hybrid breakdown*”, onde a primeira geração híbrida é vigorosa e fértil, mas as gerações subsequentes são inviáveis (Rieseberg & Carney, 1998).

A autoincompatibilidade consiste na incapacidade de uma planta fértil formar sementes quando fecundada pelo próprio pólen (DeNettancourt, 1997).

Os mecanismos de autoincompatibilidade podem ser tanto morfológicos, como fisiológicos ou uma combinação de ambos. Em quanto os mecanismos morfológicos (e.g. heterostilia, dicogamia, enantioestilia etc.) não conseguem ser seletivos sobre a qualidade do pólen, os mecanismos fisiológicos conseguem discriminar ativamente os tubos polínicos com características genéticas adequadas para a fertilização (Oliveira & Maruyama, 2014). O mecanismo fisiológico de autoincompatibilidade possui uma base genética (controlado por um locus denominado S) que promove a alogamia (Hiscock & McInnis, 2003; Charlesworth *et al.*, 2005; Karasawa, 2009) e tem despertado o interesse de geneticistas e profissionais que trabalham com melhoramento de plantas (Schifino-Wittmann & Dall’Agnol, 2002), assim como nas áreas de ecologia e evolução para explicar fenômenos de especiação e riqueza de táxons (Harder & Barrett, 2006; Ferrer & Good, 2012), além de abordagens funcionais que tentam entender a distribuição e frequência dos sistemas de autoincompatibilidade de acordo a características morfológicas, fenológicas e ambientais (Levin. 1971; Lloyd & Schoen, 1992).

Dois tipos de sistemas de autoincompatibilidade fisiológica já foram descritos: a autoincompatibilidade esporofítica e a gametofítica (Charlesworth *et al.*, 2005; Karasawa, 2009; Oliveira & Maruyama, 2014). Na primeira, a especificidade é gerada pelo genótipo diplóide da planta adulta (esporófito) que deu origem ao grão de pólen (Harder & Barrett, 2006; Karasawa, 2009). Consequentemente, o grão de pólen tem o fenótipo de incompatibilidade determinado pelo esporófito e os alelos podem expressar relações de dominância ou podem atuar independentemente no pólen ou pistilo (Heslop-Harrison, 1975). A inibição do tubo polínico ocorre no estigma e ainda por formação de calose em suas células (Ramalho *et al.*, 1989; Elleman & Dickinson, 1994; Bruckner *et al.*, 2005). Já autocompatibilidade gametofítica é caracterizada pela especificidade do pólen gerada pelo alelo S no genoma haplóide do grão de pólen (DeNettancourt, 1997; Charlesworth *et al.*, 2005). O tubo polínico só consegue chegar até o ovário e fecundar o óvulo se o alelo do pólen não estiver presente no genótipo da flor feminina. A reação de autoincompatibilidade ocorre no estilete inibindo o crescimento do tubo polínico (Herslop –Harrison, 1975; DeNettancourt, 1997; Hiscock & McInnis, 2003; Charlesworth *et al.*, 2005).

A família Malpighiaceae, com aproximadamente 1250 espécies distribuídas em 77 gêneros, é predominantemente neotropical, sendo menos de 12% dos seus gêneros nativos do velho mundo (Davis & Anderson, 2010). Grande parte das espécies de Malpighiaceae apresentam flores oleaginosas o que confere uma especialização ligada a mutualismos com polinizadores especializados que garantem a polinização cruzada (Anderson. 1979; Vogel,

1990 *et al.*). Embora eventos de autocompatibilidade já tenham sido relatados para a família (Sigrist & Sazima, 2004), em geral Malpighiaceae é considerada autoincompatível (Ferrer & Good, 2012) e algumas espécies apresentam autoincompatibilidade tardia (Sigrist & Sazima, 2004).

O maior gênero em Malpighiaceae é *Byrsonima*, com cerca de 150 espécies, distribuídas desde o sul do México, sudeste da Flórida e do Caribe até a região sudeste do Brasil (Judd *et al.*, 2008). Vários registros na literatura apontam tanto a existência de espécies autocompatíveis como autoincompatíveis (Rêgo & Albuquerque, 1989; Barros, 1992; Teixeira & Machado, 2000; Benezar & Pessoni, 2006; Costa *et al.*, 2006; Oliveira *et al.*, 2007; Bezerra *et al.*, 2009; Dunley *et al.*, 2009; Mendes *et al.*, 2011; Boas *et al.*, 2013). Todas as espécies de *Byrsonima* têm flores produtoras de óleos e são polinizadas por abelhas especialistas como as da tribo Centridine, entre outras (Anderson, 1979; Bushmann, 1987; Sigrist & Sazima, 2004).

Estudos sobre *B. sericea* DC têm focado basicamente em aspectos ecológicos. Os trabalhos de Flinte *et al.* (2006) e Guimarães *et al.* (2014) descrevem a formação de galhas nas estruturas reprodutivas de *B. sericea* e as consequências sobre as mesmas. A biologia reprodutiva e ecologia da polinização de *B. sericea* foram estudadas inicialmente por Silva (1990) e, posteriormente, aprofundados por Teixeira & Machado (2000), Dunley *et al.* (2009) e Rosa *et al.* (2007), onde foram descritos quatro aspectos: (1) *B. sericea* é uma espécie autoincompatível; (2) indivíduos de *B. sericea* podem apresentar duas formas dentro das populações, com ou sem elaióforos (glândulas de produção de óleo); (3) os principais polinizadores são as abelhas pertencentes as famílias Anthrophoridae (coletores de pólen e óleo), Apidae e Halictidae (coletores de pólen); e (4) a fragmentação florestal não afeta significativamente o sucesso reprodutivo.

Embora os estudos de biologia reprodutiva apontem *B. sericea* como espécie autoincompatível, não se conhece qual é a natureza desta incompatibilidade. Este trabalho teve como objetivo determinar o local de incompatibilidade em *Byrsonima sericea*, acompanhando o crescimento dos tubos polínicos com ferramentas de microscopia de fluorescência após polinizações controladas, para inferir o tipo de sistema de autoincompatibilidade que a espécie apresenta.

Material e Métodos

Área de estudo - O trabalho foi realizado na restinga de Guriri (18°43'33.69''S, 39°44' 59.09''O), município de São Mateus, estado do

Espírito Santo, entre novembro de 2012 e março de 2013. O tipo fisionômico da vegetação se enquadra como arbustiva aberta não inundável (Araujo, 2000; Menezes & Araujo, 2005), sobre terreno holocênico (Suguio *et al.*, 1982). O clima da região é quente e úmido (tipo Aw de Köppen), com estação seca no outono-inverno e estação chuvosa na primavera-verão (Panoso *et al.*, 1978). A temperatura média anual varia entre 22° C e 24° C e a precipitação anual está entre 1.000 e 1.250 mm (Nimer, 1989).

Espécie alvo - *Byrsonima sericea* DC. é uma espécie de porte arbóreo (3 – 20 m de altura), amplamente distribuída na Floresta Atlântica e bem representada nas restingas brasileiras (Araújo, 2000; Pereira *et al.*, 2001; Mamede & Francener, 2014) e no Cerrado (Texeira & Machado, 2000). Sua época de floração é entre os meses de outubro e março. As flores estão dispostas em inflorescências terminais com mais de 50 flores cada (Texeira & Machado, 2000 e observações pessoais). Como outras espécies de Malpighiaceae, *B. sericea* apresenta flores hermafroditas, amarelas, que possuem glândulas epiteliais chamadas de elaióforos cuja função é a produção de óleo como recurso para polinizadores. Três estiletos com estigmas secos compõem o pistilo; o ovário é súpero, tricarpelar e trilobular, com um único ovulo por lóculo (Texeira & Machado, 2000).

Tubos polínicos e incompatibilidade - Para estabelecer o local de incompatibilidade e caracterizar o crescimento de tubos polínicos, experimentos controlados de polinização foram realizados em sete (7) indivíduos de *B. sericea*. Inflorescências com botões no período de pré-antese foram isoladas com sacos de filó para evitar interferência de visitantes florais. Dois tipos de tratamento foram realizados em 200 flores: (1) autopolinização manual (N=124 flores) em que flores foram polinizadas com seu próprio pólen, ou pólen de flores da mesma inflorescência; e (2) polinização cruzada (controle, N=76) realizada em flores emasculadas durante a pré-antese e polinizadas com pólen de plantas separadas pelo menos 15 metros para reduzir as chances de parentesco. As flores manipuladas foram identificadas com cola e fitas coloridas de acordo com o tipo de tratamento que recebiam.

Para analisar o crescimento do tubo polínico em cada um dos tratamentos (autopolinização e polinização cruzada), as flores foram coletadas em intervalos de 12, 24, 48 e 72 horas (de 15 a 30 flores por horário e de 10 a 15 flores por indivíduo), fixadas em álcool 70% e depois preparadas em laboratório. As partes florais foram retiradas deixando somente os pistilos. Em seguida, os pistilos foram colocados em uma solução de hidróxido de sódio 9N e aquecidos em uma estufa a 80°C por 10 minutos. Posteriormente, os pistilos foram lavados com água corrente, colocados em lâminas, tingidos com azul de anilina 0,1% em K₃PO₄ 0,1M e observados ao microscópio de epi-fluorescência Bioval®

2000. Este protocolo foi adaptado de Martin (1959).

A avaliação do crescimento dos tubos polínicos foi realizada considerando presença de pontos de calose. A calose presente nos tubos polínicos fluoresce verde em presença de luz ultravioleta e são facilmente diferenciáveis do tecido do estilete (Martin, 1959). As imagens sempre que possível foram fotografadas e os dados registrados como presença /ausência de crescimento de tubo no estilete e penetração no ovário por horário. Para comparação dos resultados, foi utilizado um teste de contingência (Gotelli & Ellison, 2010).

Resultados

Em todos os pistilos observados foi verificada a presença de grãos de pólen no estigma (Figura 1a) e crescimento de tubos polínicos nos estiletos (Tabela 1). Foi registrado crescimento de tubos polínicos no estilete após 12 horas da polinização, tanto para o tratamento de autopolinização (53%), quanto para o de polinização cruzada (50%). Entretanto, só foram observados tubos polínicos penetrando nos óvulos das flores coletadas 24 horas após a polinização cruzada (28%, Tabela 1 e Figura 1b). Nos horários de 48 e 72 horas após a polinização cruzada houve 26 e 41% de penetração dos óvulos, respectivamente. Quando comparados os tratamentos e os horários não houve diferenças significativas ($P > 0,05$).

Embora os tratamentos de autopolinização tenham sido bem sucedidos em todos os horários para crescimento de tubo polínico no estilete (entre 39

Tabela 1. Crescimento dos tubos polínicos em pistilos de *Byrsonima sericea* DC em diferentes horários após os tratamentos de autopolinização e polinização cruzada. Para cada horário os dados são apresentados como a relação entre quantidade de estiletos e ovários com presença de tubos polínicos sobre a quantidade total de pistilos observados.

Tratamento	Horário (horas)			
	12	24	48	72
Estilete				
Autopolinização	17/32	16/32	15/29	12/31
Polinização cruzada (controle)	10/20	23/29	9/15	7/12
Ovário-Óvulos				
Autopolinização	0/32	3 ^a /32	0/29	0/31
Polinização cruzada (controle)	0/20	8/29	4/15	5/12

^aOvários com presença de tubos polínicos sem penetração de óvulos.

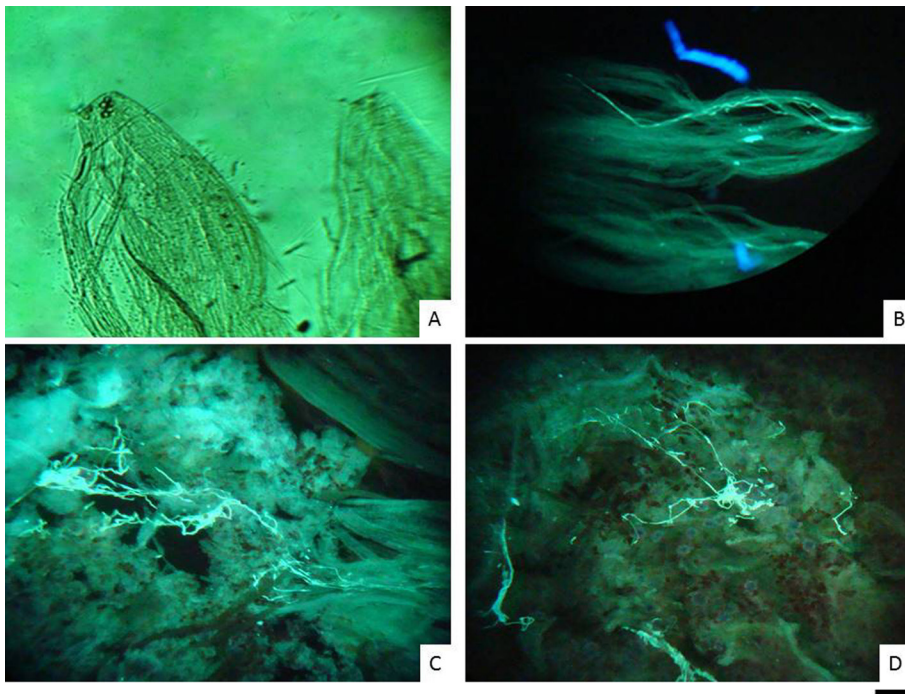


Figura 1. Pistilos de *Byrsonima sericea* DC mostrando (A) Grãos de pólen no estigma após 12 horas no tratamento da autopolinização, observados em microscópio de luz; (B) Tubos polínicos crescendo no estigma e estilete de *B. sericea* após 24 horas do tratamento de autopolinização, observado com técnicas de microscopia de fluorescência; (C e D) Tubos polínicos com comportamento errático ao chegarem ao ovário 24 horas após tratamentos de autopolinização em *B. sericea*. Barra da escala 200 µm.

e 53% dos pistilos observados), não foram registrados óvulos penetrados e deposições irregulares de calose foram notadas na última porção dos estiletos. Houve presença de tubos polínicos 24 horas após a autopolinização em três ovários (Tabela 1), entre tanto os tubos polínicos apresentaram comportamento errático e não penetraram nos óvulos (Figura 1c-d). A efetiva penetração de óvulos só foi observada em pistilos onde foi realizada polinização cruzada.

Discussão

O crescimento de tubos polínicos no estilete de *B. sericea* nos tratamentos de autopolinização e a ausência de penetração destes nos óvulos

permitiram inferir que o sistema de incompatibilidade nesta espécie é do tipo gametofítico. De igual forma o registro do comportamento errático dos tubos polínicos ao chegarem ao ovário, no tratamento de autopolinização (horário de 24 horas), sugere que ocorre falta de informação genética, gerando uma falta de reconhecimento proteico que direciona os tubos para a micrópila como discutido por Heslop-Harrison (1975) e Oliveira & Gibbs (1994). Este tipo de evento é comum em sistemas de incompatibilidade gametofítica em que as plantas conseguem distinguir o próprio pólen do pólen intraespecífico e inibir o crescimento, rejeitando-o ou impedindo seu desenvolvimento nas fazes pré-zigóticas (DeNettancourt, 1997; Frankling –Tong & Frankling, 2000, Chalersworth *et al.*, 2005. Oliveira & Maruyama, 2014), ou pós-zigóticas (Karasawa, 2009; Widmer *et al.*, 2009).

O sucesso de penetração de óvulos após a polinização cruzada (controle) em *B. sericea* nos horários de 24, 48 e 72 horas, esteve abaixo de 50%. No trabalho de Teixeira & Machado (2000), as autoras observaram baixo sucesso reprodutivo no tratamento controle para esta mesma espécie, e sugeriram que a causa pode estar relacionada com o tempo de visita dos polinizadores. O movimento das abelhas em uma mesma inflorescência acabaria promovendo a geitonogamia e, em consequência, reduzindo a deposição de pólen proveniente de flores de outros indivíduos. Contudo, os dados aqui apresentados sugerem que na polinização cruzada o sucesso pode também ser baixo por razões intrínsecas à espécie. Para um melhor entendimento deste fenômeno estudos histoquímicos são necessários para descrever as interações que ocorrem entre os grãos de pólen e as proteínas presentes no estigma e estilete de *B. sericea*.

A autoincompatibilidade em *B. sericea* foi constatada por Teixeira & Machado (2000), Costa *et al.* (2006) e Dunley *et al.* (2009) e ratificada aqui com o uso de técnicas de microscopia de fluorescência que permitiram inferir o local de incompatibilidade como sendo o estilete, assim como sugerir que a espécie possui sistema de incompatibilidade gametofítico. Estudos de biologia reprodutiva para o gênero *Byrsonima* relatam tanto a ocorrência de autogamia, quanto sistemas de incompatibilidade, sendo que algumas espécies aparentam ser autoincompatíveis, como no caso de *B. cydoniifolia* A. Juss (Sazan *et al.*, 2013); *B. crassifolia* L. Kunth (Rêgo & Albuquerque, 1989); *B. gardnerana* A. Juss (Costa *et al.*, 2006; Bezerra *et al.*, 2009); *B. lucida* (Mill.) DC (Downing & Liu, 2013); *B. microphylla* A. Juss (Costa *et al.*, 2006); *B. pachyphylla* A. Juss (Boas *et al.*, 2013) e *B. umbellata* Mart ex. A. Juss (Mendes *et al.*, 2011).

Por outro lado, *B. rotunda* Griseb (Mendes *et al.*, 2011); *B. coccolobifolia* Kunth (Benezar & Pessoni, 2006) foram apontadas como espécies autocompatíveis. Barros (1992) observou certo grau de autocompatibilidade nas sete espécies de *Byrsonima* por ele estudadas. No estudo de Oliveira *et*

al. (2007), *B. intermedia* A. Juss é descrita como autocompatível. Entretanto, recentemente foi caracterizada como autoincompatível por Boas *et al.* (2013). O uso de ferramentas de microscopia de fluorescência permitiria esclarecer esta controvérsia, como também constatar o sistema gametofítico como padrão para o gênero.

O sistema de incompatibilidade gametofítico é o mecanismo mais utilizado pelas plantas com flores para evitar a autopolinização (DeNettancourt, 1997; Charlesworth *et al.*, 2005; Harder & Barrett, 2006; Karasawa, 2009; Oliveira & Maruyama, 2014) incluindo a *B. sericea*. Até o momento, apenas duas formas deste mecanismo foram elucidadas em termos moleculares, revelando diferentes estratégias dos genes S que surgiram de forma independente na evolução (Franklin-Tong & Franklin, 2003). Ainda são limitados os dados para estabelecer um padrão que determine a extensão da diversidade destes mecanismos para as angiospermas. O gênero *Byrsonima*, pela sua ampla distribuição em ambientes diversos e o registro de espécies autógamas e autoincompatíveis se apresenta como um bom candidato para este fim.

Agradecimentos

Os autores agradecem a Fundação de Amparo a Pesquisa do Espírito Santo- FAPES e ao Conselho de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq) pelo apoio financeiro, e aos dois revisores anônimos que contribuíram com a revisão deste manuscrito; a P. Silva pela colaboração com a edição da figura e comentários ao texto. Este trabalho faz parte do projeto de DCR CNPq/FAPES (processo No. 53987233/2011) coordenado pela primeira autora e em parte é resultado da monografia de conclusão de curso em Ciências Biológicas (CEUNES/ UFES) da segunda autora.

Literatura Citada

- Anderson, W.R. 1979. Floral conservatism in neotropical Malpighiaceae. *Biotropica*, 11 (3): 219–223.
- Araujo, D.S.D. 2000. Análise florística e fitogeográfica das restingas do Estado do Rio de Janeiro. Tese de Doutorado em Ecologia, UFRJ, Rio de Janeiro. 176 p.
- Barros, M.A.G. 1992. Fenologia da floração, estratégias reprodutivas e polinização de espécies simpáticas do gênero *Byrsonima* Rich (Malpighiaceae). *Revista Brasileira de Biologia*, 52(2): 343–353.

- Benezar, R.M.C. & Pessoni, L.A. 2006. Biologia floral e sistema reprodutivo de *Byrsonima coccolobifolia* (Kunth) em uma savana amazônica. *Acta Amazônica* 36 (2): 159–168.
- Bezerra, E.S., Valentina, A. & Machado, I.C. 2008. Biologia reprodutiva de *Byrsonima gardnerana* A. Juss. (Malpighiaceae) e interações com abelhas *Centris* (Centridini) no Nordeste do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, 32 (1): 71-84.
- Boas, J.C.V., Fava, W.S., Laroca, S. & Sigrist, M.R. 2013. Two sympatric *Byrsonima* species (Malpighiaceae) differ in phenological and reproductive patterns. *Flora*, 208 (5-6): 360–369.
- Bruckner, C.H.; Suassuna, T. De M.F.; Rêgo, M.M. & Nunes, E.S. 2005. Auto-incompatibilidade do maracujá - implicações no melhoramento genético p.315-338. In: Faleiro, F.G.; Junqueira, N.T.V.; Braga, M.F. (Eds.). *Maracujá: germoplasma e melhoramento genético*. Planaltina: Embrapa Cerrados. 338 p.
- Charlesworth, D., Vekemans, X., Castric, V. & Glémin, S. 2005. Plant self-incompatibility systems: a molecular evolutionary perspective. *New Phytologist*, 168(1): 61–69.
- Costa, C.B.N., Antonio, J., Costa, S. & Ramalho, M. 2006. Biologia reprodutiva de espécies simpátricas de Malpighiaceae em dunas costeiras da Bahia, Brasil. *Ecologia*, 3 (1): 103–114.
- Davis, C.C. & Anderson, W.R. 2010. A complete generic phylogeny of Malpighiaceae inferred from nucleotide sequence data and morphology. *American Journal of Botany*, 97 (12):2031–2048.
- DeNettancourt, D. 1997. Incompatibility in angiosperms. *Sex Plant Reproduction*, 10 (4):185–199.
- Downing, J.L & Liu, H. 2013. Self-Incompatibility in *Byrsonima lucida* (Malpighiaceae), a threatened pine rockland specialist. *Castanea*, 78 (2): 95-102.
- Dunley, B.S., Freitas, L. & Galetto, L. 2009. Reproduction of *Byrsonima sericea* (Malpighiaceae) in restinga fragmented habitats in Southeastern Brazil. *Biotropica*, 41 (6):692-699.
- Elleman, C.J. & Dickinson, H.G. 1994. Pollen-stigma interaction during sporophytic self-incompatibility in *Brassica oleracea*. p. 67-87. In: Williams, E. G.; Clarke, A. E.; Knox, R. B (Eds.). *Advances in cellular and molecular biology of plants: genetic control of self- incompatibility and reproductive development in flowering plants*. Dordrecht: Kluwer Academic Publishers. 442 p.
- Ferrer, M.M. & Good, S.V. 2012. Self-sterility in flowering plants: preventing self-fertilization increases family diversification rates. *Annals of Botany*,

110 (3): 535-553.

- Flinte, V., Araujo, C. O., Macedo M. V., & Monteiro, R. F. 2006. Insetos fitófagos associados ao murici da praia, *Byrsonima sericea* (Malpighiaceae) na Restinga de Jurubatiba (RJ). *Revista Brasileira de Entomologia*, 50 (4): 512–523.
- Franklin-Tong, V. E. & Franklin, F. C. H. 2003. The different mechanisms of gametophytic self-incompatibility. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 358 (1434):1025–1032.
- Gotelli, N.J. & Ellison A.M. 2010. *Princípios de Estatística em Ecologia*. Artmed. Porto Alegre, 528 p.
- Guimarães, A. L. A., Cruz, S. M. S & Vieira, A. C. M. 2014. Structure of floral galls of *Byrsonima sericea* (Malpighiaceae) induced by *Bruggmanniella byrsonimae* (Cecidomyiidae, Diptera) and their effects on host plants. *Plant Biology*, 16 (2): 467–475.
- Harder, L.D & Barrett, S.C.H. 2006. *Ecology & Evolution of Flowers*. Oxford University Press, Oxford, 370 p.
- Heslop-Harrison, J. 1975. Incompatibility and the pollen-stigma interaction. *Annual Review of Plant Physiology*, 26:403-25.
- Hiscock, S.J. & McInnis, S.M. 2003. The Diversity of Self-incompatibility systems in Flowering Plants. *Plant Biology*, 5 (1): 23–32.
- Judd, W.S., C.S. Campbell, E.A. Kellogg, P.F. Stevens, and M.J. Donoghue. 2008. *Plant systematics: a phylogenetic approach*, 3rd ed. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts. 565 p.
- Karasawa, M. M. G. 2009. *Diversidade Reprodutiva de Plantas*. Ribeirão Preto, SP: Sociedade Brasileira de Genética, 113 p.
- Levin, D. A. 1971. The origin of reproductive isolating mechanisms in flowering plants. *Taxon*, 20 (1): 91-113.
- Lloyd, D. G. & Schoen D. J. 1992. Self- And Cross-Fertilization In Plants: I. Functional Dimensions *Int. J. Plant Sci.* 153(3):358-369.
- Mamede, M. C. H. & Francener, A. 2014. *Byrsonima*. Rio de Janeiro: Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/listaBrasil/FichaPublicaTaxonUC/FichaPublicaTaxonUC.do?id=FB8845> (26/11/2014).
- Martin, F.N. 1959. Staining and observing pollen tubes in the style by means of fluorescence. *Stain Technology* 34 (3): 125-128.
- Mendes, F. N., Rêgo, M. M. C. & Albuquerque, P. M. C. 2011. Fenologia e biologia reprodutiva de duas espécies de *Byrsonima* Rich. (Malpighiaceae) em área de Cerrado no Nordeste do Brasil. *Biota Neotropica*, 11 (4): 103-115.

- Menezes, L. F. T. & Araújo, D. S. D. 2005. Formações vegetais da Restinga da Marambaia, p.67-120. In: Menezes, L. F. T., Peixoto A. L. & Araujo D. S. D. (Orgs.). História Natural da Marambaia. Seropédica: Editora da Universidade Federal Rural do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. 288 p.
- Newbigin, E., Anderson, M.A. & Clarke, A.E. 1993. Gametophytic self-incompatibility systems. *The Plant Cell*, 5: 1315-1324.
- Nimer, E. 1989. Climatologia do Brasil. IBGE, Rio de Janeiro, 422p.
- Oliveira-Filho, A.T., Jarenkow, J.A. & Rodal, M.J.N. 2006. Floristic relationships of seasonally dry forests of eastern South America based on tree species distribution patterns, p.159–192. In: Pennington, R.T., Lewis, G.P., Ratter, J.A. (eds). Neotropical savannas and seasonally dry forests: plant diversity, biogeography and conservation. The Systematics Association Special Volume, Series 69. Boca Raton: CRC Press, 504 p.
- Oliveira, P.E. & Gibbs, P.E. 1994. Pollination biology and breeding systems of six *Vochisia* species (Vochysiaceae) in central Brazil. *Journal of Tropical Ecology*, 10 (4),509-522.
- Oliveira, P.E. & Maruyama, P.K. 2014. Sistemas reprodutivos, p. 71-92. In: Rech, A.R., Agostini, K., Oliveira P.E. & Machado I.C. (Orgs.). Biologia da Polinização. Editora Projeto Cultural, Rio de Janeiro, 527 p.
- Panoso, L.A., Gomes, I.A., Pires-Filho, A.M. & Bonelli, S. 1978. Levantamento de reconhecimento dos solos do Estado do Espírito Santo. Rio de Janeiro. Empresa Brasileira de Pesquisa Agropecuária, Boletim Técnico, 45. 461 p.
- Pereira, M.C.A., Araujo, D.S.D. & Pereira, O. J. 2001. Estrutura de uma comunidade arbustiva da Restinga de Barra de Maricá—RJ. *Revista Brasileira de Botânica*, 24 (3): 273–281.
- Rêgo, M. & Albuquerque, P. 2006. Polinização do murici. São Luís: UFMA editora. 82 p.
- Rieseberg, L.H. & Carney. S.E. 1998. Tansley Review No. 102: Plant hybridization. *New Phytologist*. 140 (4): 599-624.
- Rosa, J.F., Ramalho, M., Monteiro, D. & Silva, M.D. 2007. Sucesso Reprodutivo de *Byrsonima sericea*DC. (Malpighiaceae) e Diversidade de Abelhas Centridini (Apidae). *Revista Brasileira de Biociências*, 5 (1): 168-170.
- Sazan, M.S., Bezerra, A.D.M., & Freitas, B.M. 2014. Oil collecting bees and *Byrsonima cydoniifolia* A. Juss. (Malpighiaceae) interactions: the prevalence of long-distance crosspollination driving reproductive success. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 86 (1): 347-358.
- Schifino-Wittmann, M.T. & Dall’agnol, M. 2002. Autoincompatibilidade em plantas. *Ciência Rural*, 32(6): 1083-1090.
- Sigrist, M.R. & Sazima, M. 2004. Pollination and Reproductive Biology of