

**ANDRÉIA APARECIDA FRANCO**

**ANATOMIA FOLIAR COMPARADA E FENOLOGIA  
DE ESPÉCIES DE RUBIACEAE DE SUB-BOSQUE  
NO NORTE DE MATO GROSSO**

**Dissertação de Mestrado**

**ALTA FLORESTA-MT**

**2017**



**UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO  
FACULDADE DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E  
AGRÁRIAS  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM  
BIODIVERSIDADE E AGROECOSSISTEMAS  
AMAZÔNICOS**



**ANDRÉIA APARECIDA FRANCO**

**ANATOMIA FOLIAR COMPARADA E FENOLOGIA  
DE ESPÉCIES DE RUBIACEAE DE SUB-BOSQUE  
NO NORTE DE MATO GROSSO**

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos, para a obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos.

Orientadora Profa Dra Ivone Vieira da Silva  
Coorientadora Profa Dra Eliana Gressler

**ALTA FLORESTA-MT**

**2017**

AUTORIZO A DIVULGAÇÃO TOTAL OU PARCIAL DESTES  
TRABALHO, POR QUALQUER MEIO, CONVENCIONAL OU  
ELETRÔNICO, PARA FINS DE ESTUDO E PESQUISA, DESDE  
QUE CITADA A FONTE.

Catálogo na publicação  
Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias

**Walter Clayton de Oliveira CRB 1/2049**

F825a FRANCO, Andréia Aparecida  
Anatomia Foliar e Fenologia de Espécies de Rubiaceae de  
Sub-Bosque no Norte do Estado de Mato Grosso / Andréia  
Aparecida Franco.– Alta Floresta-MT, 2018.  
126 f.; 30 cm. (ilustrações) Il. color. (sim)

Trabalho de Conclusão de Curso  
(Dissertação/Mestrado) – Curso de Pós-graduação Stricto  
Sensu (Mestrado Acadêmico) Biodiversidade e  
Agroecossistemas Amazônicos. Área de Concentração:  
Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos, Faculdade de  
Ciências Biológicas e Agrárias, Campus de Alta Floresta,  
Universidade do Estado de Mato Grosso, 2018.  
Orientador:: Dra. Ivone Vieira da Silva.  
Coorientador: Dra. Eliana Gressler.

1.Morfo-Anatomia Foliar. 2.Amazônia. 3.Floração. 4.  
Frutificação. 5. Plasticidade. I. Andréia Aparecida Franco II.  
Anatomia Foliar e Fenologia de Espécies de Rubiaceae de Sub-  
Bosque no Norte do Estado de Mato Grosso

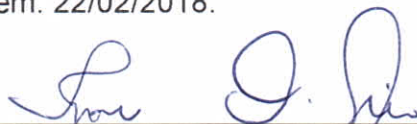
CDU 581.4

# ANATOMIA FOLIAR COMPARADA E FENOLOGIA DE ESPÉCIES DE RUBIACEAE DE SUB-BOSQUE NO NORTE DE MATO GROSSO

**Andréia Aparecida Franco**

Dissertação apresentada à Universidade do Estado de Mato Grosso, como parte das exigências do Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos, para a obtenção do título de Mestre em Biodiversidade e Agroecossistemas Amazônicos.

Aprovada em: 22/02/2018.



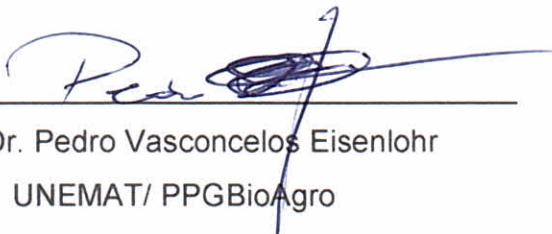
---

Profa. Dra. Ivone Vieira da Silva  
Orientadora – UNEMAT/ PPGBioAgro



---

Dra. Eliana Gressler  
Coorientadora/ PPGBioAgro



---

Prof. Dr. Pedro Vasconcelos Eisenlohr  
UNEMAT/ PPGBioAgro



---

Dra. Aline Oriani  
UNESP/ Instituto de Biocências

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho a minha mãe Sirlene, meus irmãos, meu esposo Edilson e minha grande amiga Angélica O. Muller, que gentilmente me apoiaram, me incentivaram e foram meu alicerce durante esses dois anos. À minha orientadora Ivone Vieira da Silva por acreditar em mim e sempre me encorajar. Gratidão infinita a vocês.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus pelo dom da vida e pela oportunidade de aprendizado e convivência com os colegas de turma, equipe do laboratório e professores.

À Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), onde fiz minha graduação e estou finalizando mais uma etapa da vida acadêmica, a pós-graduação.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Mato Grosso (FAPEMAT) pela concessão de bolsa.

À Carla P. Bruniera e Daniela C. Zappi pela determinação das espécies.

À Fundação Ecológica do Cristalino (FEC) pela permissão de pesquisa e suporte logístico nas duas áreas de estudo.

À minha orientadora Dr. Ivone Vieira da Silva que aceitou esse desafio, foi paciente diante das minhas dificuldades e carinhosamente me direcionou e me incentivou. Fez o papel de mãe, de amiga, de professora e de orientadora ao longo desses dois anos. À minha coorientadora Eliana Gressler, por se fazer presente e compartilhar seus conhecimentos, por sempre estar dispostas a contribuir e ajudar. Ambas foram fundamentais para o meu crescimento pessoal, científico e profissional.

Ao meu esposo Edilson Vobedo por estar ao meu lado durante esse tempo, sempre me incentivando diante das adversidades.

À minha amiga Angélica O. Muller, pelo apoio e suporte emocional, foi fundamental nessa etapa como amiga, terapeuta, conselheira, companheira de campo e laboratório, companheira do dia a dia e minha secretária pessoal. Entendeu o meu silêncio, respeitou as diferenças e se fez presente quando eu precisei, mas mesmo quando eu não precisava permaneceu ali comigo. Gratidão infinita.

Por fim, a todos que foram presentes e contribuíram nesse processo. Aos amigos de laboratórios em especial Vera Lúcia e Norberto, pela disposição em ensinar as técnicas de laboratório necessário para o desenvolvimento desse trabalho. Aos demais amigos e colegas pelo apoio e incentivo, Joice Sebold, Solange Arrolho, Nice Oliveira, Laura Sanches, Maísa Lauton, Virgília Rocha, Jaqueline Amorim, Karla Bento, James Bilce, Márcia Mitiko, Reginaldo Carvalho e Vanuza Martins.

## SUMÁRIO

LISTA DE TABELAS.....	vii
LISTA DE FIGURAS.....	x
RESUMO GERAL.....	xv
ABSTRACT GERAL.....	xvi
1. INTRODUÇÃO GERAL.....	18
2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	20
3. CAPÍTULOS.....	23
3.1. Anatomia foliar comparada de Rubiaceae de sub-bosque no norte do estado de Mato Grosso <sup>1</sup> .....	23
RESUMO.....	24
ABSTRACT.....	24
INTRODUÇÃO.....	25
MATERIAIS E MÉTODOS.....	26
ÁREA DE ESTUDO.....	27
ESPÉCIES ESTUDADAS.....	27
COLETA DE DADOS.....	27
ANÁLISE DOS DADOS.....	28
RESULTADOS.....	28
ANÁLISE DE AGRUPAMENTO.....	30
DISCUSSÃO.....	30
CONCLUSÕES.....	33
AGRADECIMENTOS.....	34
REFERÊNCIAS.....	34
3.2. Leaf plasticity, fruit production and survival of <i>Palicourea racemosa</i> in sun-shade conditions in the Amazon rainforest understory <sup>2</sup> .....	46
ABSTRACT.....	47
1. Introduction.....	47
2. Material and Methods.....	50
<b>2.1. Study area</b> .....	50
<b>2.2. Environmental light conditions</b> .....	51
<b>2.3. Morphological and anatomical leaf traits</b> .....	51
<b>2.4. Leaf phenology and fruit production</b> .....	52
<b>2.5. Statistical analysis and plasticity index</b> .....	53
3. Results.....	54
<b>3.1. General leaf traits of <i>Palicourea racemosa</i></b> .....	54

<b>3.2. Sun-shade light environment and morpho-anatomical comparisons</b> .....	54
<b>3.3. Phenology in sun-shade plants</b> .....	56
4. Discussion .....	57
<b>4.1. General leaf morpho-anatomy</b> .....	57
<b>4.2. Sun-shade comparisons in leaf traits</b> .....	60
<b>4.3. Sun-shade phenological patterns and leaf damage</b> .....	62
5. Conclusions .....	64
Acknowledgements .....	65
References .....	65
3.3. Fenologia reprodutiva de <i>Palicourea racemosa</i> no sub-bosque de floresta úmida no sul da Amazônia, Brasil <sup>3</sup> .....	78
Resumo .....	79
Abstract .....	79
1. INTRODUÇÃO .....	79
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	80
<b>2.1. Espécie estudada</b> .....	80
<b>2.2. Áreas estudadas</b> .....	81
<b>2.3. Coleta e análise de dados</b> .....	81
3. RESULTADOS E DISCUSSÃO .....	82
4. CONCLUSÕES .....	86
5. AGRADECIMENTOS .....	86
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS .....	86
3.4. Fenologia de espécies subarbustivas de <i>Palicourea</i> (Rubiaceae) em floresta ombrófila densa na Amazônia, norte de Mato Grosso <sup>4</sup> .....	89
Resumo .....	90
Abstract .....	90
Introdução .....	91
Material e Métodos .....	94
Resultados .....	97
Discussão .....	101
Agradecimentos .....	105
Referências .....	105
4. CONSIDERAÇÕES FINAIS .....	126



## LISTA DE TABELAS

TABELAS Página

### CAPÍTULO 1

TABELA 1. Espécies dos gêneros *Palicourea* Aubl. e *Psychotria* L., estudadas nas RPPN's Cristalino (RPPN's), Reserva florestal do Floresta Amazônica Hotel Resort (RFA) e área em Nova Canaã do Norte MT.....38

TABELA 2. Matriz de presença e ausência dos caracteres anatômicos foliares apresentados por espécies de *Palicourea* Aubl. e *Psychotria* L., coletadas nas RPPN's Cristalino (RPPN's), Reserva florestal do Floresta Amazônica Hotel Resort (RFA) e Canaã do Norte MT. (1= presença e 0= ausência).....39

### CAPÍTULO 2

TABELA 1. Morphological and anatomical traits measured in sun-shade leaves of *Palicourea racemosa* in the Amazon rainforest understory, Brazil. Mean  $\pm$  standard deviation and level of significance ( $p$ ) in the Tukey test or Mann-Whitney rank sum test (<sup>M</sup>). PI = plasticity index. The morphological plasticity index (PI<sub>m</sub>) and anatomical plasticity index (PI<sub>a</sub>) are shown.....73

TABELA 2. Comparisons of leaf phenology (number or proportion of leaves per crown) of *Palicourea racemosa* among seasons (rainy and dry; Wilcoxon matched pairs test), and between sun and shade plants in each season (Mann-Whitney test). ns: not significant.....74

### CAPÍTULO 3

TABELA 1. Resultados da análise estatística circular para a ocorrência de sazonalidade no início e pico das fenofases reprodutivas de *Palicourea*

*racemosa* em duas áreas de floresta ombrófila densa no norte de Mato Grosso, Brasil. Compr. vetor médio: comprimento do vetor médio. A duração das fenofases é expressa em meses.....84

#### CAPÍTULO 4

TABELA 1. Valores médios  $\pm$  desvio padrão (mínimo-máximo) de variáveis individuais e fenológicas de quatro populações de *Palicourea* em floresta ombrófila densa no norte de Mato Grosso, Brasil. O traço indica variável não avaliada.....113

TABELA 2. Resultados do teste pareado de Wilcoxon das fenofases vegetativas de três populações de *Palicourea* comparando estação seca (maio-setembro) e chuvosa (outubro-abril). Os valores de  $p < 0,05$  indicam diferença significativa entre as estações; a estação com os maiores valores é apresentada entre parênteses.....114

TABELA 3. Resultados do teste comparativo (Mann-Whitney) entre as populações (fenologia vegetativa) e espécies de *Palicourea* (fenologia reprodutiva) quanto ao número máximo mensal de folhas e estruturas reprodutivas por copa e a duração das fenofases. Legenda: defle (*P. deflexa*), pruni (*P. prunifolia*), racem (*P. racemosa*). \* $p < 0,05$ ; \*\* $p < 0,01$ ; \*\*\* $p < 0,001$ ; ns: não significativo.....115

TABELA 4. Resultados da análise estatística circular para a ocorrência de sazonalidade no início e pico das fenofases reprodutivas de três espécies de *Palicourea* (Rubiaceae), em duas áreas de floresta ombrófila densa no norte de Mato Grosso, Brasil. **A.** Teste de sazonalidade. **B.** Comparação das datas médias entre as espécies (teste de Watson-Williams, em que  $p < 0,05$  indica diferença significativa). Fenofases: Bot. = botão, Ant. = antese, lmat. = fruto imaturo, Mad. = fruto maduro. Compr. vetor médio = comprimento do vetor médio.....116

TABELA 5. Relação entre as variáveis climáticas e a fenologia reprodutiva das espécies de *Palicourea* de floresta ombrófila densa, norte de Mato Grosso, considerando os resultados dos modelos lineares generalizados (GLM) Tmín: temperatura mínima. Tméd: temperatura média. Tmáx: temperatura máxima. Precip: precipitação. Fotop: fotoperíodo. O sinal indica o tipo de relação entre a fenofase e a variável climática: positiva (+) ou negativa (-). O número entre parênteses representa o mês da correlação com menor valor de “p”: mês de ocorrência do evento fenológico (0), um mês antes do evento (1), dois meses antes do evento (2), três meses antes do evento (3). \*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001. ns: não significativo.....117

## LISTA DE FIGURAS

FIGURAS Página

### CAPÍTULO 1

FIGURA 1. (A) Detalhe do estômato paracítico com células guarda reniformes de *Palicourea colorata*; (B) Células epidérmicas abaxiais com paredes sinuosas em *Palicourea amplexans*; (C) Células epidérmicas abaxiais com paredes curvas em *Palicourea rosea*; (D) Células epidérmicas adaxiais com paredes retas em *Palicourea tomentosa*; (E) Células epidérmicas adaxiais com paredes sinuosas de *Palicourea prunifolia*; (F) Células epidérmicas adaxiais com paredes curvas de *Palicourea bracteocardia* (Figuras com barra com 30  $\mu\text{m}$ ).....40

FIGURA 2. (A) Nervura central de *Palicourea aff. macrobotrys*, evidenciando sistema vascular em formato de arco e presença de feixes acessórios; (B) Feixe colateral com presença de fibras periclinais em *Palicourea racemosa*; (C) Lâmina foliar de *Palicourea subicuspidata*, apresentando câmara subestomática não volumosa; (D) Feixe secundário presente no mesofilo de *Palicourea rosea*; (E) Lâmina foliar de *Palicourea tomentosa*, mostrando cutícula com menos de 25% de tamanho em relação as células da epiderme. (Figura A barra com 150  $\mu\text{m}$ ; Figura B-E barra com 30  $\mu\text{m}$ ).....41

FIGURA 3. (A) Tricoma tector unisseriado unicelular de *Palicourea rosea*; (B) Tricoma tector unisseriado multicelular ornamentando de *Palicourea tomentosa*; (C) *Palicourea platypoda* com células adaxiais papilosas e abaxiais achatadas e estômatos nivelados; (D) *Palicourea colorata* com células adaxiais quadradas e abaxiais arredondadas e estômatos nivelados; (E) *Palicourea racemosa* com 2 camadas de parênquima paliçádico e (F) Feixe anficrival; (G) *Palicourea bracteocardia* com monocristais e (H) células sinuosas; (I) *Palicourea rosea* mostrando detalhes de células sinuosas; (J) Domácias em *Palicourea platypoda* em fenda; (K) Colênquima angular de *Palicourea prunifolia*; (L) *Psychotria*

*robusta* com presença de colênquima lacunar e (M) lamelar; (N) Colênquima anelar em *Palicourea deflexa*; (O) Cristais estiloides em *Palicourea amplexans*; (P) Drusas no mesofilo de *Palicourea cf. nitidella*; (Q) Feixe de ráfides em *Palicourea aff. macrobotrys* e (R) Ráfides em *Palicourea platypoda*. (Figura F, H e J, barra com 100 µm; demais figuras barra com 30 µm).....42

FIGURA 4. Dendrograma a partir de caracteres anatômicos foliares de 15 espécies dos gêneros *Palicourea* e *Psychotria* ocorrentes no norte do estado de Mato Grosso, Brasil.....44

## CAPÍTULO 2

FIGURA 1. General aspects of the sun (A) and shade (B) environments considered in the present study, in an Amazon rainforest fragment, Mato Grosso State, Brazil. Sun (C) and shade (D) individuals of *Palicourea racemosa* (Rubiaceae) growing in the understory, with unripe (orange) and ripe fruits (black). (E) Size comparison between sun (two on left) and shade leaves (two on right). (F) Individual with slight and severe damaged leaves. (G) Apical branch predated.....75

FIGURA 2. Anatomical traits of *Palicourea racemosa* (Rubiaceae) leaves in sun (left images) and shade (right images) conditions in the Amazon rainforest understory, Brazil. (A-B) Frontal view of the upper epidermal face. (C-D) Frontal view of the lower epidermal face, with stomata and trichome scars. t – trichome scar. (E-F) Cross section of the leaf blade, showing stomata in the same level of the epidermal cells. (G-H) Cross section of the midrib region.....76

FIGURA 3. Leaf and fruiting phenology of *Palicourea racemosa* plants growing under sun (yellow) and shade (blue) conditions in the Amazon rainforest (Mato Grosso State, Brazil), from June/2016 to May/2017. (A-B) Monthly percentage of plants and mean production ( $\pm 1$  SE) of new/young and mature leaves per crown. (C) Monthly percentage of plants with severe damaged leaves and mean

percentage ( $\pm 1$  SE) of severe damaged leaves per crown. (D) Monthly percentage of plants with fruits and number of fruits per crown (unripe and ripe together). Significance levels determined by t-test or Mann-Whitney test: \*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; ns, not significant. The blue shadow represents the rainy season in the study region.....77

### CAPÍTULO 3

FIGURA 1. Aspectos gerais de *Palicourea racemosa* (Rubiaceae) em duas áreas de floresta ombrófila densa no norte de Mato Grosso, Brasil. (a) Indivíduo portando frutos imaturos; (b) Inflorescência com botões; (c) Inflorescência com botões, flores e frutos imaturos em estágio inicial; (d) Frutos imaturos; (e) Frutos imaturos iniciando a maturação; (f) Frutos imaturos alaranjados e maduros pretos.....81

FIGURA 2. Variáveis meteorológicas e fenologia reprodutiva de *Palicourea racemosa* no período de junho/2016 a maio/2017, norte do estado de Mato Grosso, Brasil. (A) Fotoperíodo para a latitude 9°; (B) Precipitação e temperaturas mínima, média e máxima na região do estudo (Fonte: Estação Meteorológica da UNEMAT, Alta Floresta); (C) Fenofases reprodutivas de *P. racemosa* nas duas áreas estudadas. RMS: RPPN Mirante da Serra, município de Novo Mundo. RFA: Reserva do Floresta Amazônica Hotel Resort, município de Alta Floresta. O fundo cinza representa a estação chuvosa.....83

FIGURA 3. Comparação da produção máxima anual de estruturas reprodutivas por indivíduo de *Palicourea racemosa* no período de estudo (junho/2016 a maio/2017), entre a RPPN Mirante da Serra (RMS) e a Reserva do Floresta Amazônica Hotel Resort (RFA), norte do Mato Grosso, Brasil. Foram considerados na análise somente os indivíduos que floresceram e/ou frutificaram durante o estudo. Valores do teste de Mann-Whitney comparativo entre as duas áreas: botão ( $Z = -0,29$ ;  $p = 0,77$ ), antese ( $Z = -0,44$ ;  $p = 0,66$ ), fruto imaturo ( $Z =$

-0,10;  $p = 0,92$ ) e fruto maduro ( $Z = -0,46$ ;  $p = 0,65$ ).....86

## CAPÍTULO 4

FIGURA 1. *Palicourea deflexa*. **A.** Aspecto geral de um indivíduo (com frutos imaturos). **B.** Folhas novas e inflorescência em estágio inicial. **C.** Início do desenvolvimento dos frutos. **D.** Frutos imaturos. **E.** Frutos maduros. **F.** Folhas danificadas. **G.** Folhas adultas murchas.....118

FIGURA 2. *Palicourea racemosa*. **A.** Aspecto geral de um indivíduo (com frutos imaturos). **B.** Botões e flores. **C-D.** Frutos imaturos. **E-F.** Frutos imaturos em maturação (alaranjados) e maduros (pretos). **G.** Folhas senescentes e adultas danificadas. **H.** Folhas adultas danificadas e início de produção de folhas novas.....119

FIGURA 3. *Palicourea prunifolia*. **A.** Aspecto geral de um indivíduo. **B-C.** Brotamento (emissão de folhas novas). **D.** Botão floral. **E.** Flores. **F-G.** Frutos imaturos. **H.** Frutos maduros. **I.** Folhas secas.....120

FIGURA 4. Localização e vegetação das áreas de estudo. **A-B.** RPPN Mirante da Serra (RMS), município de Novo Mundo. **C-D.** Reserva do Floresta Amazônica Hotel Resort (RFA), município de Alta Floresta.....121

FIGURA 5. Variáveis climáticas na região do estudo (Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil) no período de junho/2016 a maio/2017. Legenda: temperatura mínima ( $T_{mín}$ ), média ( $T_{méd}$ ) e máxima ( $T_{máx}$ ). A barra representa a estação chuvosa na região (outubro a abril).....122

FIGURA 6. Padrão anual das fenofases vegetativas de três espécies de *Palicourea* em duas áreas de floresta ombrófila densa, Mato Grosso, Brasil. N folhas: número médio de folhas por copa. % folhas: porcentagem média mensal de folhas danificadas por copa. % ind.: porcentagem de indivíduos na fenofase.

A escala de “N folhas” varia entre espécies. RFA: Reserva do Floresta Amazônica Hotel Resort. RMS: RPPN Mirante da Serra. Estação chuvosa na região de estudo: outubro a abril.....123

FIGURA 7. Fenologia reprodutiva de três espécies de *Palicourea* em floresta ombrófila densa, Mato Grosso, Brasil. Estação chuvosa na região de estudo: outubro a abril.....124

FIGURA 8. Quantidade média mensal de estruturas reprodutivas por copa em três espécies de *Palicourea* em floresta ombrófila densa, Mato Grosso, Brasil. A escala varia entre as fenofases e o cálculo considerou somente os indivíduos reprodutivos em cada mês. Estação chuvosa na região de estudo: outubro a abril.....125



## RESUMO GERAL

FRANCO, Andréia Aparecida. M.Sc. Universidade do Estado de Mato Grosso, fevereiro de 2018. **Anatomia foliar e fenologia de espécies de Rubiaceae de sub-bosque no norte do estado de Mato Grosso.** 2018. Orientadora: Dra. Ivone Vieira da Silva. Coorientadora: Dra Eliana Gressler.

Rubiaceae destaca-se no domínio fitogeográfico da Amazônia pela sua alta diversidade e grande número de espécies endêmicas, sendo que os gêneros *Palicourea* Aubl. e *Psychotria* L. costumam ser os mais representativos da família. Nas fitofisionomias da região norte do estado de Mato Grosso, pouco se sabe sobre a anatomia foliar e comportamento fenológico de espécies desses gêneros. O objetivo principal de nosso estudo foi avaliar a anatomia foliar e fenologia vegetativa e reprodutiva de espécies desses dois gêneros ocorrentes no sub-bosque de vegetações da Amazônia Mato-grossense. Para estudo morfoanatômico e fenológico utilizamos metodologia usual. Com espécies do gênero *Psychotria* e *Palicourea* realizamos quatro estudos independentes. O primeiro aborda anatomia foliar de 16 espécies, sendo 14 *Palicourea* e 2 *Psychotria* e verificamos a homogeneidade das características anatômicas entre essas espécies, mostrando a proximidade entre os gêneros *Palicourea* e *Psychotria*. As 28 características anatômicas analisadas foram insuficientes para a distinção dos gêneros e mostraram que as 16 espécies são muito semelhantes no que tange a anatomia foliar. No segundo comparamos ambientes de sol e sombra para a espécie *Palicourea racemosa* (Aubl.) Borhidi, quanto à plasticidade de caracteres foliares morfo-anatômicos, tendo como principal resultado alta plasticidade nas características anatômicas foliares, com diferenças significativas entre ambientes de sol e sombra quanto à anatomia. O terceiro capítulo apresenta a fenologia reprodutiva de *Pal. racemosa* comparando duas áreas florestais e constatamos que as populações avaliadas não diferiram quanto à época e duração das fenofases e quantidade anual de estruturas reprodutivas produzidas por copa. E por fim, no quarto capítulos avaliamos a fenologia em três espécies sub-arbustivas– *Palicourea deflexa* (DC.) Borhidi, *P. prunifolia* (H.B.K.) Borhidi e *P. racemosa*, comparando a fenologia e

testando sua relação com fatores climáticos e danos foliares. Verificamos que o comportamento fenológico vegetativo e reprodutivo apresentou poucas diferenças entre as espécies *Palicourea deflexa*, *P. prunifolia* e *P. racemosa*, mais relacionadas com a produtividade. O brotamento, floração e frutificação destas espécies ocorreram principalmente na estação chuvosa, padrão similar ao descrito para a maioria das *Palicourea* e *Psychotria* observadas em florestas úmidas tanto na América do Sul como Central, indicando possível efeito do componente filogenético na determinação da fenologia desses gêneros. Nosso trabalho é inovador nessa região, trazendo importante contribuição anatômica, fenológica e ecológica acerca das espécies estudadas e poderá auxiliar outros estudos.

**Palavras-chave:** morfo-anatomia foliar, Amazônia, dendrograma, floração, frutificação, herbivoria, plasticidade, similaridade.

## ABSTRACT

The Rubiaceae stands out in the phytogeographic domain of the Amazon for its high diversity and its large number of endemic species, and the genera *Palicourea* Aubl. and *Psychotria* L. are usually the most representative of the family. Little is known about the foliar anatomy and the phenological behavior of species of these genera in the phytophysognomies of the northern region of Mato Grosso State. This study aimed to evaluate the foliar anatomy and the vegetative and reproductive phenology of species of these two genera occurring in the sub-forest vegetation of Mato Grosso Amazon. For a morphoanatomical and phenological study we use the usual methodology. With species of the genera *Psychotria* and *Palicourea* we performed four independent studies. The first one deals with the leaf anatomy of sixteen species, fourteen of *Palicourea* and two of *Psychotria*. We verified the homogeneity of the anatomical characteristics between these species, showing the proximity between the genera *Palicourea* and *Psychotria*. The twenty-eight anatomical characteristics analyzed were insufficient for the genera distinction and showed that the sixteen species are very similar in relation to the leaf anatomy. In the second, we compared sun and

shade environments for the species *Palicourea racemosa* (Aubl.) Borhidi, regarding the plasticity of the morpho-anatomical foliar characters, having as a main result the high plasticity in the foliar anatomical characteristics, with significant differences between sun and shade environments regarding the anatomy. The third chapter presents the reproductive phenology of the *Pal. racemosa*, and comparing two forest areas we verified that the populations evaluated did not differ in relation to period and duration of the phenophases and the annual quantity of reproductive structures produced by the canopy. Finally, in the fourth chapter we evaluated the phenology in three sub-shrub species – *Palicourea deflexa* (DC.) Borhidi, *P. prunifolia* (H.B.K.) Borhidi and *P. racemosa* – comparing the phenology and testing their relation with climatic factors and foliar damage. We verified that the vegetative and reproductive phenological behavior presented few differences among the species *Palicourea deflexa*, *P. prunifolia* and *P. racemosa*, more related to the productivity. The budding, flowering and fruiting of these species occurred mainly in the rainy season, a pattern similar to that described for most of the *Palicourea* and *Psychotria* observed in humid forests in both South and Central America, indicating a possible effect of the phylogenetic component in determining the phenology of these genera. Our work is innovative in this region, bringing important anatomical, phenological and ecological contributions about the species studied.

**Keywords:** foliar morpho-anatomy, Amazon, dendrogram, flowering, fructification, herbivory, plasticity, similarity.

## 1. INTRODUÇÃO GERAL

A Amazônia ocupa um lugar de destaque no cenário internacional devido à sua larga extensão territorial e grande diversidade de ambientes, contando com 53 grandes ecossistemas (SAYRES et al., 2008). O domínio fitogeográfico amazônico é caracterizado por alta diversidade biológica, mas ainda pouco se sabe sobre as espécies que a compõem e suas relações filogenéticas. Muitas áreas nunca foram exploradas botanicamente, portanto, espécies novas ainda estão sendo descobertas (RIBEIRO et al., 1999). Além disso, nesse bioma muitas famílias botânicas não foram estudadas fenológica e anatomicamente, entre elas, destaca-se a família Rubiaceae.

As espécies de Rubiaceae exercem importante papel ecológico, incluindo o fornecimento de frutos para a fauna (ALMEIDA et al., 2006) e de recursos florais para insetos, como abelhas (RAMOS & SANTOS, 2006; LOPES & BUZATO, 2007), borboletas (LOPES & BUZATO, 2007) e beija-flores (CASTRO & ARAUJO, 2004; COELHO & BARBOSA, 2004; LOPES & BUZATO, 2007). Devido à importância da família na estrutura e dinâmica das florestas, é imprescindível a conservação dos habitats em que suas espécies estão inseridas para a manutenção do equilíbrio dos ecossistemas (MENDONÇA, 2013). A família é um excelente modelo para o estudo de vegetação e para a escolha de áreas prioritárias de conservação, pois está presente em praticamente todos os tipos de vegetação brasileiros, principalmente na Amazônia, Mata Atlântica e Cerrado, incluindo áreas de transição (BFG 2015). Além disso, a família apresenta espécies típicas, indicadoras de habitat e de áreas de endemismo (MIATELO, 2008).

Os caracteres anatômicos e micromorfológicos da lâmina foliar de Rubiaceae com importância para a taxonomia da família foram estudados em *Coussarea* Aubl. (e.g., TAVARES & VIEIRA, 1994), *Psychotria* L. (e.g., MORAES et al., 2011; CUNHA & VIEIRA, 1997; GOMES et al., 1995), *Bathysa* Karl. (e.g., NASCIMENTO et al., 1996), *Rudgea* Salisb. (e.g., MANTOVANI & VIEIRA, 1997; LEO et al., 1997), *Rondeletia* L. (e.g., KOCSIS et al., 2004), *Simira* Aubl. (e.g., MORAES et al., 2009) e *Hamelia* Jacq. (e.g., MARTÍNEZ-CABRERA et al., 2009). Os estudos de morfologia e anatomia foliar aplicados à taxonomia têm demonstrado o valor dos caracteres foliares como ferramenta para elucidar problemas taxonômicos em diversas famílias de plantas (ANDRÉS-HERNÁNDEZ & TERRAZAS, 2006; ARAÚJO et al., 2010; DIANNE et al., 2003; MENTINK & BASS, 1992). Os caracteres anatômicos também podem ser utilizados para indicar tendências evolutivas e relações filogenéticas entre os táxons (METCALFE & CHALK, 1979).

STEYERMARK (1972) realizou um compreensivo estudo sobre espécies de *Psychotria* e *Palicourea* ocorrentes da Venezuela ao Brasil Central, sendo uma importante referência para a região Norte e Brasil Central. Uma sinopse sobre Rubiaceae para os Estados de Mato Grosso e Mato Grosso do Sul foi conduzida por DELPRETE & CORTÉS-B (2006), tratando de 68 gêneros e 269 espécies, incluindo uma chave com a descrição dos gêneros da família.

A fenologia avalia o comportamento vegetativo e reprodutivo das plantas e a influenciados fatores bióticos e abióticos em cada fenofase (LIETH, 1974; FENNER, 1998). Pouco se sabe sobre a fenologia de Rubiaceae na Amazônia brasileira (em especial espécies arbustivas) e, no estado de Mato Grosso, somente três estudos fenológicos de população (KOCH et al. 2010; COBRA et al. 2015; SILVA et al. 2017) e um de comunidade (PIRANI et al. 2009) incluíram espécies da família.

Os estudos fenológicos contribuem no monitoramento e compreensão do ciclo de vida das plantas e como variações ambientais podem afetar a produção de folhas e estruturas reprodutivas (SCHWARTZ, 2013), sendo uma das ferramentas básicas e de extrema importância para o conhecimento biológico e ecológico dos ecossistemas e das espécies (BIONDI et al., 2007). Mudanças nos processos fenológicos têm amplas consequências para a biodiversidade e para as interações bióticas e, assim, estudos fenológicos são importantes para compreender as alterações dos sistemas naturais frente às mudanças climáticas globais, contribuindo para a conservação das espécies (MORELLATO et al., 2016).

No contexto apresentado, este estudo teve como objetivo principal avaliar a anatomia foliar e fenologia vegetativa e reprodutiva de espécies de Rubiaceae ocorrentes no sub-bosque de vegetações nativas na região norte de Mato Grosso, Brasil. A dissertação é apresentada em quatro capítulos, sendo que no primeiro avaliamos a anatomia foliar de 15 espécies de *Palicourea* e *Psychotria*, objetivando reconhecer os padrões anatômicos e contribuir para a elucidação de problemas taxonômicos entre espécies afins de contribuir com discussões sobre a circunscrição dos dois gêneros. No segundo capítulo abordamos a comparação entre ambientes de sol e sombra em uma área florestal quanto à plasticidade de caracteres foliares morfo-anatômicos e produção de frutos de *Palicourea racemosa*. No terceiro capítulo tratamos da fenologia reprodutiva de *Palicourea racemosa* comparando padrões fenológicos e produtividade entre duas áreas distintas de floresta ombrófila densa. No quarto capítulo avaliamos os padrões fenológicos vegetativos e reprodutivos de populações de três espécies de *Palicourea*, verificando a influência das variáveis climáticas e herbivoria na fenologia e produtividade das mesmas.

## 2. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- ALMEIDA, E. M., COSTA, P. F., BUCKERIDGE, M. S., & ALVES, M. A. S. Potential bird dispersers of *Psychotria* in a area of Atlantic Forest on Ilha Grande, RJ, southeastern Brazil: Abiochemical analysis of the fruits. **Brazilian Journal of Biology**, v.66, n.1A, p.1-8, 2006.
- ANDRÉS-HERNÁNDEZ, R. E.; TERRAZAS, T. Anatomía foliar y del pecíolo de espécies del gênero *Rhus* s. str. (Anacardiaceae). **Boletín de la Sociedad Botánica de México**, v. 78, p. 95-106. 2006.
- ARAÚJO, A. S.; AZEVEDO, A. A.; SILVA, L. C.; MEIRA, R. M. S. A. Leaf anatomy as an additional taxonomy tool for 16 species of Malpighiaceae found in Cerrado area (Brasil). **Plant Systematics and Evolution**, 286, p. 117-131. 2010.
- BFG. Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil. *Rodriguésia* 66, n. 4, p. 1085–1113. 2015.
- BIONDI, D.; LEAL, L.; BATISTA, A. C. Fenologia do florescimento e frutificação de espécies nativas dos Campos. **Acta Scientiarum Biological Sciences**, Maringá, v. 29, n. 3, p. 269-276, 2007.
- CASTRO, C. C.; ARAÚJO, A. C. Distyly and sequential pollinators of *Psychotria nuda* (Rubiaceae) in the Atlantic rain forest, Brazil. **Plant Systematics and Evolution**, v. 244, n.1, p.131-139, 2004.
- COBRA, S. S. O.; NASCIMENTO, F.; ANTONIAZZI, S. A.; KRAUSE, W.; SILVA, C. A. Biologia reprodutiva de *Cordia macrophylla* (K. Schum.) Kuntze (Rubiaceae), espécie dioica da região sudoeste do Estado de Mato Grosso, Brasil. **Ceres**, v. 62, n. 6, p. 516-523. 2015.
- COELHO, C. P.; BARBOSA, A. A. A. Biologia reprodutiva de *Psychotria poeppigiana* Mull.Arg. (Rubiaceae) em mata de galeria. **Acta Botânica Brasílica**, v.18, n.3, p.481-489, 2004.
- DA CUNHA, M.; VIEIRA, R.C. Anatomia foliar de *Psychotria velloziana* Benth. **Rodriguesia**, v.45-49, n.71-75, p.39-50, 1997.
- DELPRETE, P.G. Two new species of *Coussarea* and a new combination in *Faramea* (Rubiaceae, Coussareeae) from the Guianas. **Blumea**, v 50, p. 355-364. 2006.
- DIANN, N.; JACOB, C.; HILGER, H. H. Leaf anatomy and foliar trichomes in *Heliotropiaceae* and their systematic relevance. **Flora** 198: 468-485. 2003.
- FENNER, M. The phenology of growth and reproduction in plants. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v.1, p.78-91, 1998.
- GOMES, D. M. S.; MANTOVANI, A.; VIEIRA, R. C. Anatomia foliar de *Psychotria ternuina* Müll. Arg. e *Psychotria stenocalix* Müll. Arg. (Rubiaceae). **Arquivos de Biologia e tecnologia**, 38: 15-33. 1995.

KOCH, A. K.; SILVA, P. C.; SILVA, C. A. Biologia reprodutiva de *Psychotriacarthagensis* (Rubiaceae), espécie distíllica de fragmento florestal de mata ciliar, Centro-Oeste do Brasil. **Rodriguésia**, v. 61, n. 3, p. 551-558. 2010.

KOCSIS, M.; DARÓK, J.; BORHIDI, A. Comparative leaf anatomy and morphology of some neotropical *Rondeletia* (Rubiaceae) species. **Plant Systematics and Evolution**, 218: 205-218. 2004.

LEO, R. R. T.; MANTOVANI, A.; VIEIRA, R. C. Anatomia foliar de *Rudgea ovalis* Müll. Arg. e *R. tinguana* Müll. Arg. (Rubiaceae). **Leandra**, 12: 33-44. 1997.

LIETH, H. Purposes of a phenology book. In: **Phenology and seasonality modeling**. Ecological Studies (Analysis and Synthesis) (H. Lieth; ed.). Berlin: Springer-Verlag, v.8, p.3-19. 1974.

LOPES, L. E.; BUZATO, S. Variation in pollinator assemblages in a fragmented landscape and its effects on reproductive stages of a self-incompatible treelet, *Psychotriasuterella* (Rubiaceae). **Oecologia**, v.154, n.1, p.305-314, 2007.

MANTOVANI, A.; VIEIRA, R. C. Leaf surface of two understory shrubs *Rudgea decipiens* Müll. Arg. and *Rudgea macrophylla* Benth. (Rubiaceae). **Rodriguésia**, 45-49: 7-13. 1997.

MARTÍNEZ-CABRERA, D.; TERRAZAS, T.; OCHOTERENA, H. Foliar and petiole anatomy of tribe Hamelieae and other Rubiaceae. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, 96: 133-145. 2009.

MENDONÇA, A. C. A. M.; SILVA, M. A. P. Da.; SEIXAS, E. N. C.; SANTOS, M. A. F. Dos. Rubiaceae: aspectos ecológicos e reprodutivos. **Caderno de Cultura e Ciência**. Ano VIII, v.12, n.2, Dez, 2013.

MENTINK, H.; BAAS, P. Leaf anatomy of the Melastomataceae, Memecylaceae, and Cryptoniaceae. **Blumea** 37: 189-225. 1992.

METCALFE, C. R.; CHALK, L. **Anatomy of Dicotyledons**. 2 ed. Oxford University Press: Oxford, 790 p. 1979.

MIATELO, J. H. B. Biodiversidade e distribuição da Família Rubiaceae no Distrito Federal e nos estados de Goiás e Tocantins. **Dissertação Mestrado**. 2008. UFG, Goiânia, GO, julho 2008. 76 p.

MORAES, T. M. S.; RABELO, G. R.; ALEXANDRINHO, C. R.; NETO, S. J. S.; CUNHA, M. Comparative leaf anatomy and micromorphology of *Psychotria* species (Rubiaceae) from the Atlantic Rainforest **Acta Botanica Brasilica**, v.25, n. 1, p. 178-190. 2011.

MORAES, T. M. S.; BARROS, C. F.; NETO, S. J. S. N.; GOMES, V. M.; CUNHA, M. Leaf blade anatomy and ultrastructure of six *Simira* species (Rubiaceae) from the Atlantic Rain Forest, Brazil. **Biocell** 33: 155-165. 2009.

MORELLATO, L.P.C.; ALBERTON, B.; ALVARADO, S. T.; BUISSON, E.; CAMARGO, M. G. G. CANCIAN, L. F. CARSTENSEN, D. W.; ESCOBAR, D. F. E.; LEITE, P. T. P.;

MENDOZA, I.; ROCHA, N. M. W. B.; SOARES, N. C.; SILVA, T. S. F.; STAGGEMEIER, V. G.; STREHER, A. S.; VARGAS, B. C. PERES, C. A. 2016. Linking plant phenology to conservation biology. **Biological Conservation**, v. 195, p. 60-72. 2016.

NASCIMENTO, M. V.O.; GOMES, D. M. S.; VIEIRA, R. C. Anatomia foliar de *Bathysastipulata*(Vell.) Presl. (Rubiaceae). **Revista Unimar** 18: 387-401. 1996.

PIRANI, F. R.; SANCHEZ, M.; PEDRONI, F. Fenologia de uma comunidade arbórea em cerrado sentido restrito, Barra do Garças, MT, Brasil. **Acta Botânica Brasílica**, v. 23, n. 4, p. 1096-1109. 2009.

RAMOS, F. N.; SANTOS, F. A. M. Floral visitors and pollination of *Psychotriatenuinervis* (Rubiaceae): Distance from the anthropogenic and natural edges of an Atlantic Forest fragment. **Biotropica**, v.38, n.3, p.383-389, 2006.

RIBEIRO, J. E. L. S.; HOPKINS, M. J. G.; VICENTINI, A.; SOTHERS, C. A.; COSTA, M. A. S.; BRITO, J. M.; SOUZA, M. A. D.; MARTINS, L. H. P.; LOHMANN, L. G.; ASSUNÇÃO, P. A. C. L.; PEREIRA, E. C.; SILVA, C. F.; MESQUITA, M. R.; PROCÓPIO, L. C. **Flora da Reserva Ducke. Guia de Identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central. Manaus – AM: INPA, DFID (Departament for International Development)**, 816p. 1999.

SAYRES, R., BOW, J., JOSSE C., SOTOMAYOR, L. TOUVAL, J. **Terrestrial ecosystems of Sotuh America. Chapter 9.** 2008. Disponível em: <<http://www.aag.org/galleries/nalcs/CH9.pdf>> Acesso em: 20 janeiro 2018.

SCHWARTZ, M. D. **Phenology: An Integrative Environmental Science.** Springer Netherlands, 2ed. 2013.610 p.

SILVA, E. M. S.; OLIVEIRA, U. A.; CARDOSO, E. S.; ROELIS, B. V.; ROSSI, A. A. B. Fenologia reprodutiva e biologia floral de *Palicourea racemosa* (Aubl.) Borhidi (Rubiaceae) em um fragmento florestal no município de Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil. **Enciclopédia Biosfera**, v, 14, n. 26, p. 986-994. 2017.

STEYERMARK, J. A. **Psychotria.** In: MAGUIRE BM ET AL. eds. Te botanyofthe Guayana Highland – Part IX. Mem N Y BotGard 23: 404-717. 1972.

TAVARES, E.S.; VIEIRA, R. C. Anatomia foliar de *Coussarea meridionalis*(Vell.) Muel. Arg. e *Coussareagraciliflora*Benth. &Hook (Rubiaceae). **Bradea** 39: 320-330. 1994.



### **3. CAPÍTULOS**

#### **3.1. Anatomia foliar comparada de Rubiaceae de sub-bosque no norte do estado de Mato Grosso<sup>1</sup>**

<sup>1</sup>Artigo a ser submetido para o periódico Anais da Academia Brasileira de Ciências

## RESUMO

Rubiaceae destaca-se no domínio fitogeográfico Amazônico pela alta diversidade e grande número de espécies endêmicas, onde os gêneros *Palicourea* Aubl. e *Psychotria* L. costumam ser os mais representativos. Contudo, estudos recentes têm incluído algumas espécies de *Psychotria* em *Palicourea*. Diante disso, o presente estudo teve como principal proposta reconhecer os padrões da anatomia foliar de 16 espécies desses gêneros (14 de *Palicourea* e duas de *Psychotria*) ocorrentes na Amazônia Mato-grossense, procurando elucidar os problemas taxonômicos entre espécies afins de tornar mais clara a circunscrição dos gêneros. As espécies foram coletadas em três áreas, sendo duas de floresta ombrófila densa e uma de savana típica sobre afloramento rochoso. Realizamos estudo anatômico com metodologia usual e a partir dos resultados geramos um dendrograma. Todas as espécies apresentaram características típicas de Rubiaceae, como folhas hipoestomáticas, mesofilo dorsiventral, estômatos paracíticos, organização do sistema vascular em arco e presença de feixes acessórios. Com os resultados da análise de agrupamento por meio do método de dissimilaridade (distância euclidiana) verificamos regularidade das características anatômicas, mostrando a proximidade dos dois gêneros. Portanto, analisando 28 características anatômicas, verificamos que estas foram insuficientes para a distinção dos gêneros e mostramos que as 16 espécies de *Palicourea* e *Psychotria* são muito semelhantes no que tange a anatomia foliar.

Palavras-chaves: Caracteres anatômicos; hipoestomática; *Palicourea*; *Psychotria*; similaridade; taxonomia

## ABSTRACT

The Rubiaceae stands out in the Amazonian phytogeographic domain due to the high diversity and a large number of endemic species, among which the genera *Palicourea* Aubl. and *Psychotria* L. are usually the most representative. However, recent studies have included some species of *Psychotria* in the genus *Palicourea*. Therefore, the main objective of this study was to recognize the foliar anatomy patterns of sixteen species of these genera (fourteen of *Palicourea* and two of *Psychotria*) occurring in the Mato Grosso Amazon, seeking to elucidate the taxonomic problems between the related species and to clarify the circumscription of the genera. The species were collected in three areas, two from a dense ombrophylous forest and one from a typical savannah on rocky outcrop. We performed an anatomical study with an usual methodology and from the results we generated a dendrogram, grouping species with a greater anatomical similarity. All species presented typical characteristics of a Rubiaceae, such as hipoestomatic leaves, a dorsiventral mesophyll, and a paractic stomata, and an organization of the vascular system in arch, and presence of accessory bundles. With the results of the analysis of clustering by means of the dissimilarity method (Euclidean distance), we

verified a regularity of the anatomical characteristics, showing the proximity of both genera. Therefore, by analyzing twenty-eight anatomical characteristics, we verified that these were insufficient for the genera distinction and we showed that the sixteen species of *Palicourea* and *Psychotria* are very similar in relation to the foliar anatomy.

Keywords: Anatomical characters; hypostomatic; *Palicourea*; *Psychotria*; similarity; taxonomy

## INTRODUÇÃO

A região amazônica brasileira apresenta grande diversidade de fauna e flora e isso se deve à grande variedade de habitats, compreendendo, além da floresta tropical úmida dominante na região, áreas de savanas, florestas de montanhas, florestas abertas, florestas de várzea, pântanos, florestas de bambus e de palmeiras (ARPA 2010), tendo registros de cerca de 12.093 espécies de Angiospermas (Flora do Brasil 2020). A família Rubiaceae destaca-se no domínio fitogeográfico amazônico pela alta diversidade e grande número de espécies endêmicas (BFG 2015, Flora do Brasil 2020).

A família é conhecida principalmente por sua importância medicinal, ornamental e econômica, além de algumas de suas espécies apresentarem potencialidade tóxica (e.g., Ribeiro et al. 1999, Neto e Moraes 2003, Souza e Lorenzi 2012). Dentre os gêneros de Rubiaceae mais ricos e abundantes nos neotrópicos destacam-se *Palicourea* Aubl. e *Psychotria* L. Estudos morfológicos e moleculares recentes revelaram que o gênero *Palicourea* inclui mais espécies do que anteriormente registrado. Neste estudo, muitas das espécies neotropicais de *Psychotria*, que é o maior gênero de Rubiaceae, têm sido reconhecidas como pertencentes ao gênero *Palicourea* (Borhidi 2011, Taylor e Hollowell 2016, Borhidi 2017, Taylor 2017). No entanto, nem todas as 800 espécies neotropicais originalmente nomeadas em *Psychotria* pertencem a *Palicourea* (Taylor e Gereau 2013). Das 16 espécies estudadas, oito pertenciam ao gênero *Psychotria*, porém durante os estudos, seis espécies foram alteradas para o gênero *Palicourea*.

O gênero *Palicourea*, na atual circunscrição, inclui aproximadamente 600 espécies, a maioria arbustiva, caracterizadas por apresentar estípulas persistentes, ramos vegetativos e frutos muito semelhantes ao gênero *Psychotria*, sendo necessária a análise de flores em antese para o reconhecimento seguro da identidade destas (Taylor 2017). O gênero *Psychotria* compreende uma significativa proporção da vegetação de sub-bosque em muitas florestas tropicais, contribuindo para a diversidade florística (Kinupp e Magnusson 2005). No Brasil, são registradas 269 espécies nativas para esse gênero (Taylor e Hollowell 2016, Flora do Brasil 2020). São registradas 69 espécies nativas de *Palicourea* (Flora do Brasil 2020), entretanto, estes números ainda podem mudar devido à revisão em andamento no gênero *Psychotria*.

Taylor (2017) apresentou uma chave para identificação de *Palicourea* e *Psychotria* na região Neotropical. As características externas que diferem esses dois gêneros são relacionadas a seguir. *Palicourea* apresenta estípulas com 0,5 mm de comprimento que são persistentes, quando caem raramente deixam cicatrizes (cores claras); com ou sem domácias, mas nunca foveoladas (em criptas); frutos maduros na cor azul, roxo-preto ou branco, e que em algumas espécies passam por um estágio imaturo de cor laranja ou vermelho. *Psychotria* apresenta estípulas caducifolias, ocasionalmente persistentes em mais de 1 ou 2 nós, quando caem deixam cicatrizes persistentes avermelhadas, castanhas ou cinzentas; domácias foveoladas ou não; frutos quando maduros são vermelhos.

As espécies de Rubiaceae apresentam caracteres morfoanatômicos, reprodutivos, ecológicos, fisiológicos e químicos que as distinguem facilmente de outras famílias (Mendonça 2013). Dentre os caracteres morfo-anatômicos descritos para Rubiaceae estão os estômatos paracíticos, que estão relacionados a plantas de ambientes sombreados (Smith et al. 1997). Alguns estudos anatômicos foram realizados com o objetivo de contribuir para a taxonomia de Rubiaceae (e.g., Vieira et al. 1992, Moraes et al. 2011b, Gavilanes et al. 2016).

A maioria dos estudos anatômicos da família Rubiaceae avaliou espécies na Mata Atlântica, dentre esses estudos, destacam estudos com o gênero *Psychotria* (e.g., Vieira et al. 1992, Vieira e Gomes 1995, Barros et al. 1997, Da Cunha e Vieira 1997). Moraes et al. (2011b) estudaram a anatomia e micromorfologia comparada das folhas de sete espécies, sendo estas do gênero *Psychotria* e *Palicourea*. Esses autores consideraram a presença de cristais estiloides e alcaloides como características diagnósticas de *Psychotria*. Gavilanes et al. (2016), realizou um estudo anatômico descritivo e quantitativo da estrutura foliar de *Palicourea rigida* Kunth. (Rubiaceae), espécie que ocorre em áreas de cerrado e campo rupestre, na Serra do Campestre em Minas Gerais, sugerindo que a influência de fatores ambientais pode ter modulado respostas morfológicas nas plantas, visto que o tipo e distribuição dos tecidos não sofreram alterações nos dois ambientes.

O presente estudo traz informações relevantes sobre as características anatômicas dessas espécies em ambiente de Floresta Amazônica e poderá auxiliar os estudos morfológicos e moleculares da família. Nossa principal proposta é reconhecer os padrões da anatomia foliar de 16 espécies de *Palicourea* e *Psychotria* ocorrentes na Amazônia Mato-grossense, afim de contribuir com a circunscrição dos dois gêneros, tentando responder às seguintes perguntas: 1) Como varia a anatomia foliar entre espécies de *Palicourea* e *Psychotria*? 2) Quais são as características compartilhadas por estes gêneros? 3) Os dois gêneros podem ser diferenciados com base na anatomia foliar? Partimos do pressuposto que, por se tratar de dois gêneros distintos, existem diferenças nas características anatômicas e que é possível reconhecer os padrões que diferenciam os gêneros.

## MATERIAIS E MÉTODOS

## ÁREA DE ESTUDO

Coletamos as amostras foliares entre março de 2016 e junho de 2017, em três áreas de vegetação nativa no norte do estado de Mato Grosso, visando alcançar maior número de espécies do gênero *Palicourea* e *Psychotria*. A primeira área de coleta foi em diferentes pontos na Reserva Particular do Patrimônio Natural Cristalino (RPPN's Cristalino), nos municípios de Alta Floresta e Novo Mundo (09°35'12"S, 55°55'21"W – 09°35'11"S, 55°55'11"W, altitude 250-300 m). Essas RPPN's possuem aproximadamente 7000 hectares e são caracterizadas por árvores de grande porte formando um dossel contínuo de 20-30 m de altura e sub-bosque denso (Sasaki et al. 2010). A segunda área amostrada é a Reserva do Floresta Amazônica Hotel Resort (RFA) (09°52'43"S, 56°06'06"W) situada no perímetro urbano de Alta Floresta, possuindo aproximadamente 50 hectares de floresta com baixa perturbação antrópica e sub-bosque denso. A terceira área está localizada no município de Nova Canaã do Norte (NCN) (10°53'57"S, 55°46'41"W), possui vegetação aberta, sendo considerada uma área de savana típica sobre afloramento rochoso (Pessoa, Dados não publicados), possuindo maior incidência solar se comparado com as outras áreas do estudo.

A região possui duas estações definidas, a estação chuvosa compreende de outubro a abril e estação seca de maio a setembro. A classificação do clima é Aw (Peel et al. 2007), apresentando temperatura média anual de 26-27°C e precipitação média anual de 2.232 mm (Dubreuli et al. 2012).

## ESPÉCIES ESTUDADAS

Em 2016, quando iniciamos as coletas, parte das espécies estudadas pertenciam ao gênero *Psychotria* sendo transferidas recentemente para *Palicourea* nos estudos de Taylor (2017) e Borhidi (2017) (Tabela 1). Portanto, atualmente estudamos 16 espécies de Rubiaceae sendo 14 do gênero *Palicourea* e duas de *Psychotria* (Tabela 1). Esses gêneros são de nomenclaturas distintas, porém bastante similares, e nesse caso usaremos a abreviatura *Pal.* e *Psy.* no texto. Todas as espécies estudadas são arbustos do sub-bosque de florestas úmidas, recebendo relativamente pouca luminosidade, com exceção da espécie *Palicourea* cf. *nitidella* coletada em Nova Canaã do Norte, exposta totalmente a luz solar.

## COLETA DE DADOS

Durante a coleta de material botânico, além das amostras utilizadas para estudo anatômico, coletamos amostras férteis de cada espécie, que foram depositadas no Herbário da Amazônia Meridional (HERBAM), na Universidade do Estado do Mato Grosso (Tabela 1). Para as espécies que foram encontradas em duas ou mais áreas deste estudo analisamos o material de somente uma área, preferencialmente das RPPN's Cristalino.

Para análise anatômica realizamos coletas de três folhas de três indivíduos diferentes, fixamos em FAA<sub>50</sub> e preservamos em etanol 70% (Johansen 1940). Cortamos as amostras foliares transversalmente a mão livre com lâmina de barbear, clarificamos em hipoclorito sódico a 2% e coramos com azul de Astra e fucsina básica (Roeser 1962), e posteriormente montamos em lâminas permanentes. Utilizamos a referência de Barros (1962) e Robbrechet (1988) para a classificação dos tipos de domácias encontradas.

Utilizamos o método de dissociação de Kraus e Arduin (1997) modificado para a análise da epiderme foliar, em que colocamos as porções foliares em tubos de ensaio com água oxigenada (30 volumes) e ácido acético glacial na proporção de 1:1 e mantivemos em estufa a 65 °C, por no mínimo 12h e máximo 24h, levando em consideração que as epidermes das espécies dissociam em tempos diferentes. Posteriormente lavamos as amostras em água destilada e, com auxílio de um pincel, separamos as duas superfícies epidérmicas, que coramos com fucsina básica (Roeser 1962) e montamos as lâminas.

Analisamos as lâminas contendo tanto secções transversais como as com porções paradérmicas em microscópio fotônico trinocular Leica ® ICC50 acoplado a um computador e, registramos fotomicrografias com auxílio do software LAZ EZ 1.7.0. Para nos auxiliar na descrição e comparação anatômica das espécies, utilizamos uma tabela de diagnose (Apêndice 1).

## ANÁLISE DOS DADOS

De posse dos dados anatômicos, organizamos uma matriz de presença (1) e ausência (0) com 28 caracteres anatômicos das espécies. Inicialmente realizamos o tratamento nos dados, em que caracteres comuns para todas as 16 espécies foram excluídos da matriz. Com o programa R, submetemos a matriz de dados a uma análise de dissimilaridade (distância euclidiana; Clifford e Stephenson 1975) tendo como resultado o agrupamento de espécies. Com o objetivo de verificar a confiabilidade dos agrupamentos, calculamos o coeficiente de correlação confenética (ccc; Sokal e Rohlf 1962). No programa R utilizamos as funções `vegdist` do pacote `vegan` (Oksanen et al. 2017) e a função `Hclust` do pacote `cluster` (Maechler et al. 2017).

## RESULTADOS

As 16 espécies estudadas de *Palicourea* e *Psychotria* compartilham algumas características como: folhas hipoestomáticas; estômatos paracíticos; células-guardas reniformes (Figura 1A-1H); cutícula delgada; câmara subestomática não volumosa; mesofilo dorsiventral; feixe vascular colateral em formato de arco na nervura central, circundado por fibras periclinais e presença de feixes acessórios (Figura 2A-2E).

Das espécies estudadas 11 apresentaram epiderme adaxial com paredes de contorno reto, quatro apresentaram paredes sinuosas e parede curva em apenas *Pal. bracteocardia* (Figura 1A-1F; Tabela 2). Seis espécies apresentaram paredes das células epidérmicas abaxiais com contorno curvo e 10 espécies paredes com contorno sinuoso (Figura 1A-1F; Tabela 2).

Em secção transversal foi possível verificar epiderme uniestratificada, com paredes celulares e cutícula levemente espessada para as espécies de ambos os gêneros estudados (Figura 2A-2E). Das 16 espécies estudadas, 14 apresentaram algum tipo de tricoma (Figura 3A-3B; Tabela 2). A espécie *Pal. platypoda* apresentou tricomas apenas na face abaxial. As espécies que não apresentaram tricomas foram *Pal. cf. nitidella* e *Psy. robusta* (Tabela 2). Também foi possível verificar que as espécies apresentaram estômatos paracíticos nivelados com as demais células da epiderme (Figura 3C-3D).

O mesofilo apresentou aspecto dorsiventral, composto por parênquima paliçádico com uma camada de células na maior parte das espécies, com exceção de *Pal. racemosa* que apresentou duas camadas (Figura 3E). O número de camadas do parênquima lacunoso variou conforme a espécie, e *Pal. aff. macrobotrys* foi a que apresentou mais camadas, aproximadamente de 10 a 12. Já *Pal. hoffmannseggiana*, *Pal. ownbeyi*, *Pal. prunifolia*, *Psy. robusta* e *Psy. santaremica* foram as únicas que apresentaram parênquima lacunoso com espaçamento intercelular inconspícuo.

Com exceção de *Pal. subcuspidata* e *Pal. rosea*, as demais espécies apresentaram, ao longo do mesofilo, colênquima angular (nove espécies), colênquima lacunar (cinco), colênquima lamelar (três) e colênquima anelar (duas) (Figura 3K-3N; Tabela 2). *Palicourea prunifolia* e *Pal. colorata* foram as únicas espécies que não apresentaram nenhum tipo de idioblastos no mesofilo. Doze espécies apresentaram cristais estiloides (Figura 3O; Tabela 2) em grande quantidade, três espécies apresentaram drusas (Figura 3P; Tabela 2) 11 apresentaram feixes de ráfides (Figura 3Q-3R; Tabela 2).

Na região da nervura central próximo a epiderme, existe um conjunto de células que apresenta aspecto de achatamento, onde verificamos que as paredes anticlinais sofrem curvaturas (Figura 3H). Dentre as espécies estudadas apenas *Pal. amplexans* não apresenta essa característica (Tabela 2). Realizamos cortes frescos e com material fixado e em ambos observamos a mesma característica, levando-nos a crer que não é efeito do método e sim caractere das espécies estudadas.

As espécies *Pal. platypoda*, *Pal. racemosa*, *Pal. hoffmannseggiana*, *Psy. robusta* e *Psy. santaremica* apresentaram domácias na nervura central (Figura 3J; Tabela 2). Fizemos a classificação das domácias e encontramos em *Pal. racemosa* domácia em bolsa e com presença de tufo de pelos, em *Pal. hoffmannseggiana*, *Psy. robusta* e *Psy. santaremica* encontramos domácias em bolsa e em *Pal. platypoda* e *Pal. ownbeyi* domácias em fenda. Observamos lacunas de ar em cinco espécies; monocristais em oito (Figura 3G) e células secretoras em 14 espécies, ausência de células secretoras apenas em *Pal. amplexans* e *Pal. platypoda* (Tabela 2).

As espécies apresentaram fibras na região da nervura central, sendo os feixes do tipo colateral em formato de arco. Ausência de colênquima foi registrada apenas em *Pal. subcuspidata* e *Pal. rosea*; idioblastos foi visualizado em nove espécies estudadas (Tabela 2). Em alguns cortes foi possível observar, além do feixe colateral, a presença de um feixe acessório anficrival em *Pal. racemosa* (Figura 3F).

## ANÁLISE DE AGRUPAMENTO

Na análise de agrupamento o valor do índice do coeficiente de correlação cofenética (ccc) foi de 0,80. Na figura 4 podem ser observados três grupos no corte de 0,80 de valor de dissimilaridade. O primeiro grupo com seis espécies; o segundo com cinco espécies e o terceiro com três espécies (Figura 4). As características determinantes no primeiro agrupamento foram a presença de células sinuosas na epiderme abaxial; no segundo agrupamento os caracteres foram epiderme abaxial com células isodiamétricas, tricoma multicelular unisseriado e células secretoras no mesofilo; já no terceiro agrupamento a epiderme adaxial papilosa e presença de ráfides. *Pal. subcuspidata* possui similaridade com o segundo e terceiro agrupamento, porém ficou fora do corte de 0,80. *Palicourea amplexans* não se agrupou com as demais, embora possui caracteres anatômicos comum com outras espécies. As espécies que apresentam maior similaridade em relação aos caracteres anatômicos analisados nesse estudo (Figura 4) foram *Pal. hoffmannseggiana* e *Psy. santaremica* (0,25 dissimilaridade), a espécie *Pal. ownbeyi* se aproxima das duas citadas por apresentarem algumas características em comum, como tricomas unicelulares e multicelulares unisseriados, cristais estiloides, domácias, células sinuosas na nervura central e células secretoras tanto na nervura central como no mesofilo (Tabela 2), seguido de *Pal. racemosa* e *Pal. tomentosa* (0,40 dissimilaridade) e *Pal. aff. macrobotrys* e *Pal. deflexa* (0,75 dissimilaridade) (Figura 4).

## DISCUSSÃO



Em nosso estudo verificamos que os gêneros *Palicourea* e *Psychotria* compartilham várias características, destacando-se o mesofilo dorsiventral, folhas hipoestomáticas, células-guarda reniformes, organização do sistema vascular da nervura principal em arco e presença de feixes acessórios, sendo estas características típicas de Rubiaceae (Metcalfe e Chalk 1979).

As espécies *Pal. deflexa*, *Pal. aff. macrobotrys* e *Pal. cf. nitidella* apresentaram epiderme adaxial papilosa, e a mesma característica foi verificada por Moraes et al. (2011b) em *Pal. hoffmannseggiana* e *Pal. deflexa* (citadas como *Psy. hoffmannseggiana* e *Psy. deflexa*, respectivamente) e por Pereira et al. (2003) em *Pal. longepedunculata* Gardiner. A epiderme papilosa pode estar associada a fatores ambientais, pois a sinuosidade das paredes anticlinais das células epidérmicas é uma característica mais comum em plantas de sombra (Wilkison 1979). A curvatura das células auxilia na captação de luz (Bone et al. 1985) e Vieira e Machado (1992) atribuem essa mesma função às células papilosas de folhas de sombra e de ambiente intermediário de *Bauhinia radiata* Vell.

As espécies estudadas apresentaram estômatos somente na face abaxial, o que para Fahn (1990) pode ter relação com a intensa iluminação e com a deficiência de água do meio no qual estão as plantas. Como as espécies estudadas são de sub-bosque, a luminosidade é geralmente menor (Chazon 1988), o que pode ter relação com essa característica é o fato da região ter um período de estiagem acentuado. Em florestas pluviais e estacionais tropicais é comum as espécies apresentarem folhas hipoestomáticas, esta característica pode oferecer proteção das fendas estomáticas contra fungos e musgos que são comuns nesses ambientes (Coutinho 1962).

Das 16 espécies estudadas, a maior parte (13 espécies) apresentou algum tipo de tricoma nas folhas. Jonhson (1975) descreve que em muitas plantas os tricomas são responsáveis por aumentar a transpiração, pois ampliam a superfície de evaporação. Por outro lado, a presença de grande quantidade de tricomas na superfície foliar, pode fornecer uma barreira mecânica contra temperaturas extremas, perda de água e alta luminosidade (Werker 2000). Segundo Kuniyoshi (1993) a ausência ou presença de tricomas é um importante caráter taxonômico.

A maior parte das espécies aqui estudadas (15 das 16 espécies) apresentou parênquima paliçádico com uma camada de células. Segundo Ivanova e P'Yankov (2002), principalmente em plantas de sombra, essa proporção de parênquima paliçádico pode resultar em maior condutividade de dióxido de carbono.

Em nosso estudo tanto espécies de *Psychotria* como de *Palicourea* apresentaram cristais de oxalato de cálcio na asa foliar, sob forma de ráfides, drusas e/ou estiloides. A função primária dos cristais de oxalato de cálcio nas plantas é a regulação de cálcio nos tecidos e órgãos, auxiliando na defesa contra herbívoros e tolerância ao metal pesado (e.g., Franceschi e Nakata 2005). No trabalho realizado por Coelho et al. (2007), ele encontrou diferentes tipos de cristais de oxalato de cálcio nas

folhas de *Palicourea longiflora* DC., essa espécie é conhecida pela toxicidade, principalmente para os animais e relata a irritação na pele durante a manipulação, devido a alguns compostos. A presença de cristais estiloides e de feixes de ráfides são comuns em espécies de *Psychotria* (Metcalf e Chalk 1979) e pode ser usada como um caráter taxonômico (Moraes et al. 2011b). Moraes et al. (2011b) sugerem que a presença de cristais estiloides pode ser um caráter diagnóstico importante para *Psychotria* porém, espécies de *Palicourea* e *Psychotria* do presente estudo, apresentaram essa característica, o que revela que há muita semelhança entre esses dois gêneros. Alguns autores descrevem a presença de ráfides, drusas, cristais estiloides, cristais prismáticos e idioblastos sendo comum em espécies de Rubiaceae e na subfamília Rubioideae, a qual inclui os gêneros *Psychotria* e *Palicourea* (e.g., Metcalfe e Chalk 1985, Lersten 1974). A presença de drusas é frequente em espécies sul-americanas do gênero (Lersten 1974). Além disso, alguns estudos com espécies de *Psychotria* (muitas hoje incluídas em *Palicourea*) descrevem essas características (e.g., Vieira et al. 1992, Da Cunha e Vieira 1997, Gomes et al. 1995, Quinteiro et al. 2006, Moraes et al. 2011b). *Palicourea rigida* foi caracterizada por Gavilanes (2016) e algumas das características destacadas foram feixes de ráfides, cristais estiloides e idioblastos. Nas espécies de *Psychotria* estudadas por Moraes et al. (2011b), incluindo várias espécies de nosso estudo e atualmente inseridas em *Palicourea*, a presença de drusas não foi observada, mas todas as espécies apresentaram feixes de ráfides no pecíolo e nervura central e cristais estiloides na na asa foliar.

Os feixes vasculares de Rubiaceae são geralmente colaterais como observado em nosso estudo e outros para a família (e.g., Gomes et al. 1995, Mantovani et al. 1995, Leo et al. 1997, Mantovani e Vieira 1997, Moraes et al. 2011a,b). Nas espécies aqui estudadas, observamos a presença de uma bainha fibrosa envolvendo os feixes vasculares, e essa característica foi citada por Metcalfe e Chalk (1950) como sendo comum para a família. Essa característica também foi encontrada por Zini et al. (2016) em espécies de *Palicourea* e *Psychotria*; por Quinteiro et al. (2006) em *Psy. viridis* Ruiz & Pav.; Pereira et al. (2003) em *Pal. longipedunculata* Gardiner e Moraes et al. (2009) em espécies de *Simira*. Outros estudos com representantes da família Rubiaceae também confirmam a presença de feixes acessórios além do feixe principal do tipo colateral (e.g., Mantovani et al. 1995, Quinteiro et al. 2006, Zini et al. 2016).

Martínez-Cabrera et al. (2009) afirmam que o feixe vascular em forma de arco ou em forma de V com extremidades curvas e presença de 1 a 2 feixes acessórios é exclusivo de *Psychotria* e nunca havia sido descrito para outros membros da família. No estudo realizado por Moraes et al. (2011b) o número de feixes acessórios variou de 1-3 em todas as espécies de *Psychotria* estudadas, com exceção de duas em que estavam ausentes. Esses resultados sugerem que a organização do sistema vascular em um arco em forma de V com as extremidades curvas e presença de 1-2 feixes acessórios não são diagnósticos para o gênero *Psychotria*, corroborando com os resultados do presente trabalho, em que

*Palicourea* também apresentou essas características. Marques et al. (2015) compararam a anatomia de espécies de *Psychotria* em floresta Atlântica, dentre elas duas espécies tratadas em nosso estudo *Pal. hoffmannseggiana* e *Pal. deflexa* (citadas como *Psy. hoffmannseggiana* e *Psy. deflexa*, respectivamente). Segundo os autores, embora as espécies ocorram em áreas úmidas de sub-bosque, a presença de vários elementos de vasos nos feixes vasculares é uma característica do gênero *Psychotria* e indicativa de adaptação da planta a condições de déficit hídrico em algum momento.

Apenas seis espécies apresentaram domácias, sendo quatro do gênero *Palicourea* e duas de *Psychotria* (Tabela 2). Na classificação das domácias permaneceram dúvidas, mesmo utilizando referências como Barros (1962) e Robbrechet (1988). Parece comum a dificuldade no reconhecimento dos tipos de domácias existentes (e.g., Romero et al. 2015). Domácias são formações que ocorrem em algumas plantas e podem hospedar simbioses (e.g., Brouwer e Clifford 1990). Alguns autores afirmam que existe relação restrita entre organismos animais (ácaros e formigas) e as domácias (e.g., Wilkinson 1979). Metcalfe e Chalk (1979) relatam que muitos autores acreditam que essas estruturas surgem independentemente da presença de hospedeiros, podendo ser utilizada posteriormente por eles quando já estão formadas. Barros (1962) analisou a ocorrência de domácias na família Rubiaceae. Dentre as 278 espécies estudadas, está incluso 20 do gênero *Palicourea* e 41 de *Psychotria*, destas 61 espécies pertencentes a esses dois gêneros, apenas 13 espécies de *Psychotria* apresentaram domácias. Entre essas espécies está *Pal. racemosa* (citada como *Psy. racemosa*), sendo descrita a presença de domácia do tipo “em bolsa” localizadas na axila do ângulo suplementar, isto é, que se volta para a base da folha.

Analisando o dendrograma e a formação dos agrupamentos (Figura 4) verificamos uma regularidade das características apresentadas, revelando a proximidade de *Palicourea* e *Psychotria*. Isso é evidente analisando as espécies com maior similaridade, em que espécies de *Palicourea* se agrupam com espécies de *Psychotria*, como *Pal. hoffmannseggiana* se agrupando com *Psy. santaremica* e *Pal. platypoda* com *Psy. robusta*. Moraes et al. (2011b) também realizaram análise de agrupamento (UPGMA) constatando que há similaridade entre espécies de *Psychotria* (subg. *Heteropsychotria*) e *Palicourea*.

## CONCLUSÕES

Nosso estudo verificou que as 16 espécies estudadas apresentaram caracteres anatômicos compatíveis com Rubiaceae e comuns entre os gêneros *Palicourea* e *Psychotria*. Concluímos que os 28 caracteres anatômicos foliares analisados foram insuficientes para apoiar a distinção dos gêneros e que as espécies são muito semelhantes quanto à anatomia foliar. Levando em consideração somente nossos resultados, é possível agrupar as espécies em um só gênero, devido as semelhanças dos

caracteres anatômicos foliares. Acreditamos que essas duas espécies do estudo que são do gênero *Psychotria*, permanecem nesse grupo porque ainda não foram feitas as análises necessárias, somente com estudos morfológicos e filogenético é possível fazer essa determinação. Entretanto, cabe maior reflexão quanto à espécie *Palicourea amplexans* que, apesar de compartilhar a maioria dos caracteres, não agrupou com as demais espécies no dendrograma gerado.

## AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Mato Grosso (FAPEMAT) pelas bolsas concedidas aos autores, à Carla P. Bruniera e Daniela C. Zappi pela determinação das espécies; à Fundação Ecológica do Cristalino (FEC) pela permissão de pesquisa e suporte logístico nas duas áreas de estudo.

## REFERÊNCIAS

- ARPA – PROGRAMA ÁREAS PROTEGIDAS DA AMAZÔNIA. Biodiversidade. p. 33. 2010. Disponível em <<http://www.programaarpa.gov.br/wp-content/uploads/2012/10/arpaBiodiversidade.pdf>> Acesso em: 10 novembro 2017.
- BARROS MAA. 1962. Ocorrência das domácias nas Rubiaceas II. Anais E S A Luiz de Queiroz :1-21.
- BARROS CF, CALLADO CH, CUNHA M, COSTA CG, PUGIALLI HRL, MARQUETE O E MACHADO RD. 1997. Anatomia ecológica e micromorfologia foliar de espécies de floresta montana na reserva ecológica de Macaé de cima. In: LIMA HC, GUEDES-BRUNI RR (eds.). Serra de Macaé de Cima: Diversidade Florística e Conservação em Mata Atlântica. Rio de Janeiro: Editora Jardim Botânico do Rio de Janeiro, p. 226 -236.
- BFG. 2015. Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil. Rodriguésia 66: 1085–1113.
- BORHIDI AL. 2011. Transfer of the Mexican species of *Psychotria* subgen. *Heteropsychotria* to *Palicourea* based on morphological and molecular evidences. Acta Bot Hung 53: 241–250.
- BORHIDI AL. 2017. La circunscripción de *Palicourea* subgen. *Heteropsychotria* (Rubiaceae, Palicoureeae). Acta Bot Hung 59: 25–61.
- BONE RA, LEE DW E NORMAN JM. 1985. Epidermal cells functioning as lenses in leaves of tropical rain-forest shade plants. Appl Opt 24: 1408-1412.
- BROUWER YME CLIFFORD HT. 1990. An annotated list of domatia-bearing species. Notes from the Jodrell Laboratory 12:1-33.
- CHAZON RL. 1988. Sunflecks and their importance to forest understorey plants. Adv Ecol Res 18: 1-63.
- CLIFFORD THE STEPHENSON W. 1975. An Introduction to Numerical Clasification Academic Press. New York- San Fransisco: London, 244 p.

- COELHO EG, AMARAL ACF, FERREIRA JLP, SANTOS AG, PINHEIRO MLB E SILVA JRA. 2007. Calcium oxalate crystals and methyl salicylate as toxic principles of the fresh leaves from *Palicourea longiflora*, na endemic species in the Amazonas state. *Toxicon* 49: 407-409.
- COUTINHO LM. 1962. Contribuição ao conhecimento da mata pluvial tropical. Estudo do Balanço D'água de sua vegetação. *Bol Univ São Paulo* 18:13-218.
- DA CUNHA M E VIEIRA RC. 1997. Anatomia foliar de *Psychotria velloziana* Benth. *Rodriguesia* 49: 39-50.
- DUBREUIL V, DEBORTOLI N, FUNATSU B E DURIEUX L. 2012. Impact of land-cover change in the Southern Amazonia climate: a case study for the region of Alta Floresta, Mato Grosso, Brazil. *Environ Monit Assess* 184: 877-891.
- FAHN A. 1990. *Plant Anatomy*. Oxford: Pergamon Press, 558 p.
- FLORA DO BRASIL. 2020. (Em construção). Rubiaceae. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Acesso em: 20 Jan. 2018.
- FRANCESCHI VR E NAKATA PA. 2005. Calcium oxalate in plants: Formation and function. *Ann rev plant biol* 56: 41-71.
- GAVILANES ML, CASTRO EM, PIRES MF, JOSÉ PEREIRA F E PEREIRA MP. 2016. Micromorfometria foliar de *Palicourea rigida* Kunth. (Rubiaceae) em ambiente de cerrado e campo rupestre. *Cerne* 22: 163-170.
- GOMES DMS, MANTOVANI A E VIEIRA RC. 1995. Anatomia foliar de *Psychotria ternuineres* Müll. Arg. e *Psychotria stenocalix* Müll. Arg. (Rubiaceae). *Arq Biol tecnol* 38: 15-33.
- IVANOVA LA E P'YANKOV VI. 2002. Structural adaptations of the leaf mesophyll to shading. *Russ J Plant Physiol* 49: 419-431.
- JOHANSEN DA. 1940. *Plant microtechnique*. New York: McGraw-Hill Book Co. Inc. 523 p.
- JONHSON HB. 1975. Plant pubescence: an ecological perspective. *Bot Ver* 41:233-258.
- KINUPP VFE E MAGNUSSON WE. 2005. Spatial patterns in the understorey shrub genus *Psychotria* in central Amazonia: effects of distance and topography. *J Trop Ecol* 21: 363-374.
- KRAUS JE E ARDUIN M. 1997. *Manual básico de métodos em Morfologia Vegetal*. Editora EDUR - Universidade Rural: Rio de Janeiro – RJ, 198 p.
- KUNIYOSHI YS. 1993. Aspectos morfo-anatômicos do caule, raiz e folha de *Tabebuia cassinoides* (Lam.) DC. (Bignoniaceae) em diferentes fases sucessionais no litoral do Paraná. Tese de Doutorado, Universidade Federal do Paraná, Curitiba.
- LEO RRT, MANTOVANI A E VIEIRA RC. 1997. Anatomia foliar de *Rudgea ovalis* Müll. Arg. e *R. tinguana* Müll. Arg. (Rubiaceae). *Leandra* 12: 33-44.
- LERSTEN NR. 1974. Morphology and distribution of colleters and crystals in relation to the taxonomy and bacterial leaf nodule symbiosis of *Psychotria* (Rubiaceae). *Am J Bot* 61: 973-981.
- MAEHLER M, ROUSSEUW P, STRUYF A, HUBERT M E HORNIK K. 2017. *Cluster: Cluster Analysis Basics and Extensions*. R package version 2.0.6.

- MANTOVANI A, GOMES M, GOMES DMS E VIEIRA RC. 1995. Anatomia foliar de *Rudgea decipiens* Müll. Arg. e *R. Macrophylla* Benth. (Rubiaceae). Acta Bot Bras 9: 247-261.
- MANTOVANI A E VIEIRA RC. 1997. Leaf surface of two understoreyshrubs *Rudgea decipiens* Müll. Arg. And *Rudgea macrophylla* Benth. (Rubiaceae). Rodriguésia 45-49:7-13.
- MARQUES JBC, CALLADO CH, RABELO GR, SILVA NETO SJ E CUNHA M. 2015. Comparative wood anatomy of species of *Psychotria* L. (Rubiaceae) in Atlantic Rainforest remnants of Rio de Janeiro State, Brazil. Acta Bot Bras 229: 433-444.
- MARTÍNEZ-CABRERA D, TERRAZAS T E OCHOTERENA H. 2009. Foliar and petiole anatomy of tribe *Hamelieae* and other Rubiaceae. Ann Mo bot Gard 96: 133-145.
- MENDONÇA ACAM, SILVA MAP, SEIXAS ENC E SANTOS MAF. 2013. Rubiaceae: Aspectos ecológicos e reprodutivos. Cad Cult Ciênc 12: 8-20.
- METCALFE CR E CHALK L. 1950. Anatomy of the dicotyledons leaves, stem and wood in relation to taxonomy with notes on economy uses. Oxford, Clarendon press.
- METCALFE CR E CHALK L. 1979. Anatomy of Dicotyledons. 2 ed. Oxford University Press: Oxford, 790 p.
- METCALFE CR E CHALK L. 1985. Anatomy of dicotyledons: wood structure and conclusion of the general introduction. vol II, 2nd edn. Clarendon Press: Oxford, 330 p.
- MORAES TMS, BARROS CF, NETO SJSN, GOMES VM E CUNHA M. 2009. Leaf blade anatomy and ultrastructure of six Simira species (Rubiaceae) from the Atlantic Rain Forest, Brazil. Biocell, Argentina 33: 155-165.
- MORAES TMS, BARROS CF, KAWASHIMA CG, MIGUENS FC E DA CUNHA M. 2011a. Domatia and leaf blade structure of *Rudgea eugenioides* (Rubiaceae). Rev Bras Biocienc 9: 25-32.
- MORAES TMS, RABELO GR, ALEXANDRINO CR, NETO SJS E CUNHA M. 2011b. Comparative leaf anatomy and micromorphology of *Psychotria* species (Rubiaceae) from the Atlantic Rainforest. Acta Bot Bras 25: 178-190.
- NETO GG E MORAIS RG. 2003. Recursos medicinais de espécies do Cerrado de Mato Grosso: um estudo bibliográfico. Acta bot bras 17: 561-584.
- OKSANEN J, et al. 2017. Community Ecology Package. Package 'vegan'. Versão 2.4-6. 292 p. Disponível em: <https://cran.r-project.org/web/packages/vegan/vegan.pdf>. Acesso em: 28 Jan. 2018.
- PEEL MC, FINLAYSON BL E MCMAHON TA. 2007. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. Hydrol Earth Syst Sci 11: 1633-1644.
- PEREIRA ZV, MEIRA RMSA E AZEVEDO AA. 2003. Morfoanatomia foliar de *Palicourea longepedunculata* Gardiner (Rubiaceae). Rev Árvore 27: 759-767.
- QUINTEIRO MMC, TEIXEIRA DC, MORAES MG E SILVA JG. 2006. Anatomia foliar de *Psychotria viridis* Ruiz & Pav. (Rubiaceae). Rev Uni Rural 26: 30-41.

- RIBEIRO JELS et al. 1999. Flora da Reserva Ducke. Guia de Identificação das plantas vasculares de uma floresta de terra-firme na Amazônia Central. Manaus – AM: INPA, DFID (Departament for International Development), 816 p.
- ROBBRECHT E. 1988. Tropical woody Rubiaceae. Opera Bot 1: 1-271.
- ROESER KR. 1962. Die nadel der Schwarzkiefer-masenprodukt und Keinstwert der Natur. Mikrokosmos 61: 33-36.
- ROMERO MF, SLAS RM E GONZALEZ A. 2015. Morpho-anatomic studies of leaf domatia in Argentinian Rubiaceae. Bol Soc Argent Bot 50: 493-514.
- SASAKI D, ZAPPI D, MILLIKEN W, HENICKA GS E PIVA JH. 2010. Vegetação e plantas do Cristalino – um manual. Alta Floresta, Mato Grosso: Royal Botanic Gardens, Kew, Fundação Ecológica Cristalino, 128 p.
- SMITH WK, VOGELMANN TC, DELUCIA EH, BELL DT E SHEPHERD KA. 1997. Leaf form and photosynthesis: do leaf structure and orientation interact to regulate internal light and carbon dioxide? Bioscience 47: 785-793.
- SOKAL RR E ROHGLF FJ. 1962. The comparison of dendrograms by objective methods. Taxon 11: 30-40.
- SOUZA VC E LORENZI H. 2012. Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de Fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APGIII. 3ª ed. Nova Odessa: Instituto Plantarum, 768p.
- TAYLOR CM E HOLLOWELL VC. 2016. Rubiacearum Americanarum Magna Hama Pars XXXV: The New Group *Palicourea* sect. *Nonatelia*, with five new species (Palicoureeae). Novon 25: 69-110.
- TAYLOR CM. 2017. Rubiacearum Americanarum Magna Hama Pars XXXVI: New Species and Taxonomic Changes in *Palicourea* (Palicoureeae). Novon 25: 238-258.
- TAYLOR CM E GEREAU RR. 2013. The genus *Carapichea* Rubiaceae: Psychotrieae). Ann Mo Bot Gard 99: 100–127.
- VIEIRA RC, GOMES DMS E FERRAZ CLA. 1992. Anatomia foliar de *Psychotria nuda* Wawra e *Psychotria leiocarpa* Mart. (Rubiaceae). Hoehnea 19: 185-195.
- VIEIRA RC E MACHADO RD. 1992. Superfície foliar de *Bauhinia radiata* Vell. em dois ambientes. Hoehnea 19:111-116.
- VIEIRA RC E GOMES DMS. 1995. Superfície da lâmina foliar de *Psychotria nuda* (Cham. & Schldtl.) Wawra, *P. leiocarpa* Cham. & Schldtl., *P. stenocalyx* müll. Arg. e *P. tenuinervis* Müll Arg. (Rubiaceae). Acta Bot Bras 92: 263-270.
- WERKER E. 2000. Trichome diversity and development. In: D.L. Hallahan & J.C. Gray (eds.). Plant Trichomes. Academic Press, London. Advances in Botanical Research, 31: 1-30.
- WILKINSON HP. 1979. The plant surface. In: Metcalfe, C.R. & Chalk, L. Anatomy of the dicotyledons.- systematic anatomy of the leaf and stem. Claredon Press: Oxford.
- ZINI AS, MARTINS S, TODERKE ML E TEMPONI LG. 2016. Anatomia foliar de Rubiaceae ocorrentes em fragmento florestal urbano de Mata Atlântica, PR, Brasil. Hoehnea 43: 173-182.

TABELA I

Espécies dos gêneros *Palicourea* Aubl. e *Psychotria* L., estudadas em três áreas de vegetação nativa no norte de Mato Grosso, Brasil. RFA: Reserva do Floresta Amazônica Hotel Resort. NCN: área em Nova Canaã do Norte. Voucher: número de tombo no Herbário (HERBAM).

Voucher	Nome correto	Nome antigo	Local de coleta
20623	<i>Palicourea amplexans</i> (Benth.) Delprete & J.H.Kirkbr. 2016	<i>Psychotria amplexans</i> Benth.	RPPN's Cristalino
20631	<i>Palicourea bracteocardia</i> (DC.) Delprete & J.H.Kirkbr. 2016	<i>Psychotria bracteocardia</i> DC.	RPPN's Cristalino
20619	<i>Palicourea colorata</i> (Willd. ex Roem. et Schult.) Borhidi 2017	<i>Psychotria colorata</i> (Willd. ex Roem. et Schult.) Müll. Arg. in Mart.	RPPN's Cristalino
20615	<i>Palicourea deflexa</i> (DC.) Borhidi 2011	<i>Psychotria deflexa</i> DC.	RFA
20624	<i>Palicourea hoffmannseggiana</i> (Willd. ex Roem. et Schult.) Borhidi 2011	<i>Psychotria hoffmannseggiana</i> (Willd. ex Roem. et Schult.)	RPPN's Cristalino
20634	<i>Palicourea macrobotrys</i> (Ruiz & Pav.) Schult. in J.J.Roemer & J.A.Schultes 1819	<i>Psychotria macrobotrys</i> Ruiz & Pav.	RPPN's Cristalino
20617	<i>Palicourea nitidella</i> (Müll.Arg.) Standl. 1930	<i>Psychotria nitidella</i> Müll.Arg.	NCN
EG 2175	<i>Palicourea ownbeyi</i> (Standl. ex C.M.Taylor) C.M.Taylor 2015	<i>Psychotria ownbeyi</i> Standl. ex C.M.Taylor	RPPN's Cristalino
20630	<i>Palicourea platypoda</i> (DC.) Borhidi 2017	<i>Psychotria platypoda</i> DC.	RPPN's Cristalino
20636	<i>Palicourea prunifolia</i> (Kunth) Borhidi 2017	<i>Psychotria prunifolia</i> Kunth	RPPN's Cristalino
20632	<i>Palicourea racemosa</i> (Aubl.) Borhidi 2011	<i>Psychotria racemosa</i> (Aubl.) Rich.	RPPN's Cristalino
20620	<i>Palicourea rosea</i> (Benth.) Borhidi 2017	<i>Psychotria rosea</i> (Benth.) Müll. Arg. in Mart.	RPPN's Cristalino
20627	<i>Palicourea subcuspidata</i> (Müll.Arg.) C.M.Taylor 2015	<i>Psychotria subcuspidata</i> Müll.Arg.	RPPN's Cristalino
20618	<i>Palicourea tomentosa</i> (Aubl.) Borhidi 2011	<i>Psychotria poeppigiana</i> Aubl.	RFA
20621	<i>Psychotria robusta</i> Blume	Xx	RPPN's Cristalino
20616	<i>Psychotria santaremica</i> Müll.Arg.	Xx	RFA



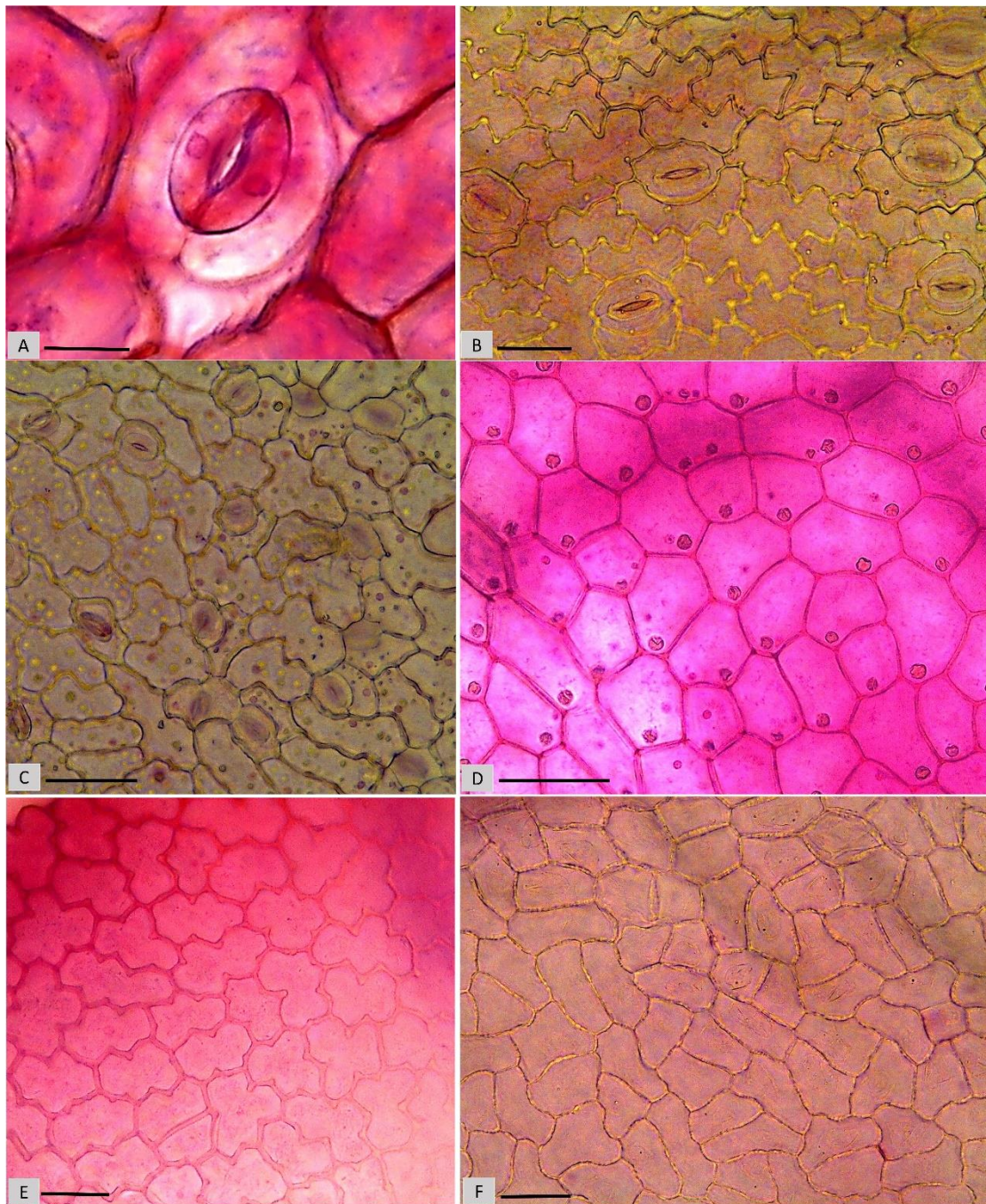
TABELA II

Matriz de presença e ausência dos caracteres anatômicos foliares apresentados por espécies de *Palicourea* Aubl. e *Psychotria* L., coletadas em áreas de floresta ombrófila densa e de transição no norte de Mato Grosso, Brasil.

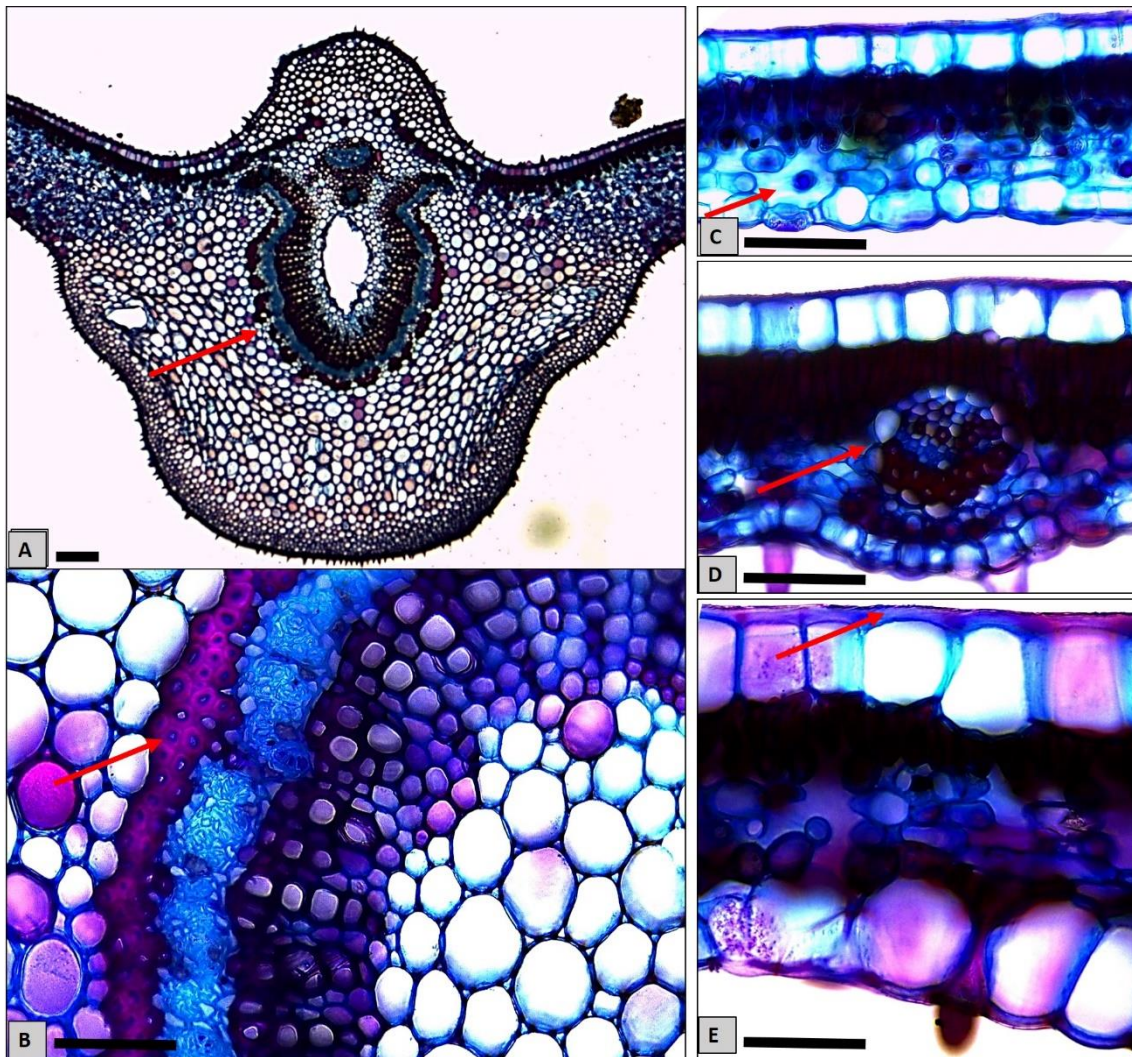
(1– presença e 0– ausência).

Características		<i>Palicourea</i> aff.	<i>Palicourea amplexans</i>	<i>Palicourea</i>	<i>Palicourea colorata</i>	<i>Palicourea</i> cf. <i>nitidella</i>	<i>Palicourea deflexa</i>	<i>Palicourea</i>	<i>Palicourea ownbeyi</i>	<i>Palicourea platypoda</i>	<i>Palicourea prunifolia</i>	<i>Palicourea racemosa</i>	<i>Palicourea rosea</i>	<i>Palicourea</i>	<i>Palicourea tomentosa</i>	<i>Psychotria robusta</i>	<i>Psychotria</i>		
Dissociação	Epiderme abaxial	paredes curvas	1	0	1	1	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0		
		paredes sinuosas	0	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	0	1	1	1	
	Epiderme adaxial	paredes retas	1	1	0	1	1	1	0	0	1	0	1	1	1	1	1	0	
		paredes curvas	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	
		paredes sinuosas	0	0	0	0	0	0	1	1	0	1	0	0	0	0	0	1	
	Estômato	Paracítico	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
Mesófilo	Epiderme abaxial	Células com paredes alongadas anticlinalmente	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0		
		Células isodiamétricas	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	1	0	
		Células com paredes	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	0	1	0	1	
	Epiderme adaxial	Células isodiamétricas	0	1	1	1	0	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	0	
		Células com paredes alongadas periclinalmente	0	0	0	1	0	0	1	0	1	1	0	1	1	0	1	1	
		Papilosa	1	0	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	
	Cutícula	Delgada	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	
		unicelular	1	0	0	1	0	0	1	1	1	0	1	1	1	0	0	1	
		Multicelular unisseriado	1	0	1	1	0	0	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	
	Tricomas tectores	Tricoma com cutícula ornamentada		0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	1	1	1	1	0	1
	Mesófilo	Nível estômatos	hipostomática	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
			Nivelado	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		Câmara subestomática	não volumosa	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1
		Parênquima paliçádico	Parênquima paliçádico com + de 1 camada	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1
		Espaços intercelulares	conspícuos	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	1	0	0
			inconspícuos	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	0	0	0	0	1	1
		Colênquima	Angular	1	1	0	1	1	0	1	0	0	1	1	1	0	0	0	1
			Lacunar	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0	0	0	0	0	1	1
			lamelar	0	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	1	1	0
Anelar			0	0	0	0	0	1	0	0	0	0	0	0	1	0	0	0	
Drusas			0	0	0	0	1	0	0	0	1	0	0	0	0	0	1	0	
células especializadas		monocristais	0	0	1	0	0	0	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1	
		Ráfides	1	0	0	0	1	1	1	1	1	0	1	0	1	1	1	1	
		cristais estiloides	1	1	1	0	0	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1	
Lacunas de ar		1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	1	0	0	1	1		
Feixe colateral		1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
Células secretoras		0	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1		
Nervura central	Colênquima	1	1	1	1	1	1	1	1	1	0	1	1	0	1	1	1		
	Fibras	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	Células secretoras	1	0	1	1	1	1	1	1	0	1	1	1	1	1	1	1		
	Idioblastos	0	0	1	0	0	1	1	0	1	0	1	1	0	1	1	1		
	Domácias	0	0	0	0	0	0	1	1	1	0	1	0	0	0	1	1		
	Células sinuosas	1	0	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		
	Feixe colateral	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		

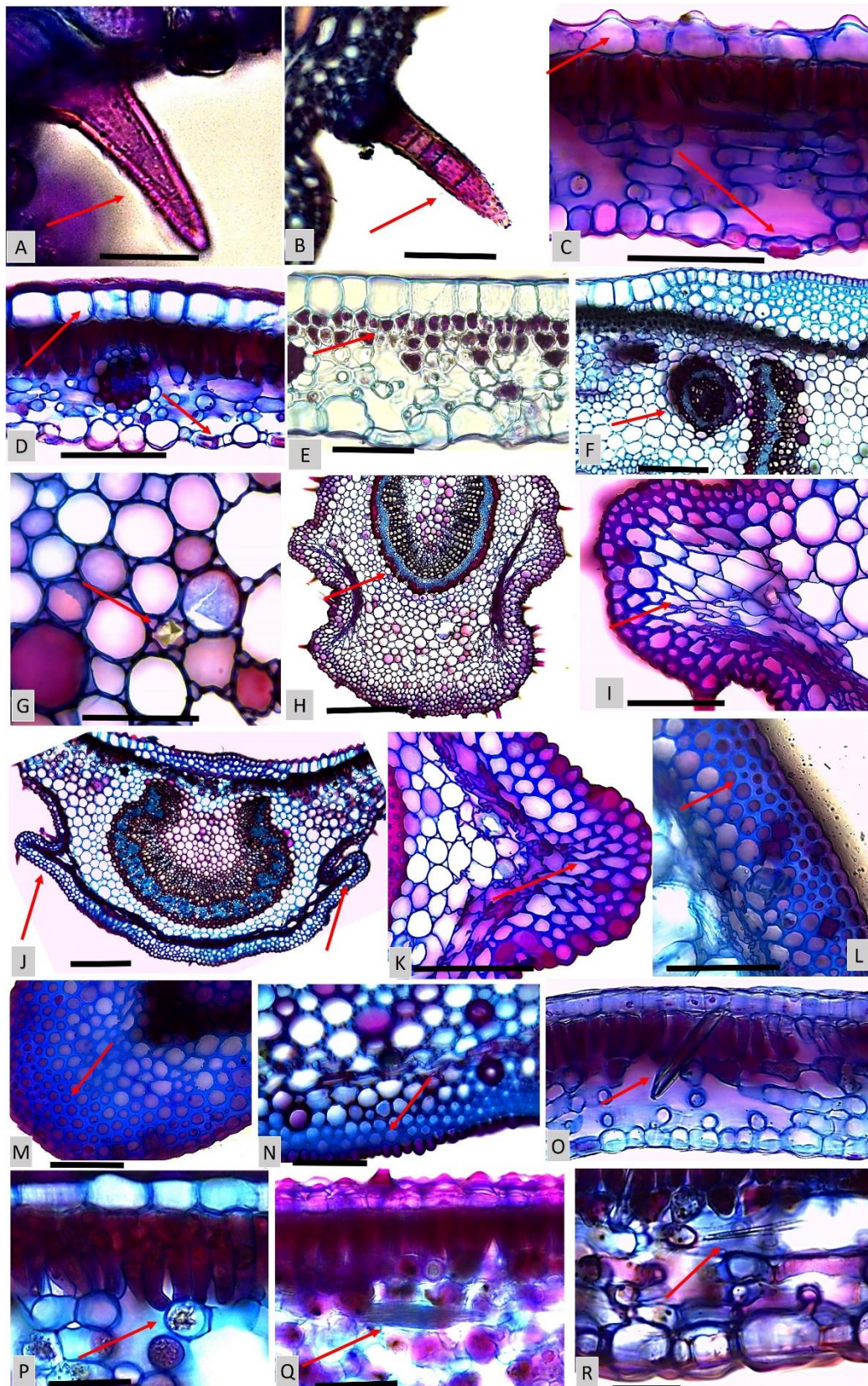
\* cutícula com menos de 25% de tamanho em relação as células da epiderme.



**Figura 1-** (A) Detalhe do estômato paracítico com células guarda reniformes de *Palicourea colorata*; (B) Células epidérmicas abaxiais com paredes sinuosas em *Palicourea amplexens*; (C) Células epidérmicas abaxiais com paredes curvas em *Palicourea rosea*; (D) Células epidérmicas adaxiais com paredes retas em *Palicourea tomentosa*; (E) Células epidérmicas adaxiais com paredes sinuosas de *Palicourea prunifolia*; (F) Células epidérmicas adaxiais com paredes curvas de *Palicourea bracteocardia* (Figuras com barra com 30 µm).

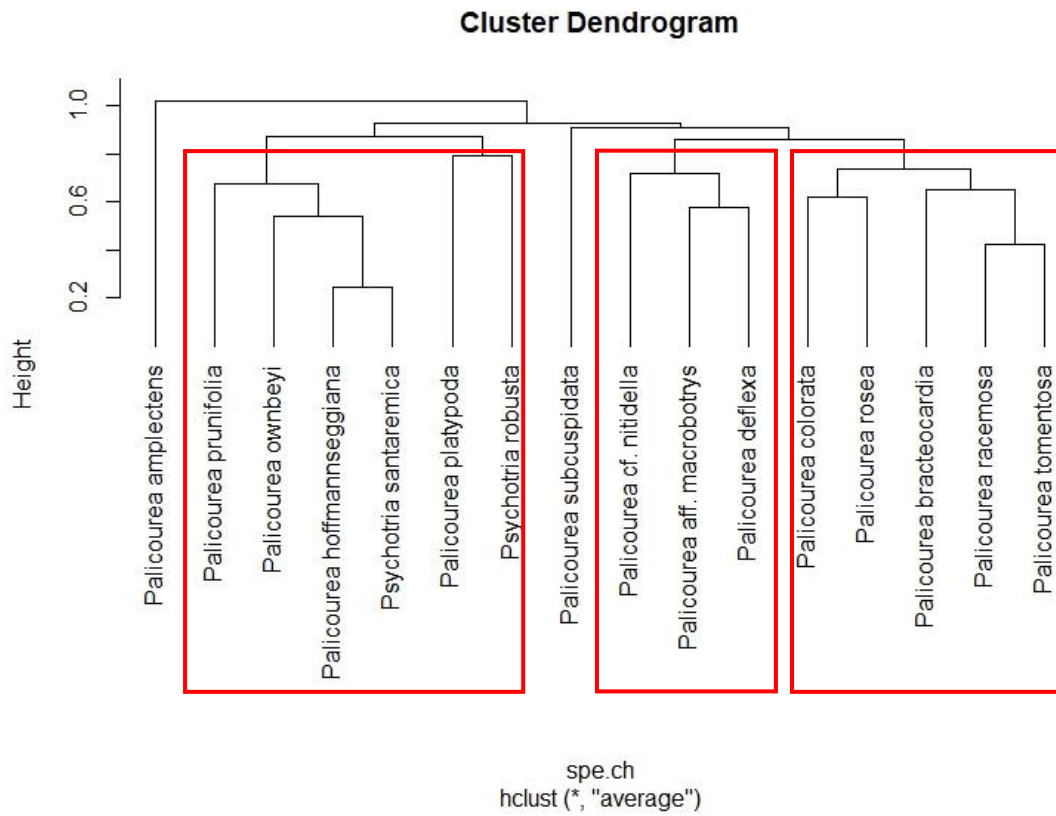


**Figura 2-** (A) Nervura central de *Palicourea* aff. *macrobotrys*, evidenciando sistema vascular em formato de arco e presença de feixes acessórios; (B) Feixe colateral com presença de fibras periclinais em *Palicourea racemosa*; (C) Lâmina foliar de *Palicourea subcuspidata*, apresentando câmara subestomática não volumosa; (D) Feixe secundário presente no mesofilo de *Palicourea rosea*; (E) Lâmina foliar de *Palicourea tomentosa*, mostrando cutícula com menos de 25% de tamanho em relação as células da epiderme. (Figura A barra com 150  $\mu\text{m}$ ; Figuras B-E barra com 30  $\mu\text{m}$ )



**Figura 3-** (A) Tricoma tector unisseriado unicelular de *Palicourea rosea*; (B) Tricoma tector unisseriado multicelular ornamentando de *Palicourea tomentosa*; (C) *Palicourea platypoda* com células adaxiais papilosas e abaxiais achatadas e estômatos nivelados; (D) *Palicourea colorata* com células adaxiais quadradas e abaxiais arredondadas e estômatos nivedos; (E) *Palicourea racemosa* com 2 camadas de parênquima paliçádico e (F) Feixe anficrival; (G) *Palicourea bracteocardia* com monocristais e (H) células sinuosas; (I) *Palicourea rosea* mostrando detalhes de células sinuosas; (J)

Domácias em *Palicourea platypoda* em fenda; (K) Colênquima angular de *Palicourea prunifolia*; (L) *Psychotria robusta* com presença de colênquima lacunar e (M) lamelar; (N) Colênquima anelar em *Palicourea deflexa*; (O) Cristais estiloides em *Palicourea amplexans*; (P) Drusas no mesofilo de *Palicourea* cf. *nitidella*; (Q) Feixe de ráfides em *Palicourea* aff. *macrobotrys* e (R) Ráfides em *Palicourea platypoda*. (Figura F, H e J, barra com 100  $\mu\text{m}$ ; demais figuras barra com 30  $\mu\text{m}$ ).



**Figura 4** – Dendrograma a partir de caracteres anômicos foliares de 16 espécies dos gêneros *Palicourea* e *Psychotria* (Rubiaceae) ocorrentes no norte do estado de Mato Grosso, Brasil.

## APÊNDICE I

UNIVERSIDADE DO ESTADO DE MATO GROSSO – CAMPUS ALTA FLORESTA LABORATÓRIO DE BIOLOGIA VEGETAL Profª. Dra Ivone Vieira da Silva			
<b>DIAGNOSE ANATÔMICA FOLIAR</b>			
Pesquisador (a)			
Família botânica			
Espécie			
VISTA FRONTAL (DISSOCIAÇÃO)			
<b>Epiderme abaxial</b>	( ) + ( ) -	( ) retas ( ) curvas ( ) sinuosas	
<b>Epiderme adaxial</b>	( ) + ( ) -	( ) retas ( ) curvas ( ) sinuosas	
<b>Conteúdo</b>	Obs.:		
<b>Estômato</b>	( ) anomocítico ( ) anisocítico ( ) paracítico ( ) diacítico ( ) actinocítico		
<b>Forma das células-guardas</b>	( ) reniforme ( ) halteriforme		
<b>Cristas estomáticas</b>	( ) presença ( ) ausência		
CORTES TRANSVERSAIS			
MESOFILO			
<b>Epiderme abaxial</b>	( ) + ( ) -	( ) alta ( ) quadrado ( ) retangular ( ) achatado ( ) papilosa	
Obs.:			
<b>Epiderme adaxial</b>	( ) + ( ) -	( ) alta ( ) quadrado ( ) retangular ( ) achatado ( ) papilosa	
Obs.:			
<b>Cutícula</b>	( ) até 25% ( ) 26 a 50% ( ) 51 a 75% ( ) acima de 75%		
<b>Cutícula dos tricomas</b>	( ) lisa ( ) ornamentada		
<b>Tricomas</b>	( ) tector ( ) glandular ( ) escamiforme ( ) unicelular ( ) bicelular ( ) multicelular ( ) unisseriado ( ) bisseriado ( ) multisseriado	<b>Desenho</b>	
<b>Folha quanto aos estômatos</b>	( ) epiestomática ( ) hipostomática ( ) anfiestomática		
<b>Estômatos</b>	( ) elevado ( ) depressão ( ) criptas		
<b>Câmara subestomática</b>	( ) volumosa ( ) não volumosa ( ) com obstrução		
<b>Câmara supraestomática</b>	( ) volumosa ( ) não volumosa ( ) com obstrução		
<b>Hipoderme</b>	( ) presença ( ) ausência	Nº de camadas	
<b>Parênquima paliçádico</b>	Nº de camadas:	Obs.:	
<b>Parênquima lacunoso</b>	Nº de camadas:	Obs.:	
	Espaços intercelulares: ( ) extremamente volumoso ( ) conspicuo ( ) inconspicuo		
<b>Colênquima</b>	( ) angular ( ) lacunar ( ) lamelar ( ) anelar		
<b>Esclereídes</b>	( ) macroesclereídes ( ) tricoesclereídes ( ) braquiesclereídes ( ) astroesclereídes ( ) osteoesclereídes		
<b>Idioblastos</b>	( ) drusas ( ) monocristais ( ) ráfides ( ) cristais estiloides. Obs:		
<b>Lacunas de ar</b>	( ) presença ( ) ausência	Local:	
<b>Fibras extravasculares</b>	( ) isoladas ( ) grupos ( ) cordão	<b>Fibras vasculares</b>	( ) calota ( ) extensão
<b>Feixe vascular mesofilo</b>	concêntrico: ( ) anficrival ou ( ) anfigival / ( ) colateral; ( ) bicolateral		
<b>Célula secretora</b>	( ) presença ( ) ausência	Obs.:	
NERVURA CENTRAL			
Presença: ( ) colênquima ( ) fibras ( ) célula secretora ( ) idioblastos ( ) células sinuosas			
<b>Feixe vascular</b>	concêntrico: ( ) anficrival ou ( ) anfigival / ( ) colateral ( ) bicolateral		
<b>OBSERVAÇÕES:</b>			

### **3.2. Leaf plasticity, fruit production and survival of *Palicourea racemosa* in sun-shade conditions in the Amazon rainforest understory<sup>2</sup>**

<sup>2</sup>Artigo submetido para o periódico Flora.



## ABSTRACT

*Palicourea racemosa* (Aubl.) Borhidi (Rubiaceae) is a common understory sub-shrub in the Brazilian Amazon rainforest, most often found in shaded environments but some individuals appear to survive on soft forest edges. Due to the increase of disturbed Amazonian forests, we aimed to evaluate leaf plasticity and fruit production of *P. racemosa* in sun-shade conditions, seeking to understand if changes in light conditions may affect species survival. We realized morpho-anatomical measurements in mature leaves which were grown under sun and shade conditions in a rainforest fragment in Southern Brazilian Amazon. Besides, in sun and shade plants, we quantified production of new and mature leaves, and fruits per crown over a period of one year (June/2016-May/2017). Significant differences between sun-shade leaves were found in 16 (seven morphological and nine anatomical) out of 20 investigated traits, most of them with high plasticity index values. Sun leaves were larger, thicker, heavier, with higher stomatal index and higher proportions of photosynthetic tissues, while shade leaves showed higher specific leaf area and thicker upper epidermis. Compared to shade, sun plants produced more new leaves per crown during rainy season and had higher percentage of severe damaged leaves during dry season. Comparing seasons, shade plants had higher number of mature and damaged leaves per crown during rainy season, whereas sun plants did not differ among seasons. Fruit production was lower in sun plants due to severe predation events both on inflorescence and fruiting stages. Our results show that *P. racemosa* is a plastic species in leaf morpho-anatomical traits, which has potential to cope with variable light conditions in the forest, but is negatively affected by indirect edge factors, such as high herbivory rates. Our results become relevant to elucidate the potential of understory species to survive under increasing stress factors derived from fragmentation and climate change.

**Keywords:** edge effect; herbivory; light acclimation; phenology; *Psychotria racemosa*; Rubiaceae.

## 1. Introduction

Over all plant communities in the world, species are being exposed continually to changing environmental conditions due to natural processes, but mainly to human activities, which causes high levels of deforestation and habitats destruction, mostly in tropical areas. As a result, there is an increase in the proportion of fragments and forest edges, with consequent changes in abiotic and biotic factors (Murcia, 1995). Higher temperatures and greater luminosity are the most common abiotic changes reported for the remaining disturbed areas, associated with other variations such as higher wind occurrence and lower air humidity (e.g., Lovejoy et al., 1986; Murcia, 1995). For

understory species this is especially dramatic, as they occupy a cooler and more shaded environment in the forest and acclimation is therefore crucial to their growth and survival in the new forest edges. As plants are sessile organisms, phenotypic plasticity is considered one of the major means by which they can cope with variability in several abiotic and biotic factors co-occurring in complex, such as light, water, CO<sub>2</sub>, temperature, nutrients and herbivory (Valladares et al., 2007; Gratani, 2014).

The adjustment of leaf characteristics may be the most efficient way to acclimate and forage for light (Rozendaal, 2006). Numerous studies reported leaf morphological, anatomical and physiological changes in response to the environmental heterogeneity of irradiance, both for temperate and tropical species (see reviews of Sultan, 2000; Pearcy et al., 2005; Valladares et al., 2007; Gratani, 2014). Compared to shade leaves, the grown full sun leaves are typically smaller and thicker, with more stomata per unit of leaf area, thicker cuticle, thicker mesophyll and palisade parenchyma, more supporting and vascular tissues, and higher photosynthetic and respiration rates, among other traits (e.g., Lichtenthaler et al., 1981; Fisher 1986; Sims and Pearcy, 1992; Strauss-Debenedetti and Berlyn, 1994; Cao, 2000; Rozendaal, 2006; Sack et al., 2006; Markesteijn et al., 2007). Such changes in the characteristics of sun leaves have been considered to avoid damage by high temperature, high sunlight incidence and water stress. On the other hand, shade leaves usually develop higher values of specific leaf area (SLA; amount of leaf area per unit of leaf dry mass), which has been interpreted as a strategy to optimize light capture and maintain a high performance under shading (e.g., Rozendaal et al., 2006; Liu et al., 2016). Since SLA reflects the dry-mass cost (e.g., photosynthate and mineral nutrients) of deploying new leaf area, it is very important for worldwide leaf economics spectrum (Wright et al., 2004), being the leaf feature most extensively investigated in contrasting light conditions.

The magnitude of plasticity differs among forest types, species, life stages and leaf traits, with tropical wet forests, gap and generalist species, and physiological traits reported as the more plastic (e.g., Ashton and Berlyn 1992; Valladares et al., 2000; Markesteijn et al., 2007; Gratani, 2014; Vieira et al., 2014; Puglieli et al., 2015). Seasonal variation in leaf plasticity may also occur in some species (Banerjee and Dewanji, 2017). Physiological plasticity allows short-term adjustments of gas exchange in response to environmental changes, which become important through abrupt or gradual formation of a gap in the forest, enhancing plants capacity to colonize new open areas and also the survival of understory plants (including canopy seedlings) under increased light levels (e.g., Kitao et al., 2000; Valladares et al., 2002; Niinemets and Valladares, 2004; Gratani, 2014). Plastic responses are also expected in the plants through gap closure (vegetation regrows), mostly related to the decrease in irradiance over time (Valladares et al., 2000). In forest understories, plasticity in morphological leaf traits has an important role for resource acquisition and therefore it improves

capacity to grow under low-light conditions (e.g., Poorter 1999; Navas and Garnier, 2002; Niinemets and Valladares, 2004; Gratani, 2014).

Besides morphological, anatomical and physiological leaf plasticity, there may also occur phenological variation among conspecific individuals exposed to full sun (e.g., forest edges or gaps) and shade conditions, particularly in understory species and seedlings of canopy species. Although more focused on temperate than tropical species, some studies reported variations on timing, duration and intensity of phenophases, with sun plants usually showing earlier onset of phenophases, shorter leaf longevity, faster leaf turnover and higher production of leaves, flowers and fruits (e.g., Langenheim et al., 1984; Bongers and Popma, 1990; Seiwa, 1999, Valladares et al., 2000; Kikuzawa, 2003; Laurance et al., 2003; Ramos and Santos, 2005; Shimizu et al., 2006; Kilkenny and Galloway, 2008; Vogado et al., 2016).

In this context, we evaluate leaf morpho-anatomical plasticity and fruit production in sun-shade plants of *Palicourea racemosa* (Aubl.) Borhidi (= *Psychotria racemosa*, Rubiaceae), a common understory species in the Southern Amazon rainforest. *P. racemosa* is a sub-shrub widely distributed in lowland wet forests from South Mexico to Southeastern Brazil (Taylor and Hollowell, 2016; Govaerts et al., 2018), and commonly sampled in floristic surveys in the major Brazilian vegetation domains (e.g., Taylor 2007; Zappi et al., 2011; Faxina et al., 2015). *P. racemosa* is referred to as occurring mainly in forest edges or gaps in the Panamanian rainforest, and one of the species with higher leaf plasticity (Valladares et al., 2000; Sakai and Wright 2008). In Brazil, the species occurs both in forested and deforested sites of the lowland Atlantic rainforest (Silva et al., 2008; Andrade et al., 2015), but in the Southern portion of the Amazon rainforest, the species is most often found in shaded environments and eventually in soft forest edges (E.Gressler, personal observation). Seeking to understand the predominant occurrence of *P. racemosa* in shaded parts in the Brazilian Amazon rainforest, we addressed two main questions: (1) What is the magnitude of phenotypic plasticity in morphological and anatomical leaf traits under sun-shade conditions? (2) How does vary the production of new leaves, mature leaves and fruits between sun and shade plants? (3) What is the relation of leaf plasticity and phenology with the species survival in sun-shade conditions? We hypothesize that if light intensity limits the occurrence of *P. racemosa* to shaded environments, this species would present low plasticity in leaf traits and low potential to acclimate, and therefore could be considered as a shade-tolerant species. We also expect that increased sunlight would promote higher production of leaves and fruits per crown, as reported in previous studies.

In view of the increasing disturbed forests in the Brazilian Amazon region (Laurance et al., 1998; Broadbent et al., 2008), knowledge of leaf plasticity and overall plant fitness could elucidate the potential of plant species to persist in the distribution area in response to increasing stress factors, including global change (Puglieli et al., 2015). According to Soolanayakanahally et al. (2009), species

with extensive geographical range, as *P. racemosa*, may be good models for the study of local and regional adaptations because they have the potential to exhibit larger intraspecific variations in physiology, morphology, phenology and growth rate. To the best of our knowledge, this is the first comparative study addressing morpho-anatomical plasticity and productivity in sun-shade conditions of an understory species in the Brazilian Amazon rainforest.

## 2. Material and Methods

### 2.1. Study area

The field work was conducted in a 50 ha fragment of Amazon evergreen rainforest (or “terra firme” dense forest) in the central urban area of Alta Floresta municipality, Mato Grosso State, Brazil (9°52'42.7”S, 56°5'55.5”W, 300 m above sea level). The fragment is a private reserve (Natural Reserve of the Floresta Amazônica Hotel Resort - RFAH) with flat topography and several trails running through the area, which are used frequently for ecological activities with students and tourists, with low anthropogenic impact on the plant species. The main trail was opened between 1996 and 1998, and is about 2-5 m wide on the ground, with little visual canopy opening. The forest has an average canopy height between 20-30 m, characterized mainly by Fabaceae trees, and a rich and dense understory, dominated by species of Rubiaceae, Piperaceae, Annonaceae, Costaceae and Acanthaceae (E. Gressler, personal communication). The external edges of the fragment are limited by roads, areas with bare soil or low herbaceous cover and urban areas.

Regional climate is classified as Aw type (Peel et al., 2007), with mean annual temperature of 26-27°C and mean annual rainfall of 2232 mm, with a defined dry season (< 100 mm per month) from May until September (Dubreuil et al., 2012). The highest mean temperatures are recorded during the dry season. In the period from June/2016 to May/2017, the total annual rainfall was 2099 mm and mean annual temperature 25.9°C. Meteorological data were collected at the Station of the Mato Grosso State University (UNEMAT), about 3.5 km from the study area. Day length at latitude 9° varies from 11.6 h/day in June to 12.7 h/day in December (Varejão-Silva, 2006), with higher values in the rainy season.

*Palicourea racemosa* is homostylous and individuals are very abundant and well distributed in the study area (Fig. 1). The species is easily identifiable in the fruiting period, due to the orange immature fruits and juicy black ripe fruits (Fig. 1C-D). The height of the adult individuals ranges from 0.2 to 1.6 m, characteristically with few mature leaves in the crown throughout the year (on average  $15.6 \pm 17.6$  maximum 135; Franco et al., in preparation). The species is most often found in the shaded parts of the forest, but some individuals occur in soft forest edges of the area (e.g., narrow

trails and small gaps), where light incidence is visually higher throughout the day. No individual of *P. racemosa* was found on the main edges of the fragment.

## 2.2. Environmental light conditions

In points near (5-10 m) the individuals of *Palicourea racemosa* sampled for this study (for morphology, anatomy and phenology – Sections 2.3 and 2.4), we took hemispheric photographs with a digital professional camera (Nikon DSLR D600) equipped with a fisheye 8 mm lens (Sigma EX DG 1:3.5). The camera was mounted on a tripod at 1.0 m aboveground, with the top of the camera orientated to the magnetic north using a compass. Photographs were taken on 27th September/2016 (beginning of the rainy season), a cloudy day (as required for hemispheric photographs), from 08:00 to 09:00 a.m., in five points for sun and shade plants, respectively. Canopy openness (%) and the number and duration of sunfleck events were analyzed in the photographs using the program Gap Light Analyzer version 2.0 (Frazer et al., 1999), and we calculated a mean value for both variables. Sunfleck events are recorded by GLA based on a user-defined interval of change in solar position throughout the growing season (set to 2 min and from January 1 to December 31, respectively). Over the course of the study (April/2016 to May/2017) we did not observe significant changes in the forest (i.e., formation of new gaps) nearby the sampled individuals of *P. racemosa*.

## 2.3. Morphological and anatomical leaf traits

Completely expanded leaves, without extensive signs of scarring, galls, diseases or damage by herbivores, were collected from the upper leaf layer in the crown of *Palicourea racemosa* individuals growing in two different light conditions: sun and shade. Shade plants were sampled randomly in at least 50 m away from the nearest trail, and sun plants near the main trail of the Reserve, in points where we visually detected high incidence of light (at least part of the day fully exposed to sun). Only plants bearing fruits were sampled to avoid juvenile and, as much as possible, we sampled plants with similar size to minimize ontogenetic effects on the analysis. Voucher specimens were deposited in the Herbarium of the Southern Amazon (HERBAM), Mato Grosso State University (UNEMAT).

Morphological traits were obtained on 60 leaves collected in March/2017 (five leaves per individual, n = six individuals in each light condition – sun and shade). We considered eight leaf traits: petiole length (mm), blade length (mm), blade width (mm), blade margin thickness (mm), leaf area (cm<sup>2</sup>), leaf dry mass (g), specific leaf area (cm<sup>2</sup> g<sup>-1</sup>) and water content in the leaf (%). Leaf size and thickness were measured using a digital pachymeter, and leaf area using a LI-COR Model 3100 area meter (LI-COR, Lincoln, Nebraska, USA). Thereafter, leaves were oven dried for 72 h at 65°C

and measured for their dry mass. Specific leaf area (SLA) was calculated by the ratio of leaf area to leaf dry mass. Leaf water content was calculated through the difference between fresh and dry mass.

For anatomical measurements, we sampled five different, but near, individuals from those collected for morphological analysis, because crowns of *P. racemosa* have few mature leaves. Anatomical traits were measured in 30 leaves collected in July/2016 (three leaves per individual, n = five individuals in each light condition). Fresh samples were fixed in FAA<sub>50</sub> and subsequently stored in alcohol 70%. The median portion of each leaf was freehand cut with razor blades, cleared with 2% sodium hypochlorite and stained with Astra blue and basic fuchsin (Roeser, 1962). Leaf epidermis was analyzed using the Jeffrey modified method of separation (Johansen, 1940), and stained with basic fuchsin (Roeser, 1962). The slides were observed using a Leica®ICC50 trinocular photonic microscope, coupled to a computer. Microphotographs were taken with the support of software LAZ EZ 1.7.0 and used for anatomical measurements.

For the comparison between sun and shade leaves, we measured twelve anatomical traits using the Quantitative Analysis Software ANATIQUANTI® (Aguiar et al., 2007): thicknesses of the upper (adaxial) and lower (abaxial) epidermis ( $\mu\text{m}$ ), stomatal index (ratio of stomata to epidermal cells – given in %) and density (number of stomata per  $\text{mm}^2$  leaf area), depth of the substomatic chambers ( $\mu\text{m}$ ), thicknesses of the palisade and spongy parenchyma ( $\mu\text{m}$ ), palisade to spongy parenchyma ratio (palisade parenchyma thickness/spongy parenchyma thickness), height of the midrib or central vein ( $\mu\text{m}$ ), thickness of the upper collenchyma tissue in the midrib ( $\mu\text{m}$ ), height of the central vascular bundle and thickness of the associated sclerenchyma tissue ( $\mu\text{m}$ ). Each anatomical trait was analyzed using 3-4 sections per leaf, totaling 10 sections from each individual (n = 50 sections for sun and shade condition, respectively), with the exception three variables described below. Stomatal index and density were analyzed only for the lower epidermis (as the leaves of *P. racemosa* were observed as being hypostomatic), using six fields of view per individual (n = 30 fields for each light condition). The depth of the substomatic chambers were measured only in the sections in which we could distinguish the spongy lacunae from the chamber borders (n = 14 sections for sun, and n = 9 sections for shade). For the thickness and height measurements, tissue cross-sectional areas were averaged for three points per tissue per leaf cross-section. We were unable to perform comparative measurements for the leaf density of trichomes (due to the small size and amount of the trichomes in the leaves) and the thickness of the cuticle and epidermal cell walls (due to the thin thickness – less than 10% of the adjacent epidermal cell size).

## **2.4. Leaf phenology and fruit production**

For the better understanding of the growth and leaf development of *Palicourea racemosa* in sun-shade conditions we assessed leaf phenology in individuals which were sampled for a phenological research in the study area (A.A.Franco, unpublished data, April/2016 onwards). In this set of unharvested plants, we selected nine growing under sun (throughout the main trail of the area) and 12 under shade conditions, all of them healthy when marked and in close proximity to where we collected leaves for morphological and anatomical analysis. To minimize ontogenetic effects on the results, as much as possible we selected plants with similar size ( $0.25 \text{ m} \leq \text{height} < 1.0 \text{ m}$ ), resulting in a mean crown height of  $0.55 \pm 0.24$  and  $0.55 \pm 0.18$  for sun and shade plants, respectively. The mean basal perimeter (cm) was  $3.44 \pm 1.12$  for sun plants, and  $3.33 \pm 0.89$  for shade plants. Sun and shade plants did not differ in crown height and basal perimeter (Mann-Whitney test,  $p = 0.971$  and  $p = 0.827$ , respectively). We also defined a minimum number of mature leaves per crown  $\geq$  six in June/2016 (beginning of the phenological observations in the area) for the selection of individuals.

Phenology was assessed monthly throughout one year (June/2016 to May/2017), and we recorded the total number of new and mature leaves per crown in each individual. Additionally, we also quantified in each crown the number of damaged leaves (i.e., leaves with visual injury by herbivores or unknown factors), and the total number of unripe and ripe fruits. Leaf damage was classified in two visual categories: light (with  $< 50\%$  loss of leaf tissue) and severe ( $\geq 50\%$ ). One sun individual was not found in March/2017 and probably died.

## **2.5. Statistical analysis and plasticity index**

We performed a Principal Component Analysis (PCA) using morphological and anatomical data matrices separately in order to detect structure in the correlations between the considered leaf traits. Three anatomical variables (substomatic chamber depth, stomatal index and density) were excluded from the PCA due to the small samples. The variable palisade to spongy parenchyma ratio variable showed low factor loading in PCA result and was therefore discarded. Thereafter, with the remaining leaf variables (eight morphological and eight anatomical), we performed two PERMANOVA tests with 9.999 randomizations (Anderson and Ter Braak, 2003) to detect significant differences between sun and shade groups, with leaf traits as dependent variables. Post hoc Tukey test was applied to identify which morphological and anatomical variables differed significantly between sun and shade conditions. For the three anatomical variables not included in the PCA analysis, we applied the non-parametric Mann-Whitney test for comparisons between sun and shade conditions.

For the leaf traits (variables) which were significantly different between sun and shade conditions (statistical tests), we calculated the plasticity index (PI). Since our data depart from

normality, PI was calculated as the difference between the minimum and the maximum median values among the two light conditions divided by the maximum median value (see Valladares et al., 2000; 2006; Puglieli et al., 2015). The PI value ranges from zero (no plasticity) to one (maximum plasticity), and we interpreted values of  $PI > 0.6$  as leaf traits with high plasticity. Mean plasticity index was calculated by averaging the plasticity index for all the selected morphological and anatomical leaf traits between sun and shade (Valladares et al., 2000). Total plasticity value for *P. racemosa* was expressed as the average plasticity of all variables with significant difference between sun and shade leaves.

After test normality and homogeneity of variance (Shapiro-Wilk and Bartlett tests, respectively), we used the non-parametric Mann-Whitney test to analyze differences between light conditions regarding new, mature and severe damaged leaves per crown in each season (dry and rainy). Additionally, to compare leaf phenology between sun and shade plants in each month, we applied the t-test or Mann-Whitney test (only new leaf values in December and February followed normality assumptions). We also compared, separately in sun and shade plants, the mean values of new, mature and damaged leaves of the 5-month dry season to that of the 7-month rainy season, using the non-parametric Wilcoxon matched pairs test.

### **3. Results**

#### **3.1. General leaf traits of *Palicourea racemosa***

The mean canopy openness was  $7.32 \pm 1.52\%$  for sun and  $6.61 \pm 1.35\%$  for shade plants of *Palicourea racemosa*. This small difference may reflect the narrow width of the main trail in the Reserve, where sun plants were sampled. Throughout the year, the total number of expected sunflecks is similar between sun and shade plants (mean of 5790.4 and 5522.4 per point, respectively). Most sunflecks that reach *P. racemosa* plants last between 2 and 4 minutes (81.61% of the annual total per sampled point for sun plants and 84.62% for shade plants), but sun plants experience sunflecks with longer duration (mean 4.26, maximum 110 min) than shade plants (mean 3.64, maximum 56 min).

#### **3.2. Sun-shade light environment and morpho-anatomical comparisons**

Sun and shade plants of *Palicourea racemosa* formed two distinct groups in PCA, with axis 1 explaining 86.7% of data variation in morphological leaf traits and 75.1% in anatomical traits. Blade length, SLA and leaf area were the morphological traits with greater contribution to PCA, and midrib height and palisade-spongy thickness the main anatomical traits. As a result of PERMANOVA tests,



sun and shade leaves differed significantly in morphological ( $F = 41.12$ ,  $p = 0.0001$ ) and anatomical traits ( $F = 23.32$ ,  $p = 0.0001$ ) (Table 1).

Among morphological traits, post hoc comparisons detected significant variation in seven out of eight investigated; only leaf water content did not differ (Table 1). Sun leaves were larger, thicker and heavier, but shade leaves presented higher SLA. Throughout the study period, we observed adult whitish leaves in almost all sun individuals of *P. racemosa*, whereas in shade individuals leaves remained dark green coloured (Fig. 1C-D).

Anatomically, in surface view, the upper and lower epidermis of *P. racemosa* exhibit straight and slightly thickened walls both in sun and shade leaves (Fig. 2A-D). In cross section, epidermis is one-layered, covered by a thin smooth cuticle, and the upper epidermis is significantly thicker than lower epidermis, regardless of light conditions (Mann-Whitney test,  $Z = 8.63$ ,  $p < 0.00001$ ; Fig. 2E-F). Leaves are hypostomatic, with paracytic and parallelocytic stomata (Fig. 2C-D). Stomatal cells are in the same level of other epidermal cells, and substomatic chambers depth is small, usually reaching the middle layer of the spongy parenchyma (Fig. 2E-F). We observed multicellular tector trichomes only in the lower epidermis, in greater quantity in the axillary region of the midrib (Fig. 2G-H). The midrib of *P. racemosa* has annular and lamellar collenchyma throughout the marginal extension and lacunar collenchyma only in the region facing the adaxial epidermis (Fig. 2G-H). The central vascular bundle is collateral, arc shaped, and surrounded by a sheath of pericyclic fibers (Fig. 2-G-H).

Sun and shade leaves differed significantly in nine out of 12 investigated anatomical traits, and sun leaves showed higher values for eight traits, while only upper epidermis thickness was larger in shade leaves (Table 1). The greater thickness of sun leaves could be attributed to their thicker palisade and spongy parenchyma. Sun leaves usually had 2-3 cell layers in palisade parenchyma and 4-7 in spongy parenchyma, with small intercellular spaces. On the other hand, shade leaves usually had two palisade cell layers and 4-5 in spongy tissue, with larger intercellular spaces (Fig. 2E-F). Sun leaves showed a significant higher palisade to spongy parenchyma ratio and part of this result can be ascribed to the increased number of palisade parenchyma cell layers in sun leaves compared to shade (Table 1). The larger size of the midrib in sun leaves was accompanied by marked increases in the height of the central vascular bundle, and thickness of the supporting tissues (collenchyma and sclerenchyma) in this leaf region (Table 1). We also observed variations in the shape of the epidermal cells of *P. racemosa* in cross section. In both epidermal surfaces of shade leaves, the cells showed rectangular shape, with external periclinal wall more elongated and thicker than anticlinal wall, while in sun leaves epidermal cells were quadrangular (Fig. 2E-F).

In both sun and shade leaves we observed styloid crystals (large elongated solitary crystals) and bundles of parallel raphides (elongated needle-shaped crystals) in the dorsiventral mesophyll. We

also observed, in some sun and shade leaves, few hairy pocket domatia on the lower epidermis, distributed throughout the midrib axils with secondary veins, from the base to the median portion of the leaf.

*P. racemosa* showed medium to high phenotypic plasticity in the considered leaf traits (ranging from 0.44 to 0.92, Table 1), with no significant difference among morphological and anatomical traits (t-test,  $p = 0.48$ ). Petiole size, dry mass, parenchyma thickness in the mesophyll and sclerenchyma thickness in the midrib were the more plastic leaf traits, and blade length, midrib height and collenchyma tissue thickness were among the traits with the lowest plasticity indices, while still being significantly different between sun and shade leaves (Table 1).

### 3.3. Phenology in sun-shade plants

*Palicourea racemosa* showed an evergreen pattern, producing and losing leaves in each month throughout the year, but leaf production was significantly higher during the rainy season both in sun and shade plants (Table 2A, Fig. 3A). Leaves expanded and matured rapidly, usually until the following month after production. Due to the only one-year period of this study, we were unable to evaluate the maximum leaf longevity of *P. racemosa*, but according to our field observations we estimate it is greater than 12 months.

The period of new leaf production lasted an average of  $7.22 \pm 2.33$  months in sun plants and  $5.67 \pm 1.87$  months in shade plants, with no significant difference among light conditions (t-test,  $p = 0.07$ ). During ten months of the studied year (encompassing the entire rainy season), more than half of the sun plants had new leaves in their crowns, indicating continuous leaf production in this environment, while in shade plants the same occurred for six months (Fig. 3A). The dry-rainy transition period marked the peak of leaf production in shade plants (both in percentage of plants and amount of leaves), and sun plants peaked later in middle rainy season. Sun plants showed significantly higher production of new leaves than shade in the rainy season, but no difference was detected among light conditions in the dry season (Table 2B, Fig. 3A).

Most sun-shade plants showed an increase in the number of mature leaves through the rainy season (significant result only for shade plants; Table 2A), which declined or remained constant over the dry season (Fig. 3B). The monthly number of mature leaves per crown ranged from 0 to 64 in sun plants, and 4 to 72 in shade plants, with the highest values occurring in the second half of the rainy season and leaf fall more intense in the final half of the dry season for both sun and shade plants (Fig. 3B). Three sun plants had no mature leaves in some months (between November and January), two of them due to intense folivory events and one was totally broken due to an unknown reason. These individuals produced new leaves and recovered their crowns in the following months. No significant

difference was detected between sun and shade plants regarding the number of mature leaves per crown, but shade plants showed significant higher values in the rainy season compared to the dry season (Fig. 3B, Table 2B).

Throughout the study period, almost all the leaves in the crowns of *P. racemosa* exhibited some degree of damage by herbivores (such as caterpillars, ants and possibly white-lipped peccaries) and/or by other unknown factors, with a monthly average of 92.63% damaged leaves per crown in sun plants and 94.17% in shade plants. The damaged leaves remained in the crowns for one or more months, but we could not estimate their longevity. All plants in at least one month had 100% of damaged leaves in the crowns (slight plus severe damage), and sun and shade plants did not differ in this variable (Table 2B). Shade plants showed higher values of damaged leaves in the rainy season compared to dry season, and sun plants did not differ among seasons (Table 2A).

However, considering only severe leaf damage, we observed significant difference among light environments in the dry season (Table 2B) and in October (rainy season), with sun plants showing higher values than shade plants (Fig. 3C). Monthly average of severe damaged leaves per crown in *P. racemosa* varied from 4.43 to 21.83% and 1.19 to 10.59% for sun and shade plants, respectively (Fig. 3C). At the individual level, monthly percentage of severe leaf damage per crown varied from 0 to 83% in sun and 0 to 73% in shade plants, with year maximum average of  $40.16 \pm 19.91\%$  and  $25.16 \pm 17.51\%$  in sun and shade plants, respectively.

*P. racemosa* produced flower buds and flowers between October and November/2016, and fruits began to develop mainly in December, with no onset difference between sun and shade plants. Throughout the fruiting period, in each month, shade plants had more fruits per crown than sun plants (unripe plus ripe fruits), with significant differences from December to March (Fig. 3D). All shade plants produced fruits, while five out of nine sun plants did not (one plant was not reproductive during the observation period and four were predated or broken after the flowering period). We observed severe predation events in the initial stages of fruit development, in January for sun plants (three out of four individuals that produced fruits) and between December and February in shade plants (five individuals), resulting in evident decrease in the fruit amount during these months in both light conditions (Fig. 3D). Fruit maturation started in February/2017, and ripe fruits were usually rapidly removed from the crowns (presumably by frugivores).

## **4. Discussion**

### **4.1. General leaf morpho-anatomy**

We detected significant differences between sun-shade conditions in most morphological and anatomical leaf traits measured in *Palicourea racemosa* in de Amazon rainforest (Table 1), and sun leaves showed several characteristics commonly described for plants growing under higher levels of luminosity and/or temperature. The greater leaf thickness in sun plants resulted primarily from the thicker photosynthetic layers (palisade and spongy), which were the leaf traits with the greatest plasticity, as observed for other species in several studies (e.g., Chazon and Kaufmann, 1993; Strauss-Debenedetti and Berlyn, 1994; Markesteijn et al., 2007).

Sun leaves of *P. racemosa* also exhibited greater palisade to spongy parenchyma ratio, which is expected since during the development of sun leaves mainly the formation of palisade parenchyma is involved, and this tissue generally prevails in relation to spongy parenchyma, while in shade leaves spongy prevails (Roth, 1984). The elongation of the palisade component in sun leaves bring about a reduction in mesophyll resistance to CO<sub>2</sub> and may channel light deeper into lower cell layers in the leaf (Nobel, 1977; Vogelmann et al., 1991). On the other hand, the relatively thick spongy layer in shade leaves is useful to enhance backscattering of diffuse understory light within the leaf (Markesteijn et al., 2007).

The higher biomass (dry mass) and lower specific leaf area (SLA) that we observed in sun leaves are in agreement with most sun-shade comparative studies (Pallardy, 2008; Gratani, 2014). One of the main morphological traits which changes in response to light variations is the SLA (Gratani, 2014), and greater SLA increases light-interception efficiency per unit of leaf dry mass in shade leaves (Evans and Poorter, 2001). However, the larger size of sun leaves in *P. racemosa* differs from previous studies in which shaded plants have larger leaves in order to capture more diffuse irradiance (e.g., Sack et al., 2006; Gratani, 2014). Our result may be due to genetic characteristics associated with environmental factors that we did not evaluate, such as water availability and soil fertility. Soils with higher fertility, for example, may favor larger leaves (Givnish, 1984). Soil moisture and fertility vary between forest edge and interior (Murcia, 1995), and Vasconcelos and Luizão (2004) reported increased litterfall near edges in the Brazilian Amazon rainforest, suggesting that the nutrients from decomposing litter may stimulate the growth of plants in this environments. This could be an explanation to the larger sun leaves of *P. racemosa*, which we sampled on a soft forest edge.

Larger and thicker leaves need to invest more in petioles, supporting tissues and major veins (e.g., Chazdon, 1985), and this explain the larger petiole and greater thickness of the central vascular bundle, collenchyma and sclerenchyma tissues in sun leaves of *P. racemosa*. However, larger leaves have higher risk of overheating under high levels of irradiance. One solution for this is to change leaf orientation to steeper angles via wilting (petiole and leaf blade), resulting in lower midday heating and increased water use efficiency (King, 1997). Indeed, we observed some wilted leaves in sun

plants of *P. racemosa* around midday in sunny days. Pearcy et al. (2004) observed that changes in leaf size and shape clearly impact self-shading in *Psychotria* species in Panama, with petiole twisting playing an important role in plant architecture and light interception.

High stomatal frequency is usually observed in sun leaves, being necessary to maximize CO<sub>2</sub> absorption rates and to allow for sufficient evaporative cooling to prevent lethal leaf temperatures under high irradiance (Givnish, 1988; Beerling et al., 2001; Sack et al., 2006). In *P. racemosa*, sun leaves showed higher stomatal index than shade leaves, but stomatal density did not differ among light conditions, and this result may be related to the larger size of sun leaves. Some studies reported that stomatal density is inversely related to leaf area and width, due to a higher cell insertion (number of cells per unit area) in smaller leaves (Salisbury, 1928; Franks and Farquhar, 2007; Peel et al., 2017). Hence, stomatal density increases with leaf size reduction to fit enough stomata per unit of area to meet the desired transpiration and photosynthetic rates (Franks and Farquhar, 2007).

Although shade leaves of *P. racemosa* were thinner than sun leaves, unexpectedly their upper epidermis cells were significantly thicker. As a result of shading, usually a decrease in epidermal thickness is observed (Markestijn et al., 2007, Gratani, 2014), but there may be cases without change (e.g., Melo et al., 2013) or even with thicker upper epidermis in shade (e.g., Roth, 1984; Ashton and Berlyn, 1992). Cell shape and size of epidermis and palisade and spongy tissues alter light distribution within the leaf and affect its optical properties (e.g., Lee et al., 1990; Xiao et al., 2016), and thicker upper epidermis in sun leaves may be helpful to reflect excessive irradiance (Cao, 2000). However, no function is known for thicker upper epidermis in shade leaves. With similar results to our study, Ashton and Berlyn (1992) suggested that the increased dimension of upper epidermal cells from sun to shade may confer greater susceptibility to epidermal desiccation. The greatest risk of desiccation may be an explanation for the lower amount of new and mature leaves in shade plants of *P. racemosa* during the dry season, compared to sun plants (see Section 4.2).

The main leaf morpho-anatomical differences between sun and shade that we observed in *P. racemosa* can be interpreted, as a whole, as responses to the light intensity. Since canopy openness showed only a slight tendency for higher values in sun plants, our results may be related also to the contribution of sunflecks, which tended to be more numerous and longer in sun conditions. It is well known that tropical forest understories usually receive very low levels of luminosity compared to canopy, and that sunflecks are a vital resource, contributing more than 50% of the daily photon flux density and from 30-60% of the daily carbon gain in the understory (e.g., Pearcy 1987; Chazdon, 1988; Chazdon and Pearcy, 1991).

Roth (1984) argued that many transitional stages are found in leaf structure, and leaves can retain some hygromorphic characters in crowns exposed to full light. In an early stage, leaves may show characteristics that are in conflict with the environmental conditions and therefore are

genetically bound (Roth, 1984). Since the sampled edge in our study is old (opened more than 20 years ago), we argue that *P. racemosa* plants are acclimated to local conditions, and the mixed results we found (e.g., thicker sun leaves with thinner upper epidermis) are due to the variation in irradiance degree which reached each individual and the contribution of other environmental factors not evaluated, such as soil moisture and fertility and atmospheric humidity.

#### **4.2. Sun-shade comparisons in leaf traits**

Rainfall seasonality, light conditions and herbivory affected leaf and reproductive phenology of *Palicourea racemosa* in the studied Amazon rainforest. The species reproduced and showed higher production of new leaves during the rainy season, a pattern usually reported in tropical moist forests under seasonal climate (with a defined dry season), such as our study area (e.g., Frankie et al., 1974; van Schaik et al., 1993; Morellato et al., 2013; Hawes and Peres, 2016). Nevertheless, we observed some phenological differences between sun and shade plants of *P. racemosa*.

Regarding leaf production, several studies in tropical rainforests have linked the leaf flushing in the dry-rainy period or beginning of rainy season with higher day length, onset of rains and/or avoidance of high herbivory rates later in the rainy season (e.g., Aide, 1988, 1993; Williams-Linera and Herrera 2003; Lamarre et al., 2014). Besides these factors, we argue that the earlier peak of leaf production in shade plants of *P. racemosa* (Fig. 3A), compared to sun plants, may be also a phenological escape from shading of canopy species (overstory). The studied forest is evergreen, but some canopy and emergent trees (mainly Fabaceae) are deciduous and remain leafless during the dry season, starting leaf production in August-September in the dry-rainy transition period (E.Gressler, personal communication). Although we did not make comparative luminosity measurements among seasons, the forest is visually brighter in the dry season, and shade plants of *P. racemosa* may increase light capture and carbon gain by leafing earlier in the season, before canopy closure. In deciduous forests, that leaf phenological strategy is well documented for understory species (e.g., Uemura, 1994; Williams-Linera, 2003; Augspurger et al., 2005; Tang and Dubayah, 2017), but information is still lacking for forests with a lower degree of deciduousness. In forests with high diversity of canopy species (with different leafing strategies), such as our study area, phenological escape of understory species may be more difficult to detect (Gressler et al., 2015) and therefore further studies are needed concerning this topic in tropical rainforests.

Another explanation for the sun-shade difference in the peak of new leaves is that sun plants of *P. racemosa* suffered higher folivory rates in the beginning of the rainy season, delaying the peak (Fig. 3A). In most tropical species, young leaves suffer more damage from herbivores and pathogens than mature leaves (Coley, 1983; Coley and Kursar, 1996; Aide and Angulo-Sandoval, 1997), and

the majority of lifetime damage occurs during the first month (Aide, 1993). Since we did not evaluate damage separately for each class of leaves (new/young and mature), we cannot state whether the intense leaf damage in sun plants in the rainy season onset occurred on new or mature leaves, or both.

Although a peak of leaf production in sun plants was observed in December, over most part of the year these plants had new leaves in their crowns and also showed larger amount per crown than shade plants. Pioneer, gap species and other species growing in high light environments often produce leaves continuously (Coley, 1983; Aide, 1988) and in greater quantity than in shaded forest (Bongers and Popma, 1990; Amézquita, 1998). Higher light availability increases net photosynthesis and consequently more leaves can be produced (Langenheim et al. 1984). Synchronous leaf production may reduce herbivory rates by satiating herbivores (Aide, 1993; Lamarre et al., 2014; but see Coley, 1983 and Lowman, 1992), and this may could be one of the reasons for the lower leaf damage in shade plants which produced leaves more synchronously than sun plants at the beginning of rainy season (Fig. 3A). In addition, the higher leaf production throughout the year may be a strategy of sun plants to recover the crowns from herbivore damage, especially in the middle of the rainy season. Producing new leaves is one of the various mechanisms through plants may compensate herbivore leaf damage (Crawley, 1997; Poveda et al., 2005).

The more continuous leaf production over the year in sun plants of *P. racemosa* may evince faster leaf turnover than shade plants (reinforced by some of our field observations), a pattern reported for sun leaves compared to shade within crowns (Lowman, 1992; Osada et al., 2001). Phenotypic plasticity decreases with increasing leaf longevity (Valladares et al., 2000), and gap species or plants growing under high light have, on average, shorter leaf life-span (lifetimes) than understory or shaded plants (Coley, 1983; Valladares et al., 2000). Among 16 *Psychotria* species in a rainforest of Panama, *P. racemosa* showed intermediate leaf longevity (17 months) and high leaf plasticity (Valladares et al., 2000). Although we have not evaluated leaf longevity in our study, in sun conditions this variable may be shorter than shade due to the faster leaf turnover, which guarantees greater plasticity, as we observed in *P. racemosa*.

The number of mature leaves per crown decreased in the last three months of the dry season both in sun and shade plants of *P. racemosa*, but sun plants did not show differences among seasons, possibly due to the more intense predation events and because the peak occurred in the rainy-dry transition period. On the other hand, shade plants had a significant lower number of mature leaves per crown in the dry compared to rainy season (Fig. 3B). Besides the favorable water availability for the maintenance of leaves, we also hypothesize that during the rainy season, when luminosity levels are lower in the understory compared to dry season, shade plants compensate the smaller leaf size (see Section 4.1) maintaining more mature leaves in the crowns. Since the cues determining leaf-fall timing in rainforests are still poorly understood (Bonal et al., 2016), the decrease in the number of

leaves in the dry season may be the result of a combined effect of water stress, light availability, leaf age and atmospheric conditions. Considering the mentioned difference among seasons that we found in shade plants, we propose that these plants are more sensitive to drought than sun plants. Shaded plants may suffer from strong competition for water by canopy trees due to the relatively high rainfall interception by the vegetation and more water uptake derived from the higher root density compared to gaps and forest edges (Becker et al., 1988; Poorter and Hayashida, 2000; Amissah et al., 2015).

The higher leaf damage rates in *P. racemosa* plants during the rainy season are related to the higher herbivore abundance in this season in tropical forests (e.g., Aide, 1993; van Schaik et al, 1993). Besides this, the greatest leaf damage in sun plants over the year (Table 2) is related to their occurrence at the forest edge, where it is known that are more herbivores than inside the forest (Wirth et al., 2008; Guimarães et al., 2014), including in the Amazon rainforest (Fowler et al., 1993 – increased abundance of herbivore insect community; Dohm et al., 2011 – increased abundance of leaf-cutting ants). In a comprehensive review, Wirth et al. (2008) verified that in most studies on herbivory at forest edges, edge creation promoted positive effects on the herbivore populations. Moreover, despite sun leaves tend to be tougher, smaller (in our study they were larger), and have higher concentrations of phenols, herbivory is increased under forest edge/high light conditions because herbivores compensate for plant low nutritional quality by consuming more, especially caterpillars (Guimarães et al., 2014 and references therein). Moura et al. (2017), for example, found higher rates of herbivory in edge plants of *Palicourea rigida* Kunth in a Brazilian savanna (cerrado), contrary to their prediction of lower herbivory in this environment due to higher leaf toughness and smaller leaf size. Even though domatia formation is known as occurring regardless of the arthropods presence (Romero and Benson, 2005), the occurrence of domatia in the population of *P. racemosa* in the Amazon rainforest, in contrast to populations of this species in other vegetations (e.g., Moraes et al., 2011, in Southeastern Brazil; Lorence et al., 2012, in Central America), needs further investigation concerning their development and function.

Fruit production was lower in sun plants of *P. racemosa* due to severe predation events both on inflorescence and fruiting stages, being possibly a result of the edge effects commented above. Ornelas et al. (2004) found that fruit production of *Palicourea padifolia* (Willd. ex Schult.) C.M.Taylor & Lorence in a Mexican cloud forest was negatively correlated with the attack of foliar herbivores (proportion of damaged leaves). However, these authors emphasized that this result should be carefully evaluated, because fruits were exposed to frugivory, seed predation, and diseases, as occurred in our study.

### **4.3. Sun-shade phenological patterns and leaf damage**



Our results suggest that the non-occurrence of *Palicourea racemosa* in gaps or larger edges of the Amazon rainforest may be related to its different reproductive output in habitats with contrasting light conditions. Although the species showed high plasticity in leaf traits, sun plants were greatly and negatively affected by herbivory both in leaves and reproductive structures. We did not evaluate seedling recruitment and mortality of *P. racemosa*, but due to the significantly smaller fruit set in sun plants, probably less seeds are dispersed and reach the soil and this could partially explain the lower occurrence of the species at the forest edge. Other ecological factors that are directly or indirectly affected by edge, such as visitation rates of pollinators and seed dispersers (Murcia, 1995), may also influence species survival and should be evaluated in further comparative sun-shade studies.

The high leaf plasticity of *P. racemosa*, observed in populations of Brazil (our study) and in Panama (e.g., Valladares et al., 2000), may favor the species occurrence across its wide geographic range, in different vegetation types (rainforests mainly). However, contrasting with our findings in the Brazilian Amazon rainforest, in moist forests of Panama *P. racemosa* populations are typical from gaps and high survivorship was reported due to the later recruitment in relation to other species and paltry damage by herbivores (Valladares et al., 2000; Dalling and Hubber, 2002). This evinces the need of studies in different populations of a given species to better understand its survival under varied environmental conditions. Beyond that, Banerjee and Dewanji (2017) verified that there may be seasonal variation in plasticity, but in this sense our study may have failed because the collection of leaves for anatomy and morphology were performed in middle dry season and end rainy season, respectively.

In face of the intense fragmentation and increasing of disturbed forests in the Brazilian Amazon region and tropical forests as a whole in the world, our findings draw attention to the negative effect of a soft forest edge on the survival of an understory species. The same may be happening with other understory species and the effects may be even more negative in landscapes with pasture and agricultural areas close to forest edges. Dodonov et al. (2016) observed increased levels of herbivory in Rubiaceae understory species with decreasing forest cover in the Atlantic rainforest of Brazil. Considering the higher leaf damage rates in sun plants of *P. racemosa* in the Amazon rainforest, further sun-shade comparative studies should evaluate the proportional amount of raphides and other compounds related with plant defense against herbivory.

Several studies have been evince important climatic changes in the Amazon region, revealing longer and more severe dry seasons, mainly related to the forest suppression (e.g., Bush et al., 2011; Dubreuil et al., 2012; Bonal et al., 2016). Since we argued that *P. racemosa* is sensitive to drought, we may expect strong effects of climate change on this species, and possibly a decline in Amazon populations, especially shaded plants. Along with this, plant-insect interactions might shift

appreciably under future climates (Lemoine et al., 2017), changing pollination and herbivory rates with consequences to the plants survival.

Our study highlights the importance of evaluating not only the degree of sun-shade leaf plasticity but also the role of other factors on the reproductive success and survival of a given species, such as phenology and plant-animal interactions. Various aspects of phenology are related to survival adaptation, and leaf strategy (e.g., duration and number/mass of leaves produced and duration and magnitude of leaf-fall) is linked to the ability of a species to utilize and conserve resources (e.g., water, nutrients, CO<sub>2</sub>) in varying environmental conditions (Singh and Kushwaha, 2005). Valladares et al. (2007) emphasized how herbivory may limit plant phenotypic plasticity because damaged plants can only rarely attain the optimal phenotype in the challenging environment. This may be true for *P. racemosa* in the Amazon rainforest, due to the mixed sun-shade leaf characters and due to the herbivory effect on leafing and fruit set. As pointed by Popma and Bongers (1991), without a proper evaluation of other independent measures of success (e.g., growth, survival), little insight is gained concerning the adaptive value of plasticity. Amisshah et al. (2015), for example, verified that overall plasticity of ten Ghanaian tree species does not guarantee survival under stressful conditions. Furthermore, Keenan and Niinemets (2017) emphasized that our current understanding is too focused on conditions in the sun, even though the majority of leaves exist in the shade.

## 5. Conclusions

Our study, for the first time, highlighted the relation among leaf plasticity, phenology and survival for an understory species in the tropical region of South America. The results on the whole showed significant variations in morpho-anatomical leaf traits and phenological patterns of *P. racemosa* plants growing in different light conditions in the Amazon rainforest understory. Most of the differences in leafing timing and peak derived from edge influence, but we could not disentangle the relative role of each factor (e.g., herbivory, phenological escape) in determining these differences. Our findings suggest that morpho-anatomical characters and leaf dynamics of *P. racemosa* in sun-shade environments result from a complex set of interactions between biotic and abiotic factors such as herbivory, drought, light incidence, soil properties and genetics. Further comparative studies are needed to clarify the effect of each environmental factor on the phenological patterns of understory species. We propose that *P. racemosa* is a plastic species in leaf morpho-anatomical traits, which has potential to cope with variable light conditions in the forest, but is greatly and negatively affected by indirect edge factors, such as high herbivory rates.

A notable gap exists concerning sun-shade studies with Brazilian plant species and neotropical plant species as a whole, and little is known about the adaptive value of plasticity. Further sun-shade

studies from additional populations and other species are strongly recommended in order to understand the important drivers of plant occurrence and abundance, especially in face of the intense fragmentation of the Amazon vegetation and climate change.

### Acknowledgements

The authors are grateful to Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) and Fundação de Amparo à Pesquisa do Mato Grosso (FAPEMAT) for the financial support. We also thank to Carla P. Bruniera and Daniela C. Zappi for species identification, to Vera L. Pegorini for assistance in laboratory activities, and to Fundação Ecológica do Cristalino (FEC) for permission and support of field work in the Reserve of the Floresta Amazônica Hotel Resort.

### References

- Aguiar, T.V., Sant'anna-Santos, B.F., Azevedo, A.A., Ferreira, R.S., 2007. Anati quanti: software de análises quantitativas para estudos em anatomia vegetal. *Planta Daninha* 25, 649-659. doi: 10.1590/S0100-83582007000400001
- Aide, T.M. 1988. Herbivory as a selective agent on the timing of leaf production in a tropical understory community. *Nature* 336(8), 574-575. doi: 10.1038/336574a0
- Aide, T.M., 1993. Patterns of leaf development and herbivory in a tropical understory community. *Ecology* 74, 455-466. doi: 10.2307/1939307
- Aide, T.M., Angulo-Sandoval, P., 1997. The effect of dry season irrigation on leaf phenology and the implications for herbivory in a tropical understory community. *Caribb. J. Sci.* 33(3-4), 142-149.
- Amézquita, P., 1998. Light environment affects seedling performance in *Psychotria aubletiana* (Rubiaceae), a tropical understory shrub. *Biotropica* 30(1), 126-129. doi: 10.1111/j.1744-7429.1998.tb00375.x
- Amissah, L., Mohren, G.M.J., Kyereh, B., Poorter, L., 2015. The effects of drought and shade on the performance, morphology and physiology of Ghanaian tree species. *PloS One* 10(4), e0121004. doi:10.1371/journal.pone.0121004
- Anderson, M.J., Ter Braak, C.J.F., 2003. Permutation tests for multi-factorial analysis of variance. *J. Stat. Comp. Sim.* 73, 85-113. doi: 10.1080/00949650215733
- Andrade, E.R., Jardim, J.G., Santos, B.A., Melo, F.P.L., Talora, D.C., Faria, D., Cazetta, E., 2015. Effects of habitat loss on taxonomic and phylogenetic diversity of understory Rubiaceae in Atlantic forest landscapes. *For. Ecol. Manag.* 349, 73-84. doi: 10.1016/j.foreco.2015.03.049
- Ashton, P.M.S., Berlyn, G.P., 1992. Leaf adaptations of some *Shorea* species to sun and shade. *New Phytol.* 121(4), 587-596. doi: 10.1111/j.1469-8137.1992.tb01130.x
- Augsburger, C.K., Cheeseman, J.M., Salk, C.F., 2005. Light gains and physiological capacity of understorey woody plants during phenological avoidance of canopy shade. *Funct. Ecol.* 19, 537-546. doi: 10.1111/j.1365-2435.2005.01027.x

- Banerjee, A.K., Dewanji, A., 2017. Role of intraspecific trait plasticity in *Mikania micrantha* Kunth growth and impact of its abundance on community composition. *J. Asia-Pac. Biodivers.* 10, 237-249. doi: 10.1016/j.japb.2017.04.003
- Becker, P., Rabenold, P.E., Idol, J.R., Smith, A.P., 1988. Water potential gradients for gaps and slopes in a Panamanian tropical moist forest's dry season. *J. Trop. Ecol.* 4, 173-184. doi: 10.1017/S0266467400002674
- Beerling, D.J., Osborne, C.P., Chaloner, W.G., 2001. Evolution of leaf-form in land plants linked to atmospheric CO<sub>2</sub> decline in the late palaeozoic era. *Nature* 410, 287-394. doi: 10.1038/35066546
- Bonal, D., Burban, B., Stahl, C., Wagner, F., Hérault, B., 2016. The response of tropical rainforests to drought – Lessons from recent research and future prospects. *Ann. For. Sci.* 73, 27-44. doi: 10.1007/s13595-015-0522-5
- Bongers, F., Popma, J., 1990. Leaf dynamics of seedlings of rain forest species in relation to canopy gaps. *Oecologia* 82(1), 122-127. doi: 10.1007/BF00318543
- Broadbent, E.N., Asner, G.P., Keller, M., Knapp, D.E., Oliveira, P.J.C., Silva, J.N., 2008. Forest fragmentation and edge effects from deforestation and selective logging in the Brazilian Amazon. *Biol. Conserv.* 141(7), 1745-1757. doi: 10.1016/j.biocon.2008.04.024
- Bush, M.B., Flenley, J.R., Gosling, W.D., 2011. Tropical rainforest responses to climatic change. Springer/Praxis, Chichester, 2nd ed. doi: 10.1007/978-3-642-05383-2
- Cao, K.F., 2000. Leaf anatomy and chlorophyll content of 12 woody species in contrasting light conditions in a Bornean heath forest. *Can. J. Bot.* 78, 1245-1253. doi: 10.1139/cjb-78-10-1245
- Chazdon, R.L., 1985. Leaf display, canopy structure, and light interception of two understory palm species. *Am. J. Bot.* 72(10), 1493-1502. doi: 10.1002/j.1537-2197.1985.tb08412.x
- Chazdon, R.L., 1988. Sunflecks and their importance to forest understorey plants. *Adv. Ecol. Res.* 18, 1-63. doi: 10.1016/S0065-2504(08)60179-8
- Chazdon, R.L., Pearcy, R.W., 1991. The importance of sunflecks for forest understory plants: photosynthetic machinery appears adapted to brief, unpredictable periods of radiation. *Bioscience* 41, 760-766. doi: 10.2307/1311725
- Chazon, R.L., Kaufmann, S., 1993. Plasticity of leaf anatomy of two rain forest shrubs in relation to photosynthetic light acclimation. *Funct. Ecol.* 7(4) 385-394. doi: 10.2307/2390025
- Coley, P.D., 1983. Herbivory and defensive characteristics of tree species in a lowland tropical forest. *Ecol. Monogr.* 53, 209-233. doi: 10.2307/1942495
- Coley, P.D., Kursar, T.A., 1996. Anti-herbivore defenses of young tropical leaves: Physiological constraints and ecological tradeoffs. In: Mulkey, S.S., Chazdon, R., Smith, A.P. (Eds.), *Tropical Forest Plant Ecophysiology*. Chapman and Hall, NY, pp. 305-336. doi: 10.1007/978-1-4613-1163-8\_11
- Crawley, M.J., 1997. *Plant Ecology*. Blackwell Science, Oxford.
- Dalling, J.W., Hubbell, S.P., 2002. Seed size, growth rate and gap microsite conditions as determinants of recruitment success for pioneer species. *J. Ecol.* 90, 557-568. doi: 10.1046/j.1365-2745.2002.00695.x
- Dodonov, P., Morante-Filho, J.C., Mariano-Neto, Cazetta, E., Andrade, E.R., Rocha-Santos, L., Inforzato, I., Gomes, F.S., Faria, D., 2016. Forest loss increases insect herbivory levels in human-altered landscapes. *Acta Oecol.* 77, 136-143. doi: 10.1016/j.actao.2016.10.003
- Dohm, C., Leal, I.R., Tabarelli, M., Meyer, S.T., Wirth, R., 2011. Leaf-cutting ants proliferate in the Amazon: an expected response to forest edge? *J. Trop. Ecol.* 27, 645-649. doi: 10.1017/S0266467411000447

- Dubreuil, V., Debortoli, N., Funatsu, B., Durieux, L., 2012. Impact of land-cover change in the Southern Amazonia climate: a case study for the region of Alta Floresta, Mato Grosso, Brazil. *Environ. Monit. Assess.* 184(2), 877-891. doi: 10.1007/s10661-011-2006-x
- Evans, J.R., Poorter, H., 2001: Photosynthetic acclimation of plants to growth irradiance: the relative importance of specific leaf area and nitrogen partitioning in maximizing carbon gain. *Plant Cell Environ.* 24, 755-767. doi: 10.1046/j.1365-3040.2001.00724.x
- Faxina, C., Fischer, E., Pott, A., 2015. Flora of inland Atlantic riparian forests in southwestern Brazil. *Biota Neotrop.* 15(3), e20130083. doi: 10.1590/1676-06032015008313
- Fisher, J.B., 1986. Sun and shade effects on the leaf of *Guarea* (Meliaceae): plasticity of a branch analogue. *Bot. Gaz.* 147(1), 84-89. doi: 10.1086/337572
- Fowler, H.G., Silva, C.A., Venticinque, E., 1993 Size, taxonomic and biomass distributions of flying insects in central amazonia – forest edge vs understory. *Rev. Biol. Trop.* 41, 755-760.
- Frankie, G.W., Baker, H.G., Opler, P.A., 1974. Comparative phenological studies of trees in tropical wet and dry forests in lowlands of Costa Rica. *J. Ecol.* 62(3), 881-919. doi: 10.2307/2258961
- Franks, P.J., Farquhar, G.D., 2007. The mechanical diversity of stomata and its significance in gas-exchange control. *Plant Physiol.* 143(1), 78-87. doi: 10.1104/pp.106.089367
- Frazer, G.W., Canham, C.D., Lertzman, K.P. 1999. Gap Light Analyzer (GLA) version 2.0 – user manual and program documentation. Copyright © 1999: Simon Fraser University, Burnaby, British Columbia and the Institute of Ecosystem Studies, Millbrook, New York.
- Givnish, T.J., 1984. Leaf and canopy adaptations in tropical forests. In: Medina, E., Mooney, H.A., Vazquez-Yanes, C. (Eds.), *Physiological ecology of plants of the wet tropics. Tasks for Vegetation Science 12*, Springer, Dordrecht, pp. 51-84. doi: 10.1007/978-94-009-7299-5\_6
- Givnish, T.J., 1988. Adaptation to sun and shade: a whole-plant perspective. *Aust. J. Plant Physiol.* 15(2), 63-92. doi: 10.1071/PP9880063
- Govaerts, R., Ruhsam, M., Andersson, L., Robbrecht, E., Bridson, D., Davis, A., Schanzer, I., Sonké, B., 2018. World Checklist of Rubiaceae. Facilitated by the Royal Botanic Gardens, Kew. Published on the Internet, <http://apps.kew.org/wcsp/> Retrieved 2018-03-23.
- Gratani, L., 2014. Plant phenotypic plasticity in response to environmental factors. *Adv. Bot.* 2014, 1-17. doi: 10.1155/2014/208747
- Gressler, E., Jochner, S., Capdevielle-Vargas, R.M., Morellato, L.P.C., Menzel, A., 2015. *Agric. For. Meteorol.* 201, 176-186. doi: 10.1016/j.agrformet.2014.10.013
- Guimarães, C.D.C., Viana, J.P.R., Cornelissen, T., 2014. A meta-analysis of the effects of fragmentation on herbivorous insects. *Environ. Entomol.* 43(3), 537-545. doi: 10.1603/EN13190
- Hawes, J.E., Peres, C.A., 2016. Patterns of plant phenology in Amazonian seasonally flooded and unflooded forests. *Biotropica* 48(4), 465-475. doi: 10.1111/btp.12315
- Johansen, D.A., 1940. *Plant microtechnique*. New York, McGraw Hill Book, 523 p.
- Keenan, T.F., Niinemets, U., 2017. Global leaf trait estimates biased due to plasticity in the shade. *Nature Plants* 3, article number 16201. doi:10.1038/nplants.2016.201
- Kikuzawa, K., 2003. Phenological and morphological adaptations to the light environment in two woody and two herbaceous plant species. *Funct. Ecol.* 17, 29-38. doi: 10.1046/j.1365-2435.2003.00707.x

- Kilkenny, F.F., Galloway, L.F., 2008. Reproductive success in varying light environments: direct and indirect effects of light on plants and pollinators. *Oecologia* 155, 247-255. doi: 10.1007/s00442-007-0903-z
- King D.A., 1997. The functional significance of leaf angle in *Eucalyptus*. *Austr. J. Bot.* 45(4), 619-639. doi: 10.1071/BT96063
- Kitao, M., Lei, T.T., Koike, T., Tobita, H., Maruyama, Y., 2000. Susceptibility to photoinhibition of three deciduous broadleaf tree species with different successional traits raised under various light regimes. *Plant Cell Environ.* 23(1), 81-89. doi: 10.1046/j.1365-3040.2000.00528.x
- Lamarre, G.P.A., Mendoza, I., Fine, P.V.A., Baraloto, C., 2014. Leaf synchrony and insect herbivory among tropical tree habitat specialists. *Plant Ecol.* 215, 209-220. doi: 10.1007/s11258-013-0290-y
- Langenheim, J.H., Osmond, C.B., Brooks, A., Ferrar, P.J., 1984. Photosynthetic responses to light in seedlings of selected Amazonian and Australian rainforest tree species. *Oecologia* 63, 215-224. doi: 10.1007/BF00379880
- Laurance, W.F., Ferreira, L.V., Rankin-De Merona, J.M., Laurance, S.G., 1998. Rainforest fragmentation and the dynamics of Amazonian tree communities. *Ecology* 79, 2032-2040. doi: 10.2307/176707
- Laurance, W.F., Merona, J.M.R., Andrade, A., Laurance, S.G., D'Angelo, S., Lovejoy, T.E., Vasconcelos, H.L., 2003. Rain-forest fragmentation and the phenology of Amazonian tree communities. *J. Trop. Ecol.* 19, 343-347. doi: 10.1017/S0266467403003389
- Lee, D.W., Bone, R.A., Tarsis, S.L., Storch, D., 1990. Correlates of leaf optical properties in tropical forest sun and extreme-shade plants. *Am. J. Bot.* 77(3), 370-380. doi: 10.2307/2444723
- Lemoine, N.P., Doublet, D., Salminen, J.P., Burkepille, D.E., Parker, J.D., 2017. Responses of plant phenology, growth, defense, and reproduction to interactive effects of warming and insect herbivory. *Ecology* 98:1817-1828. doi:10.1002/ecy.1855
- Lichtenthaler, H.K., Buschmann, C., Döll, M., Fietz, H.-J., Bach, T., Kozel, U., Meier, D., Rahmsdorf, U., 1981. Photosynthetic activity, chloroplast ultrastructure, and leaf characteristics of high-light and low-light plants and of sun and shade leaves. *Photosynth. Res.* 2(2), 115-141. doi: 10.1007/BF00028752
- Liu, Y., Dawson, W., Prati, D., Haeuser, E., Feng, Y., van Kleunen, M., 2016. Does greater specific leaf area plasticity help plants to maintain a high performance when shaded? *Ann. Bot.* 118, 1329-1336. doi:10.1093/aob/mcw180
- Lorence, D.H., Taylor, C.M., Adams, C.D., Andersson, L., Burger, W., Delprete, P., Es, K., McDowell, T., Ochoterena-B., H., Persson, C., Piesschaert, F., Taylor, D.W., 2012. Rubiaceae, in: Davidse, G., Ulloa Ulloa, C. (Eds.), *Flora Mesoamericana* 4(2). Missouri Botanical Garden Press, St. Louis., pp. 1-288.
- Lovejoy, T.E., Bierregaard Jr, R.O., Rylands, A.B., Malcom, J.R., Quintela, C.E., Harper, L.H., Brown Jr, K.S, Powell, A.H., Powell, G.V.N, Schubart, H.O.R., Hays, M.B., 1986. Edge and other effects of isolation on Amazon forest fragments, in: Soulé, M.E. (Ed.), *Conservation biology – the science of scarcity and diversity*. Sinauer Associates, Sunderland, pp. 257-285.
- Lowman, M.D., 1992. Leaf growth dynamics and herbivory in five species of Australian rain-forest canopy trees. *J. Ecol.* 80, 433-447. doi: 10.2307/2260689
- Markestijn, L., Poorter, L., Bongers, F., 2007. Light-dependent leaf trait variation in 43 tropical dry forest tree species. *Am. J. Bot.* 94(4), 515-525. doi: 10.3732/ajb.94.4.515
- Melo, N.C., Beijo, L.A., Madail, R.H., Polo, M., 2013. Leaf anatomy and chlorophyll content in *Psychotria vellosiana* Benth influenced by the edge and two matrices. *Rev. Cienc. Agrar.* 56, 1-9.

- Moraes, T.M.S., Rabelo, G.R., Alexandrino, C.R., Silva Neto, S.J., Cunha, M., 2011. Comparative leaf anatomy and micromorphology of *Psychotria* species (Rubiaceae) from the Atlantic Rainforest. *Acta Bot. Bras.* 25(1), 178-190. doi: 10.1590/S0102-33062011000100021
- Morellato, L.P.C., Camargo, M.G.G., Gressler, E., 2013. A review of plant phenology in South and Central America, in: Schwartz, M.D. (Ed.), *Phenology: an integrative environmental science*. Springer, Dordrecht, pp. 91-113. doi: 10.1007/978-94-007-6925-0\_6
- Moura, R.F., Alves-Silva, E., Del-Claro, K., 2017. Patterns of growth, development and herbivory of *Palicourea rigida* are affected more by sun/shade conditions than by Cerrado phytophysiology. *Acta Bot. Bras.* 31(2), 286-294. doi: 10.1590/0102-33062016abb0446
- Murcia, C., 1995. Edge effects in fragmented forests – implications for conservation. *Trends Ecol. Evol.* 10(2), 58-62. doi: 10.1016/S0169-5347(00)88977-6
- Navas, M.-L., Garnier, E., 2002. Plasticity of whole plant and leaf traits in *Rubia peregrina* in response to light, nutrient and water availability. *Acta Oecol.* 23(6), 375-383. doi: 10.1016/S1146-609X(02)01168-2
- Niinemets, Ü., Valladares, F., 2004. Photosynthetic acclimation to simultaneous and interacting environmental stresses along natural light gradients: optimality and constraints. *Plant Biol.* 6(3), 254-268. doi: 10.1055/s-2004-817881
- Nobel, P.S., 1977. Internal leaf area and cellular CO<sub>2</sub> resistance – Photosynthetic implications of variations with growth conditions and plant species. *Physiol. Plant.* 40, 137-144. doi: 10.1111/j.1399-3054.1977.tb01510.x
- Ornelas, J.F., González, C., Jiménez, L., Lara, C., Martínez, A.J., 2004. Reproductive ecology of distylous *Palicourea padifolia* (Rubiaceae) in a tropical montane cloud forest. II. Attracting and rewarding mutualistic and antagonistic visitors. *Am. J. Bot.* 91(7), 1061-1069. doi: 10.3732/ajb.91.7.1061
- Osada, N., Takeda, H., Furukawa, A., Awang, M., 2001. Leaf dynamics and maintenance of tree crowns in a Malaysian rain forest stand. *J. Ecol.* 89, 774-782. doi: 10.1046/j.0022-0477.2001.00590.x
- Pallardy, S.G., 2008. *Physiology of woody plants*. Third ed., Academic Press, San Diego.
- Pearcy, R.W., 1987. Photosynthetic gas exchange responses of Australian tropical forest trees in canopy, gap and understory microenvironments. *Funct. Ecol.* 1, 169–178. doi: 10.2307/2389419
- Pearcy, R.W., Valladares, F., Wright, S.J., Paulis, E.L., 2004. A functional analysis of the crown architecture of tropical forest *Psychotria* species: do species vary in light capture efficiency and consequently in carbon gain and growth? *Oecologia* 139(2), 163-177. doi: 10.1007/s00442-004-1496-4
- Pearcy, R.W., Muraoka, H., Valladares, F. 2005. Crown architecture in sun and shade environments: assessing function and trade-offs with a three-dimensional simulation model. *New Phytol.* 166, 791-800. doi: 10.1111/j.1469-8137.2005.01328.x
- Peel, M.C., Finlayson, B.L., McMahon, T.A., 2007. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. *Hydrol. Earth Syst. Sci.* 11, 1633-1644. doi: 10.5194/hess-11-1633-2007
- Peel, J.R., Sanchez, M.C.M., Portillo, J.P., Golubov, J., 2017. Stomatal density, leaf area and plant size variation of *Rhizophora mangle* (Malpighiales: Rhizophoraceae) along a salinity gradient in the Mexican Caribbean. *Rev. Biol. Trop.* 65(2), 701-712. doi: 10.15517/rbt.v65i2.24372
- Poorter, L., 1999. Growth responses of 15 rain-forest tree species to a light gradient: the relative importance of morphological and physiological traits. *Funct. Ecol.* 13(3), 396-410. doi: 10.1046/j.1365-2435.1999.00332.x
- Poorter, L., Hayashida-Oliver, Y., 2000. Effects of seasonal drought on gap and understorey seedlings in a Bolivian moist forest. *J. Trop. Ecol.* 16, 481-498. doi: 10.1017/S026646740000153X

- Popma, J., Bongers, F., 1991. Acclimation of seedlings of three Mexican tropical rain forest tree species to a change in light availability. *J. Trop. Ecol.* 7, 85-97. doi: 10.1017/S0266467400005137
- Poveda, K., Steffan-Dewenter, I., Scheu, S., Tschardtke, T., 2005. Floral trait expression and plant fitness in response to below- and aboveground plant–animal interactions. *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.* 7, 77-83. doi: 10.1016/j.ppees.2005.02.002
- Puglielli, G., Crescente, M.F., Frattaroli, A.R., Gratani, L., 2015. Morphological, anatomical and physiological leaf trait plasticity of *Sesleria nitida* (Poaceae) in open vs shaded conditions. *Pol. J. Ecol.* 63, 10-22. doi: 10.3161/15052249PJE2015.63.1.002
- Ramos, F.N., Santos, F.A.M., 2005. Phenology of *Psychotria tenuinervis* (Rubiaceae) in Atlantic forest fragments: fragment and habitat scales. *Can. J. Bot.* 83, 1305-1316. doi: 10.1139/b05-106
- Roeser, K.R., 1962. Die Nadel der Schwarzkiefer – Massenprodukt und Kunstwerk der Natur. *Mikrokosmos* 61(2), 33-36.
- Romero, G.Q., Benson, W.W., 2005. Biotic interactions of mites, plants and leaf domatia. *Curr. Opin. Plant Biol.* 8, 436-440. doi: 10.1016/j.pbi.2005.05.006
- Roth, I., 1984. Stratification of tropical forests as seen in leaf structure. *Tasks for vegetation science* 6, Dr. W. Junk, The Hague, Netherlands. doi: 10.1007/978-94-009-6569-0
- Rozendaal, D.M.A., Hurtado, V.H., Poorter, L. 2006. Plasticity in leaf traits of 38 tropical tree species in response to light; relationships with light demand and adult stature. *Funct. Ecol.* 20, 207-216. doi: 10.1111/j.1365-2435.2006.01105.x
- Sack, L., Melcher, P.J., Liu, W.H., Middleton, E., Pardee, T., 2006. How strong is intracanalopy leaf plasticity in temperate deciduous trees? *Am. J. Bot.* 93(6), 829-839. doi: 10.3732/ajb.93.6.829
- Sakai, S., Wright, J. 2008. Reproductive ecology of 21 coexisting *Psychotria* species (Rubiaceae): when is heterostyly lost? *Biol. J. Linn. Soc.* 93, 125-134. doi: 10.1111/j.1095-8312.2007.00890.x
- Salisbury, E.J., 1928. On the causes and ecological significance of stomatal frequency, with special reference to the woodland flora. *Philos. Trans. R. Soc. London Ser. B*, 216, 1-65. doi: 10.1098/rstb.1928.0001
- Seiwa, K., 1999. Changes in leaf phenology are dependent on tree height in *Acer mono*, a deciduous broad-leaved tree. *Ann. Bot.* 83, 355-361. doi: 10.1006/anbo.1998.0831
- Shimizu, M., Ishida, A., Tange, T. and Yagi, H., 2006. Leaf turnover and growth responses of shade-grown saplings of four *Shorea* rain forest species to a sudden increase in light. *Tree Physiol.* 26, 449-457. doi: 10.1093/treephys/26.4.449
- Silva, H.C.H., Lins-e-Silva, A.C.B., Gomes, J.S., Rodal, M.J.N., 2008. The effect of internal and external edges on vegetation physiognomy and structure in a remnant of Atlantic lowland rainforest in Brazil. *Bioem. Biodiv. Bioavail.* 2 (Special Issue 1), 47-55.
- Sims, D.A., Pearcy, R.W. 1992. Response of leaf anatomy and photosynthetic capacity in *Alocasia macrorrhiza* (Araceae) to a transfer from low to high light. *Am J. Bot.* 79, 449-455. doi: 10.2307/2445158
- Singh, K.P., Kushwaha, C.P., 2005. Emerging paradigms of tree phenology in dry tropics. *Curr. Sci.* 89(6), 964-974.
- Soolanayakanahally, R.Y., Guy, R.D., Silim, S.N., Drewes, E.C., Schroeder, W.R., 2009. Enhanced assimilation rate and water use efficiency with latitude through increased photosynthetic capacity and internal conductance in balsam poplar (*Populus balsamifera* L.). *Plant Cell Environ.* 32(12), 1821-1832. doi: 10.1111/j.1365-3040.2009.02042.x



- Strauss-Debenedetti, S., Berlyn, G.P., 1994. Leaf anatomical responses to light in five tropical Moraceae of different successional status. *Am. J. Bot.* 81(12), 1582-1591. doi: 10.2307/2445336
- Sultan, S.E., 2000. Phenotypic plasticity for plant development, function and life history. *Trends Plant Sci.* 5, 537-542. doi: 10.1016/S1360-1385(00)01797-0
- Tang, H., Dubayah, R., 2017. Light-driven growth in Amazon evergreen forests explained by seasonal variations of vertical canopy structure. *PNAS* 114(10), 2640-2644. doi: 10.1073/pnas.1616943114
- Taylor, C.M., 2007. *Psychotria*. In: Wanderley, M.G.L., Shepherd, G.J., Melhem, T.S., Giulietti, A.M. (Eds.), *Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo*. Instituto de Botânica, São Paulo, vol. 5, pp. 389-412. Available on: [http://botanica.sp.gov.br/ffesp\\_online/](http://botanica.sp.gov.br/ffesp_online/)
- Taylor, C.M., Hollowell, V.C., 2016. Rubiacearum Americanarum Magna Hama Pars XXXV: The New Group *Palicourea* sect. *Nonatelia*, with Five New Species (Palicoureeae). *Novon* 25, 69-110. doi: 10.3417/2015012
- Uemura, S., 1994. Patterns of leaf phenology in forest understory. *Can. J. Bot.* 72(4), 409-414. doi: 10.1139/b94-055
- Valladares, F., Balaguer, L., Martinez-Ferri, E., Perez-Corona, E., Manrique, E., 2002. Plasticity, instability and canalization: Is the phenotypic variation in seedlings of sclerophyll oaks consistent with the environmental unpredictability of Mediterranean ecosystems? *New Phytol.* 156(3), 457-467. doi: 10.1046/j.1469-8137.2002.00525.x
- Valladares, F., Gianoli, E., Valladares, J.M.G., 2007. Ecological limits to plant phenotypic plasticity. *New Phytol.* 176, 749-763. doi: 10.1111/j.1469-8137.2007.02275.x
- Valladares, F., Sanchez-Gomez, D., Zavala, M.A., 2006. Quantitative estimation of phenotypic plasticity: bridging the gap between the evolutionary concept and its ecological applications. *J. Ecol.* 94, 1103-1116. doi: 10.1111/j.1365-2745.2006.01176.x
- Valladares, F., Wright, S.J., Lasso, E., Kitajima, K., Pearcy, R.W., 2000. Plastic phenotypic response to light of 16 rainforest shrubs (*Psychotria*) differing in shade tolerance. *Ecology* 81, 1925-1936. doi: 10.2307/177282
- van Schaik, C.P., Terborgh, J.W., Wright, S.J., 1993. The phenology of tropical forests: adaptive significance and consequences for primary consumers. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 24, 353-377. doi: 10.1146/annurev.es.24.110193.002033
- Varejão-Silva, M.A., 2006. *Meteorologia e Climatologia – Versão Digital 2*. Recife. Available in: [http://www.icat.ufal.br/laboratorio/clima/data/uploads/pdf/METEOROLOGIA\\_E\\_CLIMATOLOGIA\\_VD2\\_Mar\\_2006.pdf](http://www.icat.ufal.br/laboratorio/clima/data/uploads/pdf/METEOROLOGIA_E_CLIMATOLOGIA_VD2_Mar_2006.pdf)
- Vasconcelos, H.L., Luizão, F.J., 2004. Litter production and litter nutrient concentrations in a fragmented Amazonian landscape. *Ecol. Appl.* 14(3), 884-892. doi: 10.1890/03-5093
- Vieira, W.L., Boeger, M.R.T., Cosmo, N.L., Coan, A.I., 2014. Leaf morphological plasticity of tree species from two developmental stages in *Araucaria* forest. *Braz. Arch. Biol. Technol.* 57(4), 476-485. doi: 10.1590/S1516-89132014005000010
- Vogado, N.O., Camargo, M.G.G., Locosselli, G.M., Morellato, L.P.C., 2016. Edge effects on the phenology of the guamirim, *Myrcia guianensis* (Myrtaceae), a cerrado tree, Brazil. *Trop. Conserv. Sci.* 9(1), 291-312. doi: 10.1177/194008291600900115
- Vogelmann, T.C., Martin, G., Chen, G., Buttry, D., 1991. Fibre optic microprobes and measurement of the light microenvironment within plant tissues. *Adv. Bot. Res.* 18, 255-295. doi: 10.1016/S0065-2296(08)60024-5

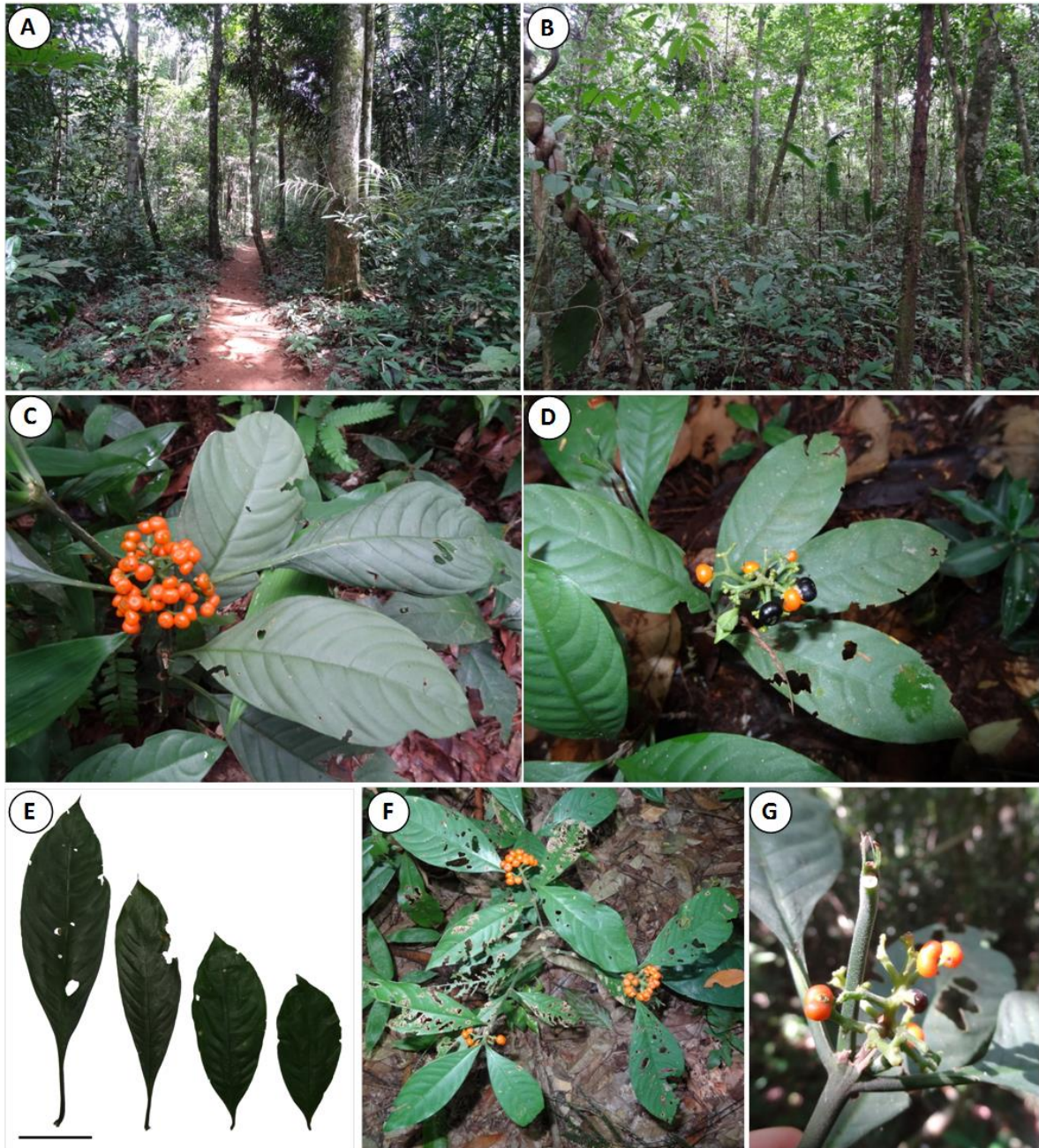
- Xiao, Y., Tholen, D., Zhu, X., 2016. The influence of leaf anatomy on the internal light environment and photosynthetic electron transport rate: exploration with a new leaf ray tracing model. *J. Exp. Bot.* 67(21), 6021-6035. doi: 10.1093/jxb/erw359
- Williams-Linera, G., 2003. Temporal and spatial phenological variation of understory shrubs in a Tropical Montane Cloud Forest. *Biotropica* 35(1), 28-36. doi: 10.1111/j.1744-7429.2003.tb00259.x
- Williams-Linera, G., Herrera, F., 2003. Folivory, herbivores, and environment in the understory of a Tropical Montane Cloud Forest. *Biotropica* 35(1): 67-73. doi: 10.1111/j.1744-7429.2003.tb00263.x
- Wirth, R., Meyer, S.T., Leal, I.R., Tabarelli, M., 2008. Plant herbivore interactions at the forest edge, in: Lüttge, U., Beyschlag, W., Murata, J. (Eds.), *Progress in Botany 69*. Springer, Berlin Heidelberg, pp. 423-448. doi: 10.1007/978-3-540-72954-9\_17
- Wright, I.J., Reich, P.B., Westoby, M., Ackerly, D.D., Baruch, Z., Bongers, F., Cavender-Bares, J., Chapin, T., Cornelissen, J.H., Diemer, M., Flexas, J., Garnier, E., Groom, P.K., Gulias, J., Hikosaka, K., Lamont, B.B., Lee, T., Lee, W., Lusk, C., Midgley, J.J., Navas, M.L., Niinemets, U., Oleksyn, J., Osada, N., Poorter, H., Poot, P., Prior, L., Pyankov, V.I., Roumet, C., Thomas, S.C., Tjoelker, M.G., Veneklaas, E.J., Villar, R., 2004. The worldwide leaf economics spectrum. *Nature* 428, 821-827. doi: 10.1038/nature02403
- Zappi, D.C., Sasaki, D., Milliken, W., Piva, J., Henicka, G.S., Biggs, N., Frisby, S., 2011. Plantas vasculares da região do Parque Estadual Cristalino, norte de Mato Grosso, Brasil. *Acta Amaz.* 41(1), 29-38. doi: 10.1590/S0044-59672011000100004

**Table 1.** Morphological and anatomical traits measured in sun-shade leaves of *Palicourea racemosa* in the Amazon rainforest understory, Brazil. Mean  $\pm$  standard deviation and level of significance (significant:  $p < 0.05$ ) in the Tukey test or Mann-Whitney rank sum test (<sup>M</sup>). PI = plasticity index. The morphological plasticity index (PI<sub>m</sub>) and anatomical plasticity index (PI<sub>a</sub>) are shown.

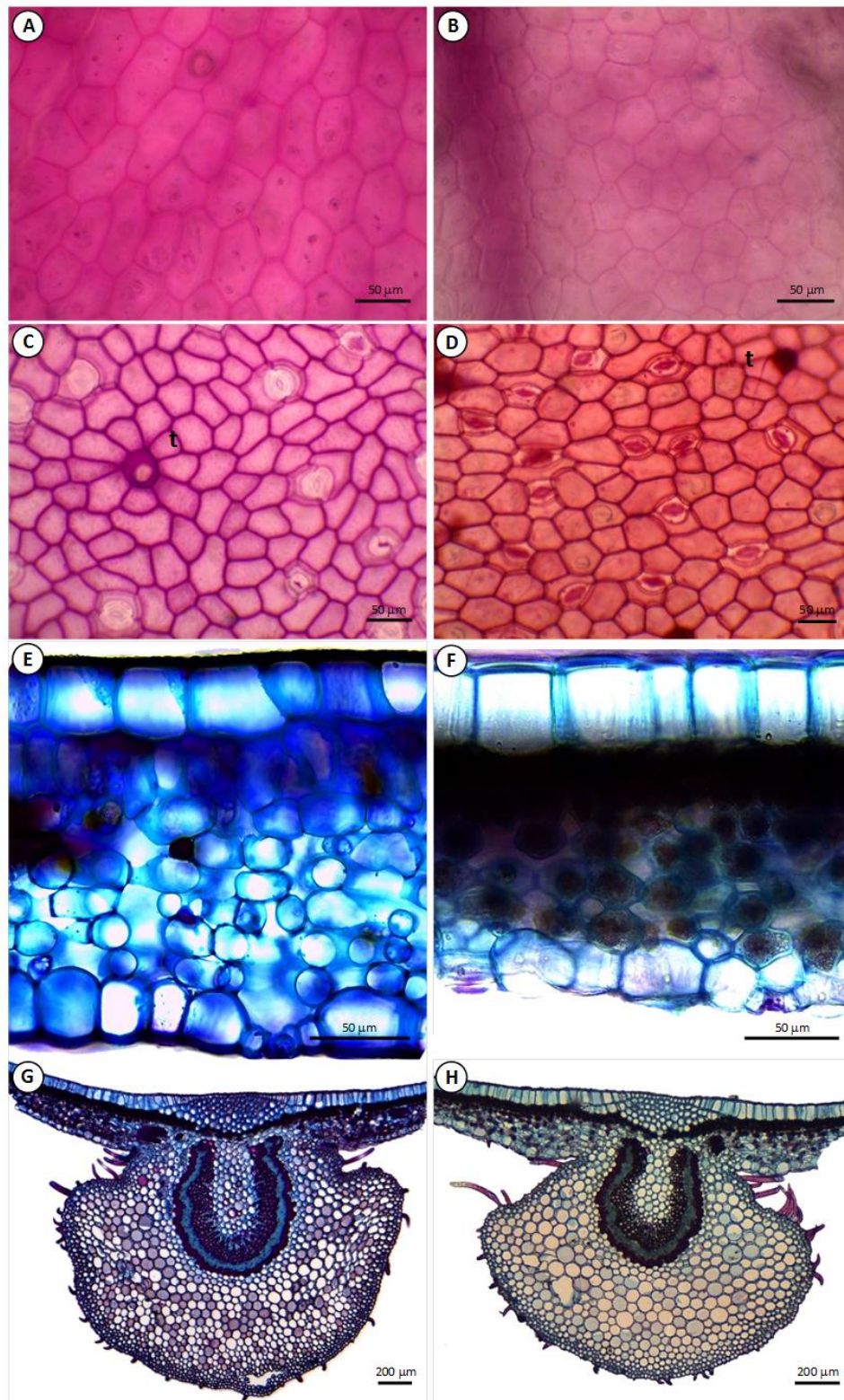
Leaf traits	sun	shade	<i>p</i>	PI
<b><i>Morphological</i></b>				
Petiole length (mm)	19.93 $\pm$ 6.25	10.62 $\pm$ 5.43	0.0001	0.77
Blade length (mm)	173.24 $\pm$ 19.01	115.95 $\pm$ 22.10	0.0001	0.44
Blade width (mm)	62.44 $\pm$ 9.59	43.89 $\pm$ 8.30	0.0001	0.52
Blade thickness (mm)	0.16 $\pm$ 0.02	0.14 $\pm$ 0.03	0.0043	0.44
Leaf area (cm <sup>2</sup> )	70.62 $\pm$ 15.81	34.94 $\pm$ 12.33	0.0001	0.64
Leaf dry mass (g)	0.31 $\pm$ 0.06	0.11 $\pm$ 0.05	0.0001	0.68
Specific leaf area (cm <sup>2</sup> ·g <sup>-1</sup> )	227.73 $\pm$ 31.06	344.43 $\pm$ 105.38	0.0001	0.62
Leaf water content (%)	79.39 $\pm$ 2.18	80.77 $\pm$ 4.52	0.1389	-----
Mean value				<b>PI<sub>m</sub> = 0.59</b>
<b><i>Anatomical</i></b>				
Upper (adaxial) epidermis thickness (μm)	46.05 $\pm$ 9.97	50.08 $\pm$ 5.98	0.0161	0.52
Lower (abaxial) epidermis thickness (μm)	37.52 $\pm$ 6.38	37.23 $\pm$ 5.47	0.8077	-----
Stomatal index (%)	11.64 $\pm$ 2.93	8.45 $\pm$ 1.70	0.0051 <sup>M</sup>	0.58
Stomatal density (stomata per mm <sup>2</sup> )	80.82 $\pm$ 28.76	69.03 $\pm$ 8.39	0.1920 <sup>M</sup>	-----
Substomatic chamber depth (μm)	25.47 $\pm$ 7.67	20.80 $\pm$ 5.43	0.2313 <sup>M</sup>	-----
Palisade parenchyma thickness (μm)	144.31 $\pm$ 153.78	29.25 $\pm$ 5.30	0.0001	0.92
Spongy parenchyma thickness (μm)	347.27 $\pm$ 367.33	77.87 $\pm$ 11.83	0.0001	0.91
Palisade to spongy parenchyma ratio (μm·μm <sup>-1</sup> )	0.43 $\pm$ 0.09	0.39 $\pm$ 0.10	0.0128 <sup>M</sup>	0.67
Midrib height (μm)	1443.91 $\pm$ 231.95	1311.36 $\pm$ 104.34	0.0005	0.46
Collenchyma tissue thickness (μm)	180.71 $\pm$ 32.96	153.38 $\pm$ 16.34	0.0001	0.48
Central vascular bundle height (μm)	249.86 $\pm$ 58.77	198.02 $\pm$ 24.63	0.0001	0.55
Sclerenchyma tissue thickness in the central vascular bundle (μm)	39.24 $\pm$ 8.93	31.34 $\pm$ 7.97	0.0001	0.70
Mean value				<b>PI<sub>a</sub> = 0.64</b>

**Table 2.** Comparisons of leaf phenology (number or proportion of leaves per crown) of *Palicourea racemosa* among seasons (rainy and dry; Wilcoxon matched pairs test), and between sun and shade plants in each season (Mann-Whitney test) in the Brazilian Amazon rainforest. ns: not significant.

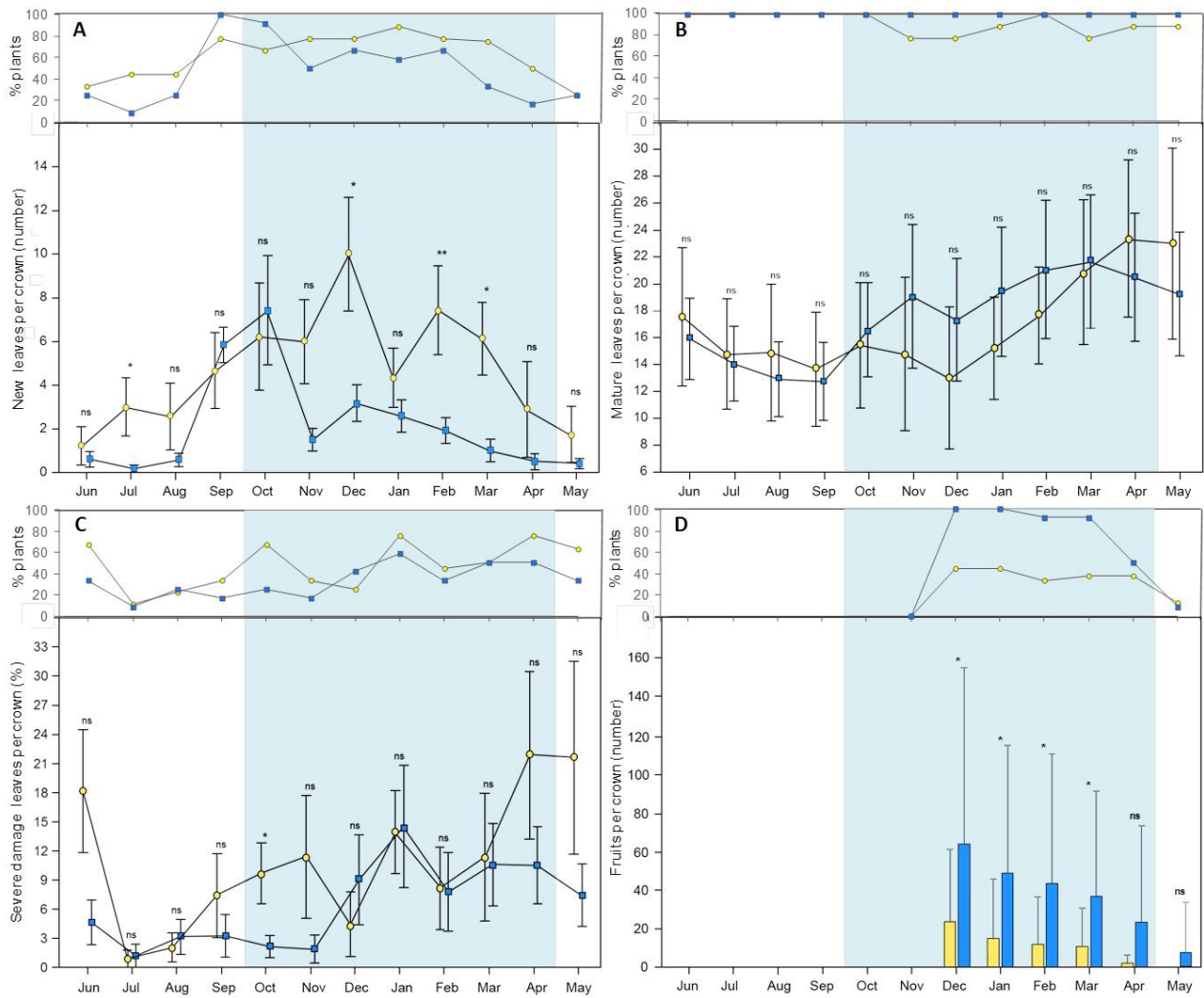
<b>A. Rainy <math>\times</math> dry season</b>	<b>Sun plants</b>			<b>Shade plants</b>		
	<b>Z</b>	<b>P</b>	<b>result</b>	<b>Z</b>	<b>p</b>	<b>result</b>
New/young	2.07	0.038	rainy > dry	2.12	0.034	rainy > dry
Mature	0.30	0.767	ns	2.20	0.028	rainy > dry
% of light damaged	0.65	0.515	ns	1.80	0.071	ns
% of severe damaged	1.01	0.314	ns	1.24	0.213	ns
% of damaged (total)	1.36	0.173	ns	3.06	0.002	rainy > dry
<b>B. Sun <math>\times</math> shade plants</b>	<b>Rainy season</b>			<b>Dry season</b>		
	<b>Z</b>	<b>p</b>	<b>result</b>	<b>Z</b>	<b>p</b>	<b>result</b>
New/young	2.17	0.030	sun > shade	1.00	0.318	ns
Mature	-0.57	0.570	ns	-0.21	0.831	ns
% of light damaged	-1.63	0.102	ns	-1.46	0.145	ns
% of severe damaged	1.64	0.102	ns	1.98	0.048	sun > shade
% of damaged (total)	-0.43	0.669	ns	0.04	0.972	ns



**Fig. 1.** General aspects of the sun (A) and shade (B) environments considered in the present study, in an Amazon rainforest fragment, Mato Grosso State, Brazil. Sun (C) and shade (D) individuals of *Palicourea racemosa* (Rubiaceae) growing in the understory, with unripe (orange) and ripe fruits (black). (E) Size comparison between sun (two on left) and shade leaves (two on right). (F) Individual with slight and severe damaged leaves. (G) Apical branch predated.



**Fig. 2.** Anatomical traits of *Palicourea racemosa* (Rubiaceae) leaves in sun (left images) and shade (right images) conditions in the Amazon rainforest understory, Brazil. (A-B) Frontal view of the upper epidermal face. (C-D) Frontal view of the lower epidermal face, with stomata and trichome scars. t – trichome scar. (E-F) Cross section of the leaf blade, showing stomata in the same level of the epidermal cells. (G-H) Cross section of the midrib region.



**Fig. 3.** Leaf and fruiting phenology of *Palicourea racemosa* plants growing under sun (yellow circles) and shade (blue squares) conditions in the Amazon rainforest (Mato Grosso State, Brazil), from June/2016 to May/2017. (A-B) Monthly percentage of plants and mean production ( $\pm 1$  SE) of new/young and mature leaves per crown. (C) Monthly percentage of plants with severe damaged leaves and mean percentage ( $\pm 1$  SE) of severe damaged leaves per crown. (D) Monthly percentage of plants with fruits and mean number ( $+ SD$ ) of fruits per crown (unripe and ripe together). Significance levels determined by t-test or Mann-Whitney test: \*,  $p < 0.05$ ; \*\*,  $p < 0.01$ ; ns, not significant. The blue shadow represents the rainy season in the study region.

### **3.3. Fenologia reprodutiva de *Palicourea racemosa* no sub-bosque de floresta úmida no sul da Amazônia, Brasil<sup>3</sup>**

<sup>3</sup> Artigo no prelo (Revista de Ciências Agroambientais).



# Fenologia reprodutiva de *Palicourea racemosa* no sub-bosque de floresta úmida no sul da Amazônia, Brasil

Andréia Aparecida Franco <sup>1,\*</sup>, Eliana Gressler <sup>1</sup>, Angélica Oliveira Müller <sup>1</sup> e Ivone Vieira da Silva <sup>1</sup>

<sup>1</sup> Universidade do Estado de Mato Grosso, Campus de Alta Floresta, Faculdade de Ciências Biológicas e Agrárias, Caixa Postal 324, Alta Floresta, CEP 78580-000, MT, Brasil; andreiafranco.bio@hotmail.com; eliana.gressler@gmail.com; angelmuller88@gmail.com; ivibot@hotmail.com

\* Autor Correspondente: andreiafranco.bio@hotmail.com

Recebido: XX/XX/XXXX; Aceito: XX/XX/XXXX

**Resumo:** A fenologia investiga a ocorrência das fases do ciclo de vida das plantas e sua relação com os fatores bióticos e abióticos, auxiliando na compreensão da biologia das espécies e dinâmica dos ecossistemas. O conhecimento fenológico de espécies em florestas tropicais úmidas ainda é limitado, em especial no sul da Amazônia brasileira, onde inventários florísticos são escassos. Este estudo objetivou avaliar a fenologia reprodutiva de uma espécie de sub-bosque, *Palicourea racemosa* (Aubl.) Borhidi (= *Psychotria racemosa*, Rubiaceae), comparando padrões fenológicos e produtividade entre duas áreas distintas de floresta ombrófila densa no sul da Amazônia, estado de Mato Grosso, Brasil. As fenofases reprodutivas (botão floral, antese, fruto imaturo e fruto maduro) foram avaliadas mensalmente durante um ano (junho/2016 a maio/2017) em 103 indivíduos adultos, por meio da contagem total de estruturas reprodutivas presentes na copa de cada indivíduo. O ciclo reprodutivo de *P. racemosa* ocorreu durante a estação chuvosa, com as fenofases da floração concentradas no início da estação e o desenvolvimento dos frutos se estendendo até o início da estação seca. O florescimento e a frutificação na estação chuvosa pode ser uma estratégia da espécie para garantir a reprodução na época do ano com maior disponibilidade hídrica. Não foram encontradas diferenças significativas entre as duas áreas de estudo quanto à época e duração das fenofases e quantidade anual de estruturas reprodutivas produzidas por copa. A similaridade fenológica encontrada entre as duas populações de *P. racemosa* pode estar relacionada com as características ambientais relativamente similares entre as áreas florestais amostradas.

**Palavras-chave:** floração; frutificação; produtividade; Rubiaceae; sazonalidade.

## Reproductive phenology of *Palicourea racemosa* in the rainforest understory, Southern Amazonia, Brazil

**Abstract:** Phenology investigates the occurrence of plant life cycle phases and their relationship with biotic and abiotic factors, helping to understand species biology and ecosystem dynamics. Phenological knowledge of species in tropical rainforests is still limited, especially in the southern portion of Amazonia, where floristic inventories are scarce. This study aimed to evaluate the reproductive phenology of an understory species, *Palicourea racemosa* (Aubl.) Borhidi (= *Psychotria racemosa*, Rubiaceae), comparing phenological patterns and productivity between two distinct sites of rainforest in Southern Amazonia, Mato Grosso State, Brazil. The reproductive phenophases (floral bud, anthesis, immature fruit and mature fruit) were evaluated monthly during one year (June/2016 to May/2017) in 103 adult individuals, through the count of all reproductive structures present in the crown of each individual. The reproductive cycle of *P. racemosa* occurred during the rainy season, with flowering phenophases concentrated at the beginning of the season and fruit development extending until the beginning of the dry season. Flowering and fruiting in the rainy season may be a strategy of the species to guarantee reproduction in the period of the year with greater water availability. No significant differences were found between the two study areas regarding the time and duration of the phenophases and the annual amount of reproductive structures produced per crown. Phenological similarity among the two *P. racemosa* populations may be related to the similar environmental characteristics among the study sites.

**Key-words:** flowering; fruiting; productivity; Rubiaceae; seasonality.

### 1. INTRODUÇÃO

Rubiaceae é uma das principais famílias da flora brasileira, com 124 gêneros e 1.381 espécies nativas e ocorrência em todos os domínios fitogeográficos do país (BARBOSA et al., 2015; BFG, 2015). Em estudos ecológicos nas regiões tropicais,

Rubiaceae destaca-se devido à sua abundância, diversidade e presença em todos os estratos da vegetação, em especial nas comparações florísticas entre diferentes fitofisionomias, habitats e estratos (e.g., herbáceo, arbustivo, arbóreo), podendo ser considerada um indicador do status de conservação na vegetação tropical (DELPRETE & JARDIM, 2012). A família é particularmente abundante no sub-bosque de florestas úmidas neotropicais (GENTRY & EMMONS, 1987; DELPRETE & JARDIM, 2012), sendo significativa fonte alimentar para a fauna, em especial para abelhas e aves (e.g., RAMALHO et al., 1990; BREMER & ERIKSSON, 1992; BUZATO et al., 2000).

A fenologia avalia a ocorrência dos fenômenos cíclicos no ciclo de vida das plantas, como a floração, frutificação e mudança foliar, relacionando-os com fatores bióticos (e.g., interações com polinizadores e dispersores de sementes) e abióticos (e.g., precipitação, temperatura e fotoperíodo) (LIETH, 1974; FENNER, 1998; SAKAI et al., 1999). Além destes fatores, a floração e a frutificação de espécies de Rubiaceae também podem ser afetadas pelo sistema reprodutivo. Muitas espécies da família são distílicas, com indivíduos de morfos florais (longistilo e brevistilo) distintos na mesma população, diferindo quanto ao posicionamento das anteras em relação ao estilete (GANDERS, 1979). Os morfos florais podem apresentar variações na produção de flores, frutos e sementes (e.g., GANDERS, 1979; CASTRO & OLIVEIRA, 2002; MARTÉN-RODRÍGUEZ et al., 2013; SILVA et al., 2014), e aspectos importantes como a sincronia na floração e a disponibilidade de flores permanecem pouco explorados nos estudos com espécies distílicas (FARIA & ARAÚJO, 2016).

No domínio fitogeográfico da Amazônia, Rubiaceae é a terceira família com maior diversidade, apresentando também alto número de espécies endêmicas (BARBOSA et al., 2015; BFG, 2015), entretanto, poucos estudos avaliaram especificamente os padrões fenológicos de espécies da família em fitofisionomias amazônicas (e.g., BRANDO et al., 2006; SANTOS et al., 2008; RODRIGUES & CONSOLARO, 2013). Em grande parte da Amazônia ocorre uma estação seca definida, que afeta marcadamente a fenologia e o desenvolvimento das plantas, devido à flutuação sazonal na disponibilidade hídrica do solo e na demanda evaporativa atmosférica (BERGAMASCHI, 2007). Nas comunidades vegetais amazônicas, a floração é geralmente sazonal e ocorre na estação seca ou na transição entre a seca e chuvosa, enquanto a frutificação pode ser sazonal ou concentrada na transição da estação chuvosa para a seca (MORELLATO et al., 2013).

Na região norte do estado do Mato Grosso o conhecimento sobre a flora ainda é muito limitado (DELPRETE & JARDIM, 2012), e pouco se sabe sobre as épocas de floração e frutificação das espécies. A vegetação nativa desta região está sendo suprimida rapidamente, com a substituição de áreas florestadas principalmente por lavouras, pastagens e lagos de hidrelétricas, tornando-se urgente conhecer e catalogar a diversidade animal e vegetal para a sua conservação e preservação (DELPRETE & CORTÉS-B, 2006; ZAPPI et al., 2011). Assim, o conhecimento da relação das plantas com o ambiente por meio de estudos fenológicos pode contribuir para a elaboração de estratégias apropriadas de conservação das espécies e das fitofisionomias em que elas ocorrem, e também auxilia a prever os efeitos de mudanças climáticas globais (MORELLATO et al., 2016).

Nesse contexto, o objetivo do presente estudo foi comparar a fenologia reprodutiva de uma espécie de sub-bosque, *Palicourea racemosa* (Aubl.) Borhidi (= *Psychotria racemosa*), entre duas áreas distintas de floresta ombrófila densa no norte do estado de Mato Grosso, buscando responder as seguintes questões: 1) Qual o padrão fenológico da espécie e como este varia entre as áreas estudadas? 2) Como varia a produção de estruturas reprodutivas por copa dos indivíduos entre as áreas estudadas? Esperamos que o padrão fenológico de *P. racemosa* seja sazonal, com variações entre as áreas de estudo quanto à produtividade, relacionadas com as características ambientais.

## 2. MATERIAL E MÉTODOS

### 2.1. Espécie estudada

*Palicourea racemosa* é um subarbusto comum no sub-bosque de florestas úmidas no sul da Amazônia brasileira, composto por poucas folhas adultas na copa, em média 16 considerando os meses com mais folhas, em fevereiro e março (Figura 1; FRANCO et al., em preparação). As flores são sésseis, pequenas e brancas, arranjadas em inflorescências esverdeadas (Figuras 1B-C). *P. racemosa* possui ocorrência comum nas duas áreas florestais estudadas (descritas na seção 2.2) e é facilmente reconhecida na época da frutificação devido aos frutos carnosos, que quando imaturos são alaranjados e quando maduros são pretos (Figuras 1E-F). A espécie é referida como distílica no cerrado (CONSOLARO, 2008) e homostílica em florestas úmidas do Panamá (SAKAI & WRIGHT, 2008) e do Brasil (SILVA, 2008, em uma área próxima do presente estudo).



**Figura 1.** Aspectos gerais de *Palicourea racemosa* (Rubiaceae) em duas áreas de floresta ombrófila densa no norte de Mato Grosso, Brasil. (a) Indivíduo portando frutos imaturos; (b) Inflorescência com botões; (c) Inflorescência com botões, flores e frutos imaturos em estágio inicial; (d) Frutos imaturos; (e) Frutos imaturos iniciando a maturação; (f) Frutos imaturos alaranjados e maduros pretos.

## 2.2. Áreas estudadas

Este estudo foi realizado em duas áreas de floresta ombrófila densa, no domínio fitogeográfico da Amazônia, norte do estado de Mato Grosso, Brasil. A Reserva Particular do Patrimônio Natural Mirante da Serra (RMS) está localizada no município de Novo Mundo e, juntamente com outras três unidades de preservação, abrange 670 hectares de vegetação com pouca/nenhuma perturbação antrópica (RPPN's Cristalino). A área selecionada para o estudo dentro da RMS (09°35'12"S, 55°55'21"W – 09°35'11"S, 55°55'11"W, altitude 250-300 m) é caracterizada por árvores de grande porte formando um dossel contínuo de 20–30 m de altura, emergentes de até 50 m de altura e sub-bosque denso com diversas formas de vida (SASAKI et al., 2010). O ambiente da área é úmido, com pouca influência visível da seca e sem inundações na estação chuvosa (SASAKI et al., 2010). Rubiaceae é a segunda família mais diversa nessa região do estudo, após Fabaceae (ZAPPI et al., 2011). A segunda área de estudo é a Reserva do Floresta Amazônica Hotel Resort (RFA), que abrange 50 hectares de floresta com baixa perturbação antrópica, no centro urbano do município de Alta Floresta, a cerca de 38 km de distância da RMS. Na porção de floresta estudada na RFA (09°52'44"S, 56°05'57"W – 09°52'49"S, 56°06'11"W, 300 m de altitude), o dossel atinge de 20–30 m de altura, sendo caracterizado principalmente por árvores da família Fabaceae, e um rico e denso sub-bosque, dominado por espécies de Rubiaceae, Annonaceae e Acanthaceae (E. Gressler, observação pessoal).

O clima da região é classificado como Aw (PEEL et al., 2007), com temperatura média anual de 26-27°C, precipitação média anual de 2.232 mm e estação seca definida de maio a setembro (1979-2009; DUBREUIL et al., 2012). No período de estudo (junho/2016 a maio/2017) a temperatura média foi de 25,9°C na RFA e 27,3°C na RMS, e a precipitação total anual foi de 2.098 mm na RFA e sem valor disponível para a RMS devido a problemas na estação meteorológica local durante o estudo. Considerando os dados de janeiro/2015 a dezembro/2016, a precipitação anual média na RMS é de 2.250 mm, e chove até 100 mm a mais por mês nessa área em comparação com a RFA. O clima geral é similar entre as áreas: julho e agosto são os meses mais secos e com as temperaturas mínimas mais baixas e máximas mais altas no ano, e novembro a fevereiro os meses mais chuvosos. Os dados meteorológicos da RFA foram coletados a 3,5 km de distância, na Estação Meteorológica da Universidade do Estado de Mato Grosso (UNEMAT), município de Alta Floresta, e os dados da RMS, na própria reserva (V. Dubreuil, dados não publicados, DUBREIUL et al., 2012). Devido aos problemas na estação meteorológica da RMS, utilizamos somente os dados meteorológicos da Estação Meteorológica da UNEMAT nas discussões deste estudo (Figura 2A). O fotoperíodo na latitude 9° varia de 11,6 horas/dia em junho a 12,7 horas/dia em dezembro (VAREJÃO-SILVA, 2006), com os maiores valores durante a estação chuvosa da região.

## 2.3. Coleta e análise de dados

As fenofases reprodutivas (botão floral, antese, fruto imaturo e fruto maduro) foram avaliadas mensalmente durante um ano (junho/2016 a maio/2017) em 103 indivíduos adultos de *Palicourea racemosa* (53 na RMS e 50 na RFA). O método de avaliação fenológica foi a contagem total de estruturas reprodutivas presentes na copa de cada indivíduo amostrado. No momento de sua marcação (abril-maio/2016), todos os indivíduos estavam reprodutivos, portando frutos imaturos e/ou maduros. A distribuição dos indivíduos da espécie nas áreas estudadas não segue um padrão agrupado e relativamente poucos indivíduos foram encontrados próximos a trilhas ou bordas da floresta. Em cada indivíduo medimos o perímetro basal do caule (cm) a cinco centímetros acima do solo, e a altura da copa (m). Considerando o possível efeito do morfo floral na produtividade (e.g., SOBREVILA et al., 1983) e a variação na descrição do sistema reprodutivo de *P. racemosa* na literatura, buscamos averiguar o morfo floral de cada indivíduo.

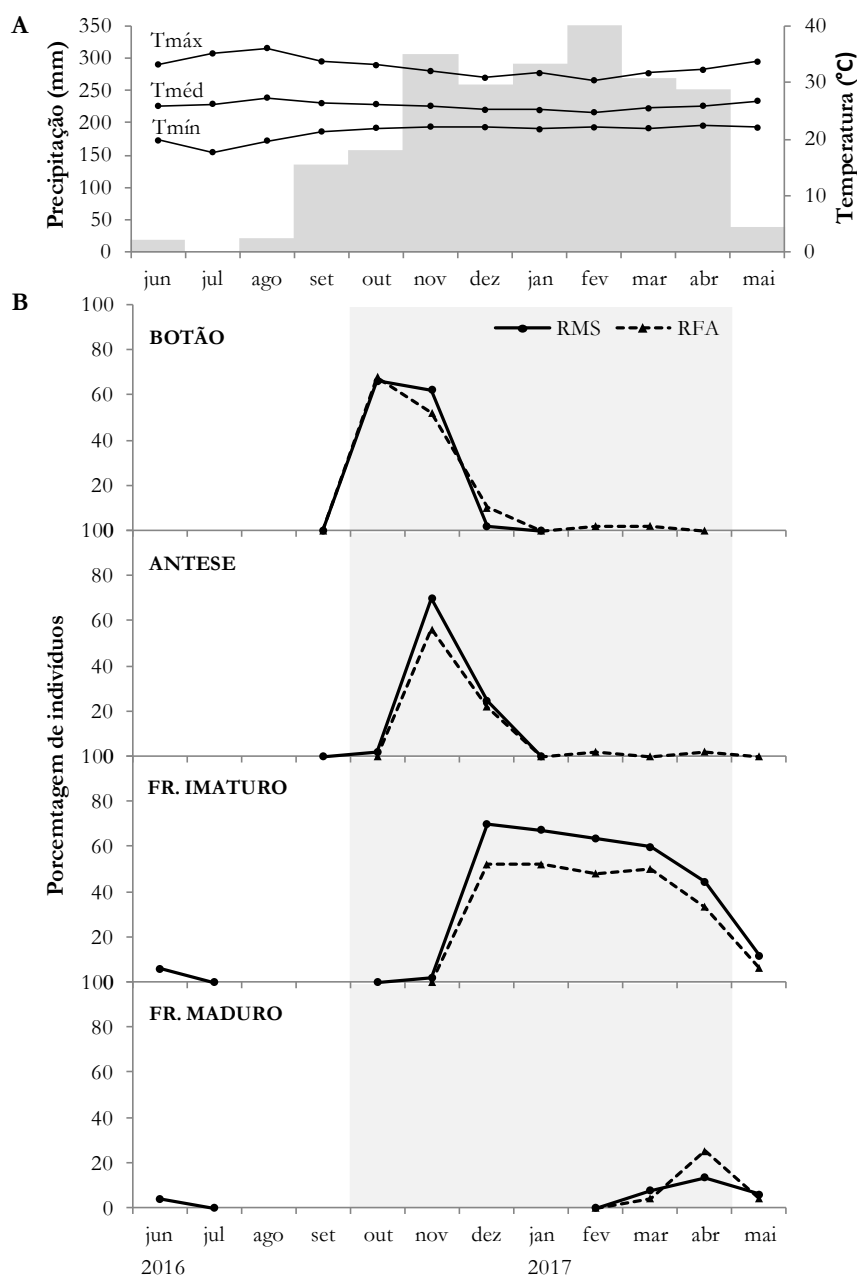
Gráficos interpretativos com a porcentagem de indivíduos em cada fenofase foram utilizados para avaliar o comportamento fenológico de *P. racemosa* no ano de estudo. Em cada indivíduo também foi calculado o mês de início e pico das fenofases, sendo o pico o mês com maior quantidade de estruturas reprodutivas em cada fenofase. A comparação do início e pico das fenofases entre as áreas estudadas foi realizada utilizando a análise estatística circular (ZAR, 1996; MORELLATO et al., 2000, 2010), com o programa Oriana 2.02 (KOVACH, 2004). Para calcular a data média ou ângulo médio das fenofases, os meses de início e pico das fenofases foram convertidos em ângulos, de 1° (dia 01 de janeiro) a 360° (dia 31 de dezembro). A significância do ângulo médio foi verificada com o teste de Rayleigh, em que valores de  $p < 0,05$  indicam padrão sazonal na fenofase avaliada. A intensidade de concentração ( $r$ ) ao redor do ângulo médio varia de 0 a 1, com os maiores valores indicando alta sincronia intraespecífica. O teste de Watson-Williams (F) foi utilizado para comparar a data média das fenofases entre as duas áreas estudadas, considerando apenas os ângulos médios significativos no teste de Rayleigh.

A maioria dos dados de *P. racemosa* não apresentou distribuição normal (teste de Shapiro-Wilk), e por isso aplicamos testes estatísticos não-paramétricos. O teste de Mann-Whitney foi utilizado para comparar o tamanho dos indivíduos entre a RMS e a RFA, pois o tamanho pode influenciar a produtividade. O mesmo teste foi utilizado para comparar a duração das fenofases (número de meses de ocorrência de cada fenofase) e a produtividade (quantidade de estruturas reprodutivas por copa) entre as áreas estudadas. Para esta análise de produtividade foram incluídos somente os indivíduos que floresceram e/ou frutificaram durante o estudo, considerando a quantidade total de estruturas produzidas em cada indivíduo, para cada fenofase, durante o ano estudado.

### 3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

A altura média dos indivíduos de *Palicourea racemosa* amostrados na RMS foi de  $0,56 \pm 0,19$  m (variando de 0,30 a 1,05), e o perímetro basal médio de  $2,66 \pm 0,71$  cm (variando de 1,50 a 5,00). Na RFA, a altura média dos indivíduos foi de  $0,54 \pm 0,29$  m (variando de 0,09 a 1,60), e o perímetro basal médio de  $3,20 \pm 1,12$  cm (variando de 1,50 a 6,50). O teste de Mann-Whitney apontou que não há diferença significativa entre as áreas quanto à altura ( $Z = 1,01$ ;  $p = 0,31$ ), mas que há diferença quanto ao perímetro basal ( $Z = -3,20$ ;  $p < 0,002$ ), com os indivíduos da RFA apresentando os maiores valores.

O comportamento fenológico reprodutivo de *P. racemosa* foi similar entre as duas áreas estudadas, ocorrendo durante a estação chuvosa, época de maior precipitação, fotoperíodo e temperaturas médias mais amenas na região do estudo (Figura 2). As fenofases da floração ocorreram concentradas no início da estação chuvosa, com maiores porcentagens de indivíduos em outubro e novembro, e o desenvolvimento dos frutos iniciou em dezembro/2016 em 70% dos indivíduos da RMS e 52% da RFA, se estendendo até o início da estação seca (Figura 2B). O desenvolvimento inicial dos frutos foi lento, com aquisição mais notável de volume a partir de janeiro/2017, e no mês seguinte os primeiros começaram a se tornar alaranjados e muito conspícuos nas florestas (Figuras 1D-E). A maturação completa dos frutos ocorreu de três a cinco meses após o início da frutificação, com as maiores porcentagens de indivíduos portando frutos maduros em abril, no final da estação chuvosa, mas alguns indivíduos também em maio e junho, no início da estação seca (Figura 2B). Todas as datas médias de início e pico das fenofases foram significativas em ambas as áreas estudadas, com alta sincronia intraespecífica, demonstrando o comportamento reprodutivo sazonal da espécie (Tabela 1). O teste de Watson-Williams não apontou diferença significativa entre as áreas estudadas em nenhuma das datas de início ou pico das fenofases de *P. racemosa* (todos os valores do teste com  $p \geq 0,05$ ). Em ambas as áreas de estudo a duração de botão, antese e fruto maduro foi relativamente curta (em média menos de dois meses) e a duração de fruto imaturo, mais longa (em média quatro meses), sem diferença significativa entre as áreas (teste de Mann-Whitney,  $p \geq 0,05$ ; Tabela 1).



**Figura 2.** Variáveis meteorológicas e fenologia reprodutiva de *Palicourea racemosa* no período de junho/2016 a maio/2017, norte do estado de Mato Grosso, Brasil. (A) Fotoperíodo para a latitude 9°; (B) precipitação e temperaturas mínima, média e máxima na região do estudo (Fonte: Estação Meteorológica da Universidade do Estado de Mato Grosso, Alta Floresta); (C) fenofases reprodutivas de *P. racemosa* nas duas áreas estudadas. RMS: Reserva Particular do Patrimônio Natural Mirante da Serra, município de Novo Mundo. RFA: Reserva do Floresta Amazônica Hotel Resort, município de Alta Floresta. O fundo cinza representa a estação chuvosa.

Apesar de *P. racemosa* ser amplamente distribuída em florestas do sul do México até o sul do Brasil, só não ocorrendo nos estados de Santa Catarina e Rio Grande do Sul (BARBOSA et al., 2015; TAYLOR & HOLLOWELL, 2016), encontramos na literatura poucos estudos tratando da fenologia reprodutiva da espécie. No Brasil, somente dois estudos fenológicos foram desenvolvidos com *P. racemosa*, descrevendo resultados similares aos do presente estudo. Consolaro (2008) compilou dados de herbário no cerrado brasileiro, verificando que *P. racemosa* floresce geralmente entre novembro e janeiro, e frutifica entre janeiro e março, épocas similares às do presente estudo. Silva (2008) avaliou a biologia reprodutiva da espécie em um fragmento urbano de Alta Floresta, próximo da RFA, observando florescimento entre outubro e dezembro, e frutificação entre novembro e março. A autora considerou que a floração de *P. racemosa* tem início na estação seca como uma estratégia para favorecer a polinização por insetos, entretanto, outubro é considerado o mês de início da estação chuvosa na região com base em dados históricos de 30 anos (DUBREUIL et al., 2012), com precipitação geralmente superior a 100 mm. Na população

avaliada por Silva (2008) os indivíduos de *P. racemosa* ocorreram de forma agregada, enquanto na RMS e na RFA esse padrão de distribuição não foi observado, possivelmente devido ao melhor estado de conservação dessas florestas.

**Tabela 1.** Resultados da análise estatística circular para a ocorrência de sazonalidade no início e pico das fenofases reprodutivas de *Palicourea racemosa* em duas áreas de floresta ombrófila densa no norte de Mato Grosso, Brasil. Compr. vetor médio: comprimento do vetor médio. A duração das fenofases é expressa em meses.

	RPPN Mirante da Serra				Reserva do Floresta Amazônica Hotel Resort			
	Botão	Antese	Fruto imaturo	Fruto maduro	Botão	Antese	Fruto imaturo	Fruto Maduro
<b>Início das fenofases</b>								
Observações (N)	37	37	36	12	38	30	26	14
Ângulo médio ( $\mu$ )	294,35°	322,51°	351,33°	106,12°	295,84°	324,59°	352,12°	107,23°
Data média	25/out	22/nov	22/dez	17/abr	26/out	25/nov	23/nov	18/abr
Compr. vetor médio ( $r$ )	0,99	0,99	1,00	0,94	0,93	0,93	1,00	0,98
Desvio padrão circular	8,29°	6,93°	4,82°	20,84°	21,38°	21,11°	0,00°	10,67°
Teste Rayleigh (p)	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
<b>Pico das fenofases</b>								
Observações (N)	37	37	35	13	38	30	26	14
Ângulo médio ( $\mu$ )	296,40°	324,07°	0,25°	110,59°	299,58°	324,59°	356,83°	109,26°
Data média	27/out	24/nov	31/dez	22/abr	30/out	25/nov	27/dez	20/abr
Compr. vetor médio ( $r$ )	0,98	0,99	0,97	0,90	0,92	0,93	0,99	0,97
Desvio padrão circular	10,56°	6,64°	14,86°	26,49°	23,41°	21,11°	9,33°	13,77°
Teste Rayleigh (p)	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
<b>Duração das fenofases</b>								
Média $\pm$ desvio padrão	1,82 $\pm$ 0,39	1,34 $\pm$ 0,48	4,54 $\pm$ 1,37	1,14 $\pm$ 0,36	1,81 $\pm$ 0,74	1,41 $\pm$ 0,57	4,58 $\pm$ 0,99	1,14 $\pm$ 0,36
Mínimo – máximo	1 – 2	1 – 2	1 – 7	1 – 2	1 – 4	1 – 3	2 – 6	1 – 2

Na floresta úmida de Finca La Selva, na Costa Rica, a floração de *P. racemosa* é descrita como assíncrona, ocorrendo vários eventos curtos durante o ano e os frutos maduros são ofertados por um período estendido de até 10 meses, mas com maturação rápida  $\leq 4$  meses (OPLER et al., 1980). Esse padrão difere do observado no presente estudo e em outras florestas, possivelmente devido ao clima não sazonal de La Selva. Em outras florestas úmidas na Costa Rica e Panamá, a frutificação de *P. racemosa* ocorre na mesma época observada no presente estudo, mais concentrada no final da estação chuvosa e na transição da chuvosa para a seca (e.g., LEVEY, 1988; POULIN et al., 1999). Além disso, a época de floração e frutificação de *P. racemosa* segue o padrão geral descrito para espécies arbustivas de Rubiaceae em florestas sob clima sazonal e não sazonal (e.g., POULIN et al., 1999; SAN MARTIN-GAJARDO & MORELLATO, 2003; GRESSLER, 2010; FERREIRA & CONSOLARO, 2013; LIUTH et al., 2013), em especial dos gêneros *Palicourea* e *Psychotria* (muitas dessas *Psychotria* hoje transferidas para o gênero *Palicourea* – veja BORHIDI, 2017).

O florescimento e o desenvolvimento dos frutos na estação chuvosa podem ser uma estratégia da espécie para garantir a reprodução na época de maior disponibilidade hídrica, pois durante a seca a maioria dos indivíduos de *P. racemosa* perde parte das folhas da copa tanto na RMS como na RFA (FRANCO et al., em preparação). Apesar de as duas florestas estudadas serem úmidas e com dossel predominantemente perenifólio, a estação seca da região parece exercer certa influência nas espécies do sub-bosque, como o caso de *P. racemosa*. Brando et al. (2006) verificaram que o estresse hídrico durante períodos de seca na floresta amazônica úmida do Pará pode afetar o comportamento fenológico vegetativo e reprodutivo de *Coussarea racemosa* A.Rich. (Rubiaceae), atrasando a produção de folhas novas e flores e a maturação dos frutos. Entretanto, são necessárias análises mais detalhadas para verificar a relação entre o comportamento fenológico reprodutivo de *P. racemosa* e as variáveis meteorológicas e microambientais (em especial o nível de umidade do solo ao longo do ano).

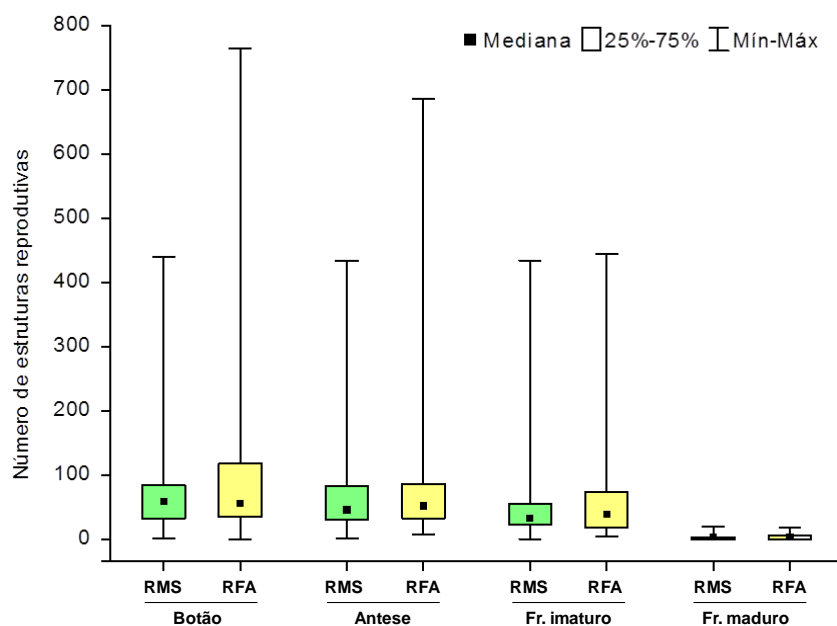
A determinação do morfo floral nos indivíduos de *P. racemosa* na RMS e RFA não foi possível devido ao estágio de maturação das flores ou ausência das mesmas nas datas das observações mensais, sendo necessárias averiguações adicionais. Apesar de não termos conseguido verificar se *P. racemosa* é homostílica ou distílica nas populações amostradas neste estudo, podemos inferir que se a espécie for distílica típica, a alta sincronia intraespecífica nas fenofases da floração verificada na RMS e RFA é importante para a manutenção da isopletia e perpetuação da espécie. Em espécies distílicas, a sincronia intraespecífica na floração é esperada para aumentar as chances de polinização cruzada entre os morfos florais (GANDERS, 1979) e,

consequentemente, aumentar o sucesso reprodutivo. Taylor & Hollowel (2016) salientaram que a distinção dos morfos florais em *P. racemosa* é muito difícil, sendo necessária uma avaliação mais criteriosa dos indivíduos no campo.

Na RMS, 15 (28,3%) indivíduos de *P. racemosa* não floresceram, 16 (30,2%) não frutificaram e um indivíduo morreu ao longo do ano de estudo, enquanto na RFA 13 (26%) não floresceram, 24 (48%) não frutificaram e dois indivíduos morreram. Em alguns indivíduos observamos ramos quebrados, os quais após o dano rebrotaram, mas não produziram estruturas reprodutivas. Também, ao longo do estudo, observamos vários eventos de herbivoria nas inflorescências e infrutescências de *P. racemosa*, principalmente na RFA, que resultaram na interrupção do ciclo reprodutivo e início da emissão de folhas novas (brotamento) em alguns indivíduos. As porcentagens de indivíduos da RMS na fenofase fruto imaturo foram maiores do que na RFA ao longo do estudo, possivelmente refletindo o efeito da herbivoria mais intenso na RFA (FRANCO et al., em preparação; Figura 2B). Entretanto, para a maioria dos indivíduos, não observamos nenhum fator diferente que possa ser associado à ausência de reprodução durante o estudo. Com base nas altas proporções de indivíduos que não se reproduziram durante o estudo, mas que portavam muitos frutos quando marcados (abril-maio/2016), podemos concluir que *P. racemosa* apresenta variação anual na produção de estruturas reprodutivas. Variações interanuais na produção de flores e frutos são comuns nas florestas tropicais, estando relacionadas principalmente com alterações nas condições climáticas e microambientais, nas características endógenas e na abundância e comportamento dos polinizadores (e.g., WHEELWRIGHT, 1986; BRANDO et al., 2006) e taxas de herbivoria (e.g., ORNELAS et al., 2004).

Em relação à produtividade durante o ano estudado, os indivíduos de *P. racemosa* que floresceram na RMS produziram em média  $3,08 \pm 2,42$  inflorescências por copa (variando de 1 a 14), e na RFA média de  $4,60 \pm 6,23$  (variando de 1 a 34). Este resultado não diferiu significativamente entre as áreas estudadas (teste de Mann-Whitney,  $Z = 0,38$ ,  $p = 0,70$ ). A quantidade máxima de estruturas reprodutivas produzidas por indivíduo durante o ano de estudo também não diferiu significativamente entre as áreas (teste de Mann-Whitney,  $p \geq 0,05$ ; Figura 3). Os valores um pouco maiores de produtividade na RFA, embora não significativos, podem ter relação com o perímetro basal maior dos indivíduos nessa área e condições microambientais não avaliadas, como a disponibilidade de luz e água no solo. Sugerimos que a reduzida quantidade de frutos maduros nos indivíduos das duas áreas estudadas (Figura 3) e as baixas porcentagens de indivíduos nessa fenofase (Figura 2B) podem ser resultado da rápida remoção de frutos maduros da copa dos indivíduos, provavelmente por animais frugívoros, como postulado por Taylor & Hollowel (2016). Espécies do gênero *Psychotria* e *Palicourea* produzem frutos carnosos pequenos comumente dispersos por aves (POULIN et al., 1999; FERREIRA & CONSOLARO, 2013). Além disso, considerando que a produção de frutos nas espécies distílicas geralmente depende de polinização intermorfo (GANDERS, 1979), e que o sucesso reprodutivo é afetado pelo dimorfismo floral e proporção equilibrada entre os morfos da população (e.g., SOBREVILA et al., 1983; PEREIRA et al., 2006; KOCH et al., 2010; SILVA et al., 2010), há necessidade de estudos mais detalhados sobre a biologia floral de *P. racemosa* e de espécies do gênero *Palicourea* em geral, para o qual têm sido relatados mais casos de homostilia em Rubiaceae (SÁ, 2013).

As similaridades verificadas entre as áreas estudadas quanto à época e duração das fenofases e à quantidade de estruturas reprodutivas produzidas por copa em *P. racemosa* podem estar relacionadas com as características ambientais relativamente similares entre as áreas demarcadas para o estudo dentro da RMS e da RFA. As duas áreas apresentam a mesma altitude e características similares da vegetação do dossel e sub-bosque nos locais onde os indivíduos de *P. racemosa* foram encontrados e marcados. Entretanto, é necessária a avaliação de dados microambientais, como a luminosidade e disponibilidade de água/nutrientes no solo para confirmar esta hipótese.



**Figura 3.** Comparação da produção máxima anual de estruturas reprodutivas por indivíduo de *Palicourea racemosa* no período de estudo (junho/2016 a maio/2017), entre a RPPN Mirante da Serra (RMS) e a Reserva do Floresta Amazônica Hotel Resort (RFA), norte do Mato Grosso, Brasil. Foram considerados na análise somente os indivíduos que floresceram e/ou frutificaram durante o estudo. Valores do teste de Mann-Whitney comparativo entre as duas áreas: botão ( $Z = -0,29$ ;  $p = 0,77$ ), antese ( $Z = -0,44$ ;  $p = 0,66$ ), fruto imaturo ( $Z = -0,10$ ;  $p = 0,92$ ) e fruto maduro ( $Z = -0,46$ ;  $p = 0,65$ ).

#### 4. CONCLUSÕES

No sul da Amazônia, *Palicourea racemosa* apresentou comportamento fenológico reprodutivo anual e sazonal, com alta sincronia intraespecífica e concentrado na estação chuvosa. A época de floração e frutificação de *P. racemosa* na RMS e na RFA é similar à verificada para a espécie em outras áreas florestais da América do Sul e Central. As duas áreas de floresta ombrófila densa estudadas não diferiram quanto à época e duração das fenofases e quantidade de estruturas reprodutivas produzidas nos indivíduos. A similaridade fenológica encontrada entre as duas populações de *P. racemosa* pode estar relacionada com as características ambientais relativamente similares entre as áreas florestais amostradas.

#### 5. AGRADECIMENTOS

Agradecemos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Mato Grosso (FAPEMAT) pelo apoio financeiro, à Carla P. Bruniera e Daniela C. Zappi pela determinação da espécie; à Fundação Ecológica do Cristalino (FEC) pela permissão de pesquisa e suporte logístico nas duas áreas de estudo. O estudo é parte da Dissertação de Mestrado da primeira autora.

#### REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- BARBOSA, M.R.; ZAPPI, D.; TAYLOR, C.; CABRAL, E.; JARDIM, J.G.; PEREIRA, M.S.; CALIÓ, M.F.; PESSOA, M.C.R.; SALAS, R.; SOUZA, E.B.; DI MAIO, F.R.; MACIAS, L.; ANUNCIAÇÃO, E.A.; GERMANO FILHO, P.; OLIVEIRA, J.A.; BRUNIERA, C.P.; GOMES, M.; DE TONI, K.; FIRENS, M. **Rubiaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. 2015. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB210>>. Acesso em: 01 de Nov. 2017.
- BERGAMASCHI, H. O clima como fator determinante da fenologia das plantas. In: **Fenologia: Ferramenta para conservação, melhoramento e manejo de recursos vegetais arbóreos** (G.M. Rego.; R.R.B. Negrelle; L.P.C. Morellato). Colombo: Embrapa Florestas, 2007, p.291-310.
- BFG. Growing knowledge: an overview of Seed Plant diversity in Brazil. **Rodriguésia**, v.66, n.4, p.1085-1113, 2015. DOI: 10.1590/2175-7860201566411
- BORHIDI, A.L. La circunscipión de *Palicourea* subgen. *Heteropsychotria* (Rubiaceae, Palicoureeae). **Acta Botanica Hungarica**, v.59, n.1-2, p.25-61, 2017. DOI: 10.1556/034.59.2017.1-2.4
- BRANDO, P.; RAY, D.; NEPSTAD, D.; CARDINOT, G.; CURRAN, L.M.; OLIVEIRA, R. Effects of partial throughfall exclusion on the phenology of *Coussarea racemosa* (Rubiaceae) in an east-central Amazon rainforest. **Oecologia**, v.150, p.181-189, 2006. DOI: 10.1007/s00442-006-0507-z



- BREMER, B.; ERIKSSON, O. Evolution of fruit characters and dispersal modes in the tropical family Rubiaceae. **Biological Journal of the Linnean Society**, v.47, p.79-95, 1992. DOI: dx.doi.org/10.1111/j.1095-8312.1992.tb00657.x
- BUZATO, S.; SAZIMA, M.; SAZIMA, I. Hummingbird pollinated floras at three Atlantic forest sites. **Biotropica**, v.32, p.824-841, 2000. DOI: 10.1111/j.1744-7429.2000.tb00621.x
- CASTRO C.C.; OLIVEIRA P.E. Pollination biology of distylous Rubiaceae from Atlantic rainforest, SE Brazil. **Plant Biology**, v.5, p.640-646, 2002. DOI: 10.1055/s-2002-35433
- CONSOLARO, H.N. **A distília em espécies de Rubiaceae do Bioma Cerrado**. Brasília-DF: Universidade de Brasília, 2008. 96p. Tese de Doutorado (Doutorado em Ecologia), Universidade de Brasília, 2008.
- DELPRETE, P.G.; CORTÉS-B, R. A synopsis of the Rubiaceae of the States of Mato Grosso and Mato Grosso do Sul, Brazil, with a key to genera, and a preliminary species list. **Revista de Biologia Neotropical**, v.3, n.1, p.13-96, 2006. DOI: 10.5216/rbn.v3i1.2813
- DELPRETE, P.G.; JARDIM, J.G. Systematics, taxonomy and floristics of Brazilian Rubiaceae: an overview about the current status and future challenges. **Rodriguésia**, v.63, n.1, p.101-128, 2012. DOI: 10.1590/S2175-78602012000100009
- DUBREUIL, V.; DEBORTOLI, N.; FUNATSU, B.; DURIEUX, L. Impact of land-cover change in the Southern Amazonia climate: a case study for the region of Alta Floresta, Mato Grosso, Brazil. **Environmental Monitoring and Assessment**, v.184, n.2, p.877-891, 2012. DOI: 10.1007/s10661-011-2006-x.
- FARIA, R.R.; ARAÚJO, A.A. Flowering phenology and floral visitors in distylous populations of *Psychotria carthagenensis* (Rubiaceae) in Brazilian Cerrado. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v.101, n.4, p.636-647, 2016. DOI: 10.3417/2013019
- FENNER, M. The phenology of growth and reproduction in plants. **Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics**, v.1, p.78-91, 1998. DOI: 10.1078/1433-8319-00053
- FERREIRA, M.C.; CONSOLARO, H.N. Fenologia e síndromes de polinização e dispersão de espécies de sub-bosque em um remanescente florestal urbano no Brasil Central. **Bioscience Journal**, v.29, n.1, p.1708-1720, 2013.
- GANDERS, F.R. The biology of heterostyly. **New Zealand Journal of Botany**, v.17, n.4, p.607-635, 1979. DOI: 10.1080/0028825X.1979.10432574
- GENTRY, A.H.; EMMONS, L.H. Geographical variation in fertility, phenology and composition of the understory of neotropical forests. **Biotropica**, v.19, n.3, p.216-227, 1987. DOI: 10.2307/2388339
- GRESSLER, E. **Fenologia de espécies de floresta atlântica, Núcleo Picinguaba, Parque Estadual da Serra do Mar, Estado de São Paulo: comparação entre estratos e influência de borda natural**. Rio Claro-SP: Universidade Estadual Paulista, 2010. 262 p. Tese de Doutorado (Doutorado em Biologia Vegetal), Universidade Estadual Paulista, 2010.
- KOCH, A.K.; SILVA, P.C.; SILVA, C.A. Biologia reprodutiva de *Psychotria carthagenensis* (Rubiaceae), espécie distílica de fragmento florestal de mata ciliar, centro-oeste do Brasil. **Rodriguésia**, v.61, n.3, p.551-558, 2010. DOI: 10.1007/s00606-011-0571-7.
- KOVACH, W.L. **Oriana for Windows – version 2.02**. Kovach Computer Services, Wales, U.K, 2004.
- LIETH, H. Purposes of a phenology book. In: **Phenology and seasonality modeling**. Ecological Studies (Analysis and Synthesis) (H. Lieth, ed.). Berlin: Springer-Verlag, 1974, v.8, p.3-19. DOI: 10.1007/978-3-642-51863-8\_1
- LEVEY, D.J. Spatial and temporal variation in Costa Rican fruit and fruit-eating bird abundance. **Ecological Monographs**, v.58, n.4, p.251-269, 1988. DOI: 10.2307/1942539
- LIUTH, H.S.; TALORA, D.C.; AMORIM, A.M. Phenological synchrony and seasonality of understory Rubiaceae in the Atlantic Forest, Bahia, Brazil. **Acta Botanica Brasilica**, v.27, n.1, p.195-204, 2013. DOI: 10.1590/S0102-33062013000100019.
- MARTÉN-RODRÍGUEZ, S.; MUÑOZ-GAMBOA, P.; DELGADO-DÁVILA, R.; QUESADA, M. Asymmetric pollen transfer and reproductive success of the hawkmoth pollinated distylous tree *Palicourea tetragona* (Rubiaceae) at La Selva, Costa Rica. **Journal of Tropical Ecology**, v.29, n.6, p.501-510, 2013. DOI: 10.1017/S0266467413000588
- MORELLATO, L.P.C.; ALBERTI, L.F.; HUDSON, I.L. Applications of circular statistics in plant phenology: a case studies approach. In: **Phenological Research: Methods for environmental and climate change analysis** (I.L. Hudson & M.R. Keatley; eds.). Springer Netherlands, 2010, p.333-353. DOI: 10.1007/978-90-481-3335-2\_16
- MORELLATO, L.P.C.; ALBERTON, B.; ALVARADO, S.T.; BORGES, B.; BUISSON, E.; CAMARGO, M.G.G.; CANCIAN, L.F.; CARSTENSEN, D.W.; ESCOBAR, D.F.E.; LEITE, P.T.P.; MENDOZA, I.; ROCHA, N.M.W.B.; SOARES, N.C.; SILVA, T.S.F.; STAGGEMEIER, V.G.; STREHER, A.S.; VARGAS, B.C.; PERES, C.A. Linking plant phenology to conservation biology. **Biological Conservation**, v.195, p.60-72, 2016. DOI: 10.1016/j.biocon.2015.12.033
- MORELLATO, L.P.C.; CAMARGO, M.G.G.; GRESSLER, E. A review of plant phenology in South and Central America. In: **Phenology: an integrative environmental science** (M.D. Schwartz; ed.). Dordrecht: Springer, p.91-113. DOI: 10.1007/978-94-007-6925-0\_6
- MORELLATO, L.P.C.; TALORA, D.C.; TAKAHASI, A.; BENCKE, C.C.; ROMERA, E.C.; ZIPPARRO, V.B. Phenology of Atlantic rain forest trees – a comparative study. **Biotropica**, v.32, n.4B, p.811-823, 2000. DOI: 10.1111/j.1744-7429.2000.tb00620.x
- OPLER, P.A.; FRANKIE, G.W.; BAKER, H.G. Comparative phenological studies of treelet and shrub species in tropical wet and dry forests in the lowlands of Costa Rica. **Journal of Ecology**, v.68, p.167-188, 1980. DOI: 10.2307/2258961

- ORNELAS, J.F.; GONZÁLEZ, C.; JIMÉNEZ, L.; LARA, C.; MARTÍNEZ, A.J. Reproductive ecology of distylous *Palicourea padifolia* (Rubiaceae) in a tropical montane cloud forest. II. Attracting and rewarding mutualistic and antagonistic visitors. **American Journal of Botany**, v.91, n.7, p.1061-1069, 2004. DOI: 10.3732/ajb.91.7.1061
- PEEL, M.C.; FINLAYSON, B.L.; MCMAHON, T.A. Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. **Hydrology and Earth System Sciences**, v.11, p.1633-1644, 2007. DOI: 10.5194/hess-11-1633-2007.
- PEREIRA, Z.V.; VIEIRA, M.F.; CARVALHO-OKANO, R.M. Fenologia da floração, morfologia floral e sistema de incompatibilidade em espécies distílicas de Rubiaceae em fragmento florestal do Sudeste brasileiro. *Revista Brasileira de Botânica*, v.29, n.3, p.471-480, 2006. DOI: 10.1590/S0100-84042006000300014
- POULIN, B.; WRIGHT, S.J.; LEFEBVRE, G.; CALDERÓN, O. Interspecific synchrony and asynchrony in the fruiting phenologies of congeneric bird-dispersed plants in Panama. **Journal of Tropical Ecology**, v.15, p.213-227, 1999. DOI: 10.1017/S0266467499000760
- RAMALHO, M.; KLEINERT-GIOVANNINI, A.; IMPERATRIZ-FONSECA, V.L. Important bee plants for stingless bees (*Melipona* and *Trigonini*) and Africanized honeybees (*Apis mellifera*) in neotropical habitats: a review. **Apidologie**, v.21, p.469-488, 1990. DOI: dx.doi.org/10.1051/apido:19900508
- RODRIGUES, E.B.; CONSOLARO, H. Atypical distyly in *Psychotria goyazensis* Mull. Arg. (Rubiaceae), an intramorph self-compatible species. **Acta Botanica Brasilica**, v.27, n.1, p.155-161, 2013. DOI: 10.1590/S0102-33062013000100016
- SÁ, T.F.F. **Sistema distílico e biologia reprodutiva de cinco espécies de *Psychotria* L. (Rubiaceae) em dois fragmentos do sudeste Goiano**. Goiânia: Universidade Federal de Goiás, 2013. 51p. Dissertação de Mestrado (Biodiversidade Vegetal), Universidade Federal de Goiás, 2013.
- SAKAI, S.; MOMOSE, K.; YUMOTO, T.; NAGAMITSU, T.; NAGAMASU, H.; HAMID, A.A.; NAKASHIZUKA, T. Plant reproductive phenology over four years including an episode of general flowering in a lowland Dipterocarp forest, Sarawak, Malaysia. **American Journal of Botany**, v.86, p.1414-1436, 1999.
- SAKAI, S.; WRIGHT, J. Reproductive ecology of 21 coexisting *Psychotria* species (Rubiaceae): when is heterostyly lost? **Biological Journal of the Linnean Society**, v.93, p.125-134, 2008. DOI: 10.1111/j.1095-8312.2007.00890.x.
- SAN MARTIN-GAJARDO, I.; MORELLATO, L.P.C. Fenologia de Rubiaceae do sub-bosque em floresta atlântica no sudeste do Brasil. *Revista Brasileira de Botânica*, v.26, n.3, p.299-309, 2003. DOI: 10.1590/S0100-84042003000300003.
- SANTOS, O.A.; WEBBER, A.C.; COSTA, F.R.C. Biologia reprodutiva de *Psychotria spectabilis* Steyrm. e *Palicooura* cf. *virens* (Poepp & Endl.) Standl. (Rubiaceae) em uma floresta tropical úmida na região de Manaus, AM, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v.22, n.1, p.275-285, 2008. DOI: 10.1590/S0102-33062008000100025
- SASAKI, D.; ZAPPI, D.; MILLIKEN, W.; HENICKA, G.S.; PIVA, J.H. **Vegetação e plantas do Cristalino – um manual**. Alta Floresta, Mato Grosso: Royal Botanic Gardens, Kew, Fundação Ecológica Cristalino, 2010, 128 p.
- SILVA, C.A.; VIEIRA, M.F.; AMARAL, C.H. Floral attributes, ornithophily and reproductive success of *Palicourea longepedunculata* (Rubiaceae), a distylous shrub in southeastern Brazil. **Revista Brasileira de Botânica**, v.33, n.2, p. 207-213, 2010. DOI: 10.1590/S0100-84042010000200002.
- SILVA, C.A.; VIEIRA, M.F.; CARVALHO-OKANO, R.M.; OLIVEIRA, L.O. Reproductive success and genetic diversity of *Psychotria hastisepala* (Rubiaceae), in fragmented Atlantic forest, Southeastern Brazil. **Revista de Biologia Tropical**, v.62, n.1, p.309-319, 2014. DOI: 10.1590/S0100-67622013000200010
- SILVA, E.M.S. **Fenologia reprodutiva, biologia floral e morfologia de frutos e sementes de *Psychotria racemosa* Rich (Rubiaceae) em fragmento florestal na área urbana do município de Alta Floresta**. Alta Floresta: Universidade do Estado de Mato Grosso, 2008. Trabalho de Conclusão de Curso (Ciências Biológicas), Universidade do Estado de Mato Grosso, 2008.
- SOBREVILA C.; RAMIREZ N.; ENRECH N.X. Reproductive biology of *Palicourea fendleri* and *Palicourea petiolaris* (Rubiaceae), heterostylous shrubs of a tropical cloud forest in Venezuela. **Biotropica**, v.15, n.3, p.161-169, 1983. DOI: 10.2307/2387824.
- TAYLOR, C.M.; HOLLOWELL, V.C. Rubiacearum Americanarum Magna Hama Pars XXXV: The new group *Palicourea* sect. *Nonatelia*, with five new species (Palicooureae). **Novon**, v.25, p.69-110, 2016. DOI: 10.3417/2015012.
- VAREJÃO-SILVA, M.A. **Meteorologia e Climatologia – Versão Digital 2**. Recife, 2006, 449 p. Disponível em: [http://www.icat.ufal.br/laboratorio/clima/data/uploads/pdf/METEOROLOGIA\\_E\\_CLIMATOLOGIA\\_VD2\\_Mar\\_2006.pdf](http://www.icat.ufal.br/laboratorio/clima/data/uploads/pdf/METEOROLOGIA_E_CLIMATOLOGIA_VD2_Mar_2006.pdf)
- WHEELWRIGHT, N.T. A seven-year study of individual variation in fruit production in tropical bird-dispersed tree species in the family Lauraceae. In: **Frugivores and seed dispersal** (A. Estrada & T.H. Fleming; eds.). Dordrecht: Springer, 1986, p.19-35. DOI: 10.1007/978-94-009-4812-9\_3
- ZAPPI, D.C.; SASAKI, D.; MILLIKEN, W.; PIVA, J.; HENICKA, G.S.; BIGGS, N.; FRISBY, S. Plantas vasculares da região do Parque Estadual Cristalino, norte de Mato Grosso, Brasil. **Acta Amazonica** v.41, n.1, p.29-38, 2011. DOI: 10.1590/S0044-59672011000100004
- ZAR, J.H. **Biostatistical analysis**. Upper Saddle River, New Jersey: Prentice-Hall., 1996, 662p.

**3.4. Fenologia de espécies subarbustivas de *Palicourea* (Rubiaceae) em floresta ombrófila densa na Amazônia, norte de Mato Grosso<sup>4</sup>**

<sup>4</sup>Artigo a ser submetido para o periódico Brazilian Journal of Botany.

## Resumo

Espécies do gênero *Palicourea* Aubl. (Rubiaceae) são comuns no sub-bosque de florestas úmidas neotropicais, e diversos estudos têm investigado sua biologia reprodutiva, polinizadores e padrões fenológicos. No domínio amazônico brasileiro, entretanto, ainda faltam informações sobre a fenologia e ecologia geral dessas espécies e isso nos motivou a avaliar a fenologia de três espécies arbustivas de *Palicourea*: *P. deflexa* (DC.) Borhidi, *P. prunifolia* (H.B.K.) Borhidi e *P. racemosa* (Aubl.) Borhidi em duas áreas de floresta ombrófila densa no norte do estado de Mato Grosso, Brasil. Ao todo, acompanhamos 158 indivíduos mensalmente de junho/2016 a maio/2017, sendo avaliadas as fenofases vegetativas (folhas novas, adultas e senescentes) e reprodutivas (botões, flores, frutos imaturos e maduros). As três espécies estudadas apresentaram padrão perenifólio, mantendo folhas nas copas dos indivíduos durante todo o ano, com número de folhas jovens e senescentes significativamente maior na estação chuvosa e tendência de aumento no número de folhas adultas na mesma estação. A proporção de folhas danificadas por copa também foi maior ou apresentou tendência de aumento na estação chuvosa em todas as populações. A intensidade do dano foliar variou significativamente entre as populações (sendo maior em *P. deflexa*) e afetou a produtividade em *P. deflexa* e *P. racemosa*. Nas fenofases reprodutivas, as três espécies apresentaram padrões anuais e sazonais, com alta sincronia intra e interespecífica, iniciando o ciclo reprodutivo na estação chuvosa e estendendo o desenvolvimento dos frutos até o início da estação seca. As fenofases da floração foram mais influenciadas pelo aumento da temperatura e fotoperíodo, e as da frutificação pelo aumento na precipitação e fotoperíodo. O comportamento fenológico vegetativo e reprodutivo das espécies estudadas foi similar ao descrito para a maioria das espécies de *Palicourea* e *Psychotria* L. observadas em florestas úmidas tanto na América do Sul como Central, indicando possível efeito de componente filogenético na determinação da fenologia desses gêneros.

## Abstract

Species of the genus *Palicourea* Aubl. (Rubiaceae) are common in the understory of neotropical rainforests, and several studies have investigated their reproductive biology, pollinators, and phenological patterns. In the Brazilian Amazon region, however, there is still a lack of information about the phenology and general ecology of these species. This fact motivated us to evaluate the phenology of three sub-shrub species of *Palicourea*: *P. deflexa* (DC.) Borhidi, *P. prunifolia* (HBK) Borhidi e *P. racemosa* (Aubl.) Borhidi in two rainforest areas in Northern Mato Grosso State, Brazil. In total, were monitored 158 individuals monthly from June/2016 to May/2017, evaluating vegetative (new, adult and senescent leaves) and reproductive phenophases (flower bud, anthesis, immature and

mature fruit). The three studied species showed evergreen pattern, maintaining leaves in the individual crowns throughout the year, with a significant number of new and senescent leaves in the rainy season and tendency of increased number of adult leaves in the same season. The proportion of damaged leaves per crown was also higher or showed tendency of increase in the rainy season in all the populations. The intensity of leaf damage varied significantly among populations (being higher in *P. deflexa*) and affected productivity of *P. deflexa* and *P. racemosa*. Concerning reproductive phenophases, the three species showed annual and seasonal patterns, with high intra and interspecific synchrony, and onset of the reproductive cycle in the rainy season, extending fruit development period until the beginning of the dry season. Flowering phenophases were more influenced by the increase of temperature and photoperiod, and fruiting phenophases by the increase in rainfall and photoperiod. The vegetative and reproductive phenological behavior of the studied species was similar to that described for most of the *Palicourea* and *Psychotria* L. species observed in rainforests both in South and Central America, suggesting a possible phylogenetic effect on the phenology of these genera.

## **Introdução**

Rubiaceae é a quarta maior família entre as Angiospermas, apresentando distribuição cosmopolita e compreendendo 611 gêneros divididos em cerca de 13.150 espécies (Davis et al. 2009; Stevens 2017). Na região tropical, a família é um importante componente da vegetação, possuindo alta representatividade nos diferentes estratos vegetacionais (de ervas a grandes árvores), tanto em abundância como diversidade (Gentry & Emmons 1987; Delprete & Jardim 2012). Além disso, as flores das Rubiaceae são importantes fontes de pólen e/ou néctar para insetos (principalmente abelhas) e beija-flores (e.g., Ramalho et al. 1990; Pinheiro et al. 2008; Rocca & Sazima 2010; Araújo et al. 2013), bem como seus frutos são muito procurados por animais frugívoros, em especial as aves (e.g., Loiselle & Blake 1990; Bremer & Eriksson 1992; Almeida et al. 2006; Dew & Boubli 2006; Boyle & Brostein 2012). Na flora brasileira é uma das principais famílias, representada por 1.381 espécies nativas, distribuídas em todos os domínios fitogeográficos, predominantemente na Amazônia (728 spp, com alto número de espécies endêmicas), na Mata Atlântica (571) e no Cerrado (397) (BFG 2015; Flora do Brasil 2020).

Na região neotropical, a reconhecida importância de Rubiaceae na vegetação motivou inúmeros estudos ecológicos com seus representantes, embora com maior ênfase em espécies de pequeno porte (ervas, arbustos e arvoretas) e aspectos da polinização e biologia reprodutiva (e.g., Contreras & Ornelas 1999; Valladares et al. 2000; Castro & Oliveira 2002; Melo et al. 2003; Ramos

& Santos 2006; Sakai & Wright 2008; Machado et al. 2010; Silva & Vieira 2013; Theim et al. 2014; Silva & Segura 2015; Dodonov et al. 2016; Matias et al. 2016). A fenologia, que avalia a relação entre o comportamento das plantas e os fatores bióticos e abióticos (Sakai 2001; Morellato et al. 2016) foi mais investigada em Rubiaceae nas fases reprodutivas e no nível de população (e.g., Sobrevila et al. 1983; Wright 1991; Almeida & Alves 2000; Coelho & Barbosa 2004; Lopes & Buzato 2005; Ramos & Santos 2005; Pereira et al. 2006; Santos et al. 2008; Consolaro et al. 2011; Boyle & Bronstein 2012; Cobra et al. 2015; Silva & Vieira 2015; Faria & Araújo 2016; Massi et al. 2017). Porém, poucos estudos foram direcionados aos padrões fenológicos da família abrangendo um grande número de espécies simpátricas (e.g., Poulin et al. 1999; San Martin-Gajardo & Morellato 2003a,b; Gressler 2010; Liuth et al. 2013), o que pode contribuir para o entendimento das respostas de plantas sob condições ambientais similares.

No Brasil, a maioria dos estudos fenológicos com Rubiaceae foi desenvolvida em áreas de floresta atlântica e cerrado da região Sudeste, mas pouco se sabe sobre o comportamento das espécies na Amazônia, domínio que concentra a maior diversidade da família. Tanto na Mata Atlântica como no Cerrado, as Rubiaceae florescem predominantemente na estação úmida e frutificam na seca (e.g., Consolaro 2008, Gressler, 2010; San-Martin-Gajardo & Morellato 2003a; Liuth et al. 2013), sendo que a maior parte das espécies investigadas pertencente ao sub-bosque. No domínio amazônico, a fenologia das Rubiaceae tem sido tratada quase que exclusivamente para árvores em estudos de comunidade, mas poucos desses estudos apresentaram análises fenológicas no nível populacional (e.g., Alencar et al. 1990; Bentos et al. 2008; Muniz 2008; Stevenson et al. 2008). As Rubiaceae amazônicas florescem geralmente na transição da estação seca para a chuvosa, mas sem padrão definido de ocorrência da frutificação (e.g., Muniz 2008; Santos et al. 2008; Stevenson et al. 2008).

Dentre os fatores que podem afetar o comportamento fenológico das Rubiaceae neotropicais, os mais estudados são as variáveis climáticas, as mudanças ambientais (e.g., presença de bordas) e o sistema reprodutivo. O aumento do fotoperíodo é considerado um fator climático importante para a sincronização da floração de muitas espécies da família (e.g., San-Martin Gajardo & Morellato 2003a; Liuth et al. 2013), mas a precipitação e a temperatura também podem influenciar tanto as fenofases vegetativas como reprodutivas. Além disso, alguns estudos verificaram que as alterações ambientais que ocorrem nas bordas florestais naturais e antrópicas podem afetar a época, intensidade e duração das fenofases de espécies arbustivas (e.g., Ramos & Santos 2005; Gressler 2010).

O sistema reprodutivo distílico é comum em Rubiaceae (Ganders 1979), em especial em espécies de *Psychotria* L. e *Palicourea* Aubl., ocorrendo indivíduos com diferentes morfos florais (brevistilo e longistilo) na mesma população. Em geral, tem sido relatada pouca ou nenhuma diferença no padrão fenológico entre os morfos florais, embora em alguns casos a produção de estruturas reprodutivas possa ser maior em um dos morfos, geralmente o morfo brevistilo (e.g.,

Sobrevila et al. 1983; Contreras & Ornelas 1999; Castro & Oliveira 2002; Coelho & Barbosa 2004; Gressler 2010; Martén-Rodríguez et al. 2013; Silva & Vieira 2015; Faria & Araújo 2016).

O papel da proximidade filogenética entre espécies na ocorrência das fenofases de Rubiaceae apresenta resultados conflitantes na literatura, sendo relatado nenhum efeito (San Martín-Gajardo 2003b; Boyle & Bronstein 2012) ou efeito mais pronunciado em espécies congêneres, nas fenofases da floração (Wright & Calderón 1995; Liuth et al. 2013) ou da frutificação (Wright 1991; Poulin et al. 1999). A época e intensidade do dano por herbívoros também podem afetar a fenologia das espécies (Aide 1993; Williams-Linera & Herrera 2003; Ornelas et al. 2004; Lemoine et al. 2017), causando, por exemplo, atraso das fenofases (e.g., Lemoine et al. 2017) e/ou redução na produtividade (e.g., Hochwender et al. 2003; Poveda et al. 2005).

O gênero *Psychotria* é o mais estudado quanto à fenologia e também o maior de Rubiaceae, entretanto, recentemente muitas das espécies neotropicais classificadas no subgênero *Heteropsychotria* têm sido reconhecidas como pertencentes ao gênero *Palicourea*, com base em caracteres morfológicos e moleculares (Borhidi 2011; Taylor & Hollowell 2016; Borhidi 2017; Taylor 2017). Atualmente é estimado que o gênero *Palicourea* inclua cerca de 600 espécies, todas ocorrentes na região neotropical e a maioria arbustiva, sendo diferenciadas de *Psychotria* principalmente por apresentar estípulas persistentes, frutos maduros azuis, roxo escuros ou brancos e pirênios com fendas pré-formadas de germinação (Taylor 2017). É comum espécies brasileiras desses gêneros apresentarem padrões sazonais de floração e frutificação, e alta sincronia intraespecífica na floração (e.g. Ramos & Santos 2005; Santos et al. 2008; Liuth et al. 2013).

A Amazônia meridional, que abrange o estado de Rondônia, extremo sul do Amazonas, leste do Acre, sudeste do Pará e norte do Mato Grosso é uma região de grande riqueza biológica ainda pouco estudada, e que necessita medidas urgentes de preservação e conservação (Delprete & Cortés-B 2006; Zappi et al. 2011). O norte do Mato Grosso, em especial, compõe parte do chamado “arco do desmatamento”, apresentando intensa devastação das áreas de vegetação nativa. Nesse sentido, a pesquisa fenológica pode contribuir para avaliar, gerenciar e mitigar os impactos do uso excessivo da terra, além de auxiliar na prevenção dos efeitos causados pelas mudanças climáticas globais nos ecossistemas (Morellato et al. 2016). É necessário conhecer as respostas ecológicas das espécies para que possam ser elaboradas estratégias adequadas para sua preservação e o estudo fenológico é uma importante ferramenta a ser utilizada. Na América do Sul, apenas uma pequena porcentagem das espécies e tipos de vegetação foi avaliada em estudos fenológicos, sendo necessária e importante a condução de mais pesquisas dessa natureza (Morellato et al. 2013).

Neste contexto, o objetivo deste estudo foi avaliar a fenologia vegetativa e reprodutiva de populações de três espécies de *Palicourea* ocorrentes no sub-bosque de florestas úmidas no norte do estado do Mato Grosso, buscando responder às seguintes questões principais: 1) Como varia o

comportamento fenológico e a produtividade ao longo do ano e entre as espécies? e 2) Qual a relação das fenofases com as estações do ano e variáveis climáticas? 3) A intensidade do dano foliar afeta a produção de folhas e estruturas reprodutivas? Esperamos que as três espécies de *Palicourea* apresentem comportamento fenológico sazonal, com floração na estação chuvosa ou transição da estação seca para a chuvosa e frutificação na estação seca, com alta sincronia intraespecífica. Também esperamos que o dano foliar tenha efeito negativo na produção de estruturas reprodutivas (devido à redução da área fotossintética) e positivo na produção de folhas novas (para compensar a perda de área foliar com a herbivoria).

## Material e Métodos

**Espécies estudadas** –Três espécies subarbustivas do gênero *Palicourea* (Rubiaceae) foram avaliadas neste estudo: *P. deflexa* (DC.) Borhidi, *P. prunifolia* (H.B.K.) Borhidi e *Palicourea racemosa* (Aubl.) Borhidi. Possuem flores de cor branca ou creme, arrançadas em inflorescências terminais paniculadas em *P. deflexa* e *P. racemosa* (Fig. 1 e 2) ou capitadas circundadas por brácteas em *P. prunifolia* (Fig. 3). Os frutos imaturos de *P. racemosa* variam de verdes a alaranjados, enquanto nas outras duas espécies apresentam cor verde escura. Os frutos maduros são carnosos, de cor preta em *P. racemosa*, *P. prunifolia*, e branca de consistência esponjosa em *P. deflexa* (Fig. 1, 2 e 3).

Quanto ao sistema reprodutivo, dependendo da população avaliada, *P. racemosa* é referida como espécie homostílica (e.g., Sakai & Wright 2008, em floresta úmida no Panamá; Silva et al. 2017, em fragmento de floresta úmida no sul da Amazônia Brasileira) ou distílica (Consolaro 2008, no cerrado). As outras duas espécies estudadas são reconhecidas como distílicas (Consolaro 2008; Sakai & Wright 2008; Matias et al. 2016).

**Áreas de estudo** –Nosso estudo foi realizado em duas áreas de floresta ombrófila densa no norte do estado de Mato Grosso, Brasil: a Reserva Particular do Patrimônio Natural (RPPN) Mirante da Serra (RMS) e a Reserva do Floresta Amazônica Hotel Resort (RFA) (Fig. 4). A RMS é uma das quatro unidades das RPPN's Cristalino, que estão localizadas nos municípios de Alta Floresta e Novo Mundo e abrangem um total de 7.000 hectares de vegetação com pouca perturbação antrópica. ARMS possui cerca de 1.616 hectares, e a área selecionada para nosso estudo tem altitude entre 250-300m (09°35'12"S, 55°55'21"W – 09°35'11"S, 55°55'11"W, Novo Mundo), e floresta com dossel contínuo de 20-30m de altura e sub-bosque denso, sem risco de inundações na estação chuvosa (Fig. 4; Sasaki et al. 2010). Uma das espécies estudadas, *P. prunifolia*, ocorre em um trecho de floresta ombrófila densa margeado por floresta estacional decidual (Sasaki et al. 2010). Segundo Zappi et al. (2011),



Fabaceae e Rubiaceae são as famílias mais diversas da região do Cristalino, sendo que um terço das espécies de Rubiaceae pertence aos gêneros *Psychotria* e *Palicourea*.

A RFA, localizada no centro urbano de Alta Floresta, possui área de 50 hectares, sendo a maior parte de cobertura florestal com baixa perturbação antrópica e diversas trilhas. Na área selecionada dentro da RFA (09°52'44"S, 56°05'57"W – 09°52'49"S, 56°06'11"W, altitude de 300 m), a floresta é composta por um dossel de 20-30 m de altura, rico em árvores da família Fabaceae e sub-bosque dominado por espécies de Rubiaceae, Piperaceae, Annonaceae e Acanthaceae (Fig. 4; E Gressler, obs. pessoal).

Na latitude 9° o fotoperíodo varia de 11,6 horas/dia em junho a 12,7 horas/dia em dezembro (Varejão-Silva 2006; Fig. 5). O clima da região de Alta Floresta e Novo Mundo é classificado como Aw (Peel et al. 2007), com estação seca definida de maio a setembro, temperatura média anual entre 26 e 27°C e precipitação média anual de 2.232 mm (período de 1979-2009; Dubreuil et al. 2012). Na estação chuvosa ocorre de 80-90% da precipitação anual, com maior volume de chuvas entre novembro e fevereiro, enquanto na estação seca a precipitação mensal geralmente é inferior a 50 mm e ocorrem as maiores temperaturas do ano (dados de 2013-2016). No período de estudo (junho/2016 a maio/2017), a temperatura média foi de 25,9°C e precipitação total anual de 2.098mm (Fig. 5). Estes valores são similares ao período de 2013-2016 (temperatura média anual de 25,9°C e precipitação total anual média de 2.112 mm) e também ao clima médio de 30 anos da região do estudo. Os dados meteorológicos utilizados neste estudo foram coletados na Estação Meteorológica na Universidade do Estado do Mato Grosso – UNEMAT, município de Alta Floresta, distante 3,5 km da RFA e cerca de 35 km da RMS.

**Coleta de dados** – Os indivíduos das três espécies estudadas foram marcados entre abril-maio/2016, sendo que *P. racemosa* e *P. deflexa* foram encontradas nas duas áreas de estudo. Entretanto, como o N amostral de *P. deflexa* foi muito baixo na RMS (três indivíduos), essa espécie foi estudada somente na RFA (Tabela 1). Percorremos trilhas pré-existentes nas duas áreas e as utilizamos como referência para a busca de indivíduos, mas poucos foram marcados próximos das mesmas. Inicialmente marcamos 177 indivíduos, dos quais 19 (nove na RFA e 10 na RMS) morreram ou sofreram danos significativos na copa logo no início das observações fenológicas, sendo excluídos das análises deste estudo. Assim, nosso estudo compreende 158 indivíduos (74 na RFA e 84 na RMS), nos quais foram medidos o perímetro basal do caule (cm), a 5 centímetros do solo, e a altura da copa (m).

Também buscamos determinar o morfo floral em cada indivíduo amostrado, mas na maior parte dos mesmos não foi possível realizar essa verificação devido ao estágio de desenvolvimento ou ausência das flores nas observações mensais. Em *P. racemosa* não observamos distinção entre os

morfos florais (populações homostíficas nas duas áreas de estudo), já *P. prunifolia* apresentou cinco indivíduos longistilos, dois brevistilos e 24 indeterminados (população distílica) e *P. deflexa* apresentou 14 indivíduos longistilos e 10 indeterminados (população possivelmente monomórfica).

Realizamos o acompanhamento fenológico mensal de junho/2016 a maio/2017, utilizando como critério de avaliação a contagem total das estruturas reprodutivas (inflorescências, botões florais, flores, frutos imaturos e maduros) e folhas (jovens, adultas e velhas/senescentes) na copa dos indivíduos. Em cada indivíduo também quantificamos o número de folhas danificadas (por herbívoros e outros fatores desconhecidos), considerando dois critérios: perda de tecido < 50% da área foliar e perda ≥ 50%. Em *P. prunifolia* avaliamos a fenologia vegetativa (brotamento e queda foliar) utilizando o critério de presença/ausência da fenofase, não sendo realizada a contagem de nenhuma classe de folhas.

**Análise dos dados** – Analisamos as fenofases vegetativas (folhas jovens, adultas e senescentes) considerando a média mensal individual para as populações de *Palicourea deflexa* (RFA) e *P. racemosa* (RFA e RMS). Também calculamos a porcentagem mensal de folhas danificadas (com dano leve, severo e total: leve + severo) por copa em cada uma destas populações. Como nossos dados não apresentaram normalidade e homogeneidade de variâncias (testes de Shapiro-Wilk e Bartlett, respectivamente), aplicamos testes estatísticos não paramétricos. Testamos o efeito da estação na quantidade de folhas novas, adultas, senescentes e danificadas por copa comparando os valores médios dos cinco meses da estação seca com os valores médios dos sete meses da estação chuvosa por meio do teste de Wilcoxon. Utilizamos o teste não paramétrico de Mann-Whitney para comparar as três populações quanto ao valor máximo mensal de folhas (jovens, adultas e senescentes) por copa. O mesmo teste foi utilizado para comparar as populações quanto à proporção média anual de folhas danificadas (dano leve + severo) e de folhas com dano severo por copa. Em *P. prunifolia* analisamos as fenofases brotamento e queda foliar com o índice de atividade (Bencke & Morellato 2002), que considera a porcentagem de indivíduos em cada fenofase a cada mês.

Avaliamos o comportamento fenológico reprodutivo para as espécies (*P. deflexa*, *P. prunifolia* e *P. racemosa*) e não para as populações separadamente. Os dados reprodutivos de *P. racemosa* da RFA e RMS foram apresentados agrupados no presente estudo pois Franco et al. (no prelo) verificaram que a fenologia reprodutiva da espécie não difere entre as áreas estudadas. Para a avaliação do padrão de produtividade ao longo do ano, calculamos a quantidade média mensal de estruturas reprodutivas por copa em cada espécie, considerando apenas os indivíduos reprodutivos. Aplicamos o teste de Kruskal-Wallis para comparar as três espécies quanto ao número de inflorescências produzidas no ano, e o teste de Mann-Whitney quanto ao número máximo mensal de botões, flores, frutos imaturos e maduros por copa. Para cada indivíduo calculamos o mês de início e

pico das fenofases reprodutivas, representando o primeiro mês de ocorrência da fenofase e o mês com maior quantidade de estruturas por copa, respectivamente. A duração de cada fenofase foi definida como o intervalo de meses entre o início e término da fenofase, sendo comparada entre as três espécies com o teste de Mann-Whitney.

Analisamos a sazonalidade e sincronia das fenofases reprodutivas das três espécies de *Palicourea* utilizando a estatística circular (Zar 1996; Morellato et al. 2000, 2010) no programa Oriana 2.02, (Kovach 2004). Para estes testes, convertemos os meses de início e pico das fenofases dos indivíduos em ângulos, de 1° (dia 01 de janeiro) a 360° (dia 31 de dezembro), em que os 360° correspondem aos 365 dias do ano. O ângulo médio ( $\mu$ ) corresponde à data média ou época do ano com a maior ocorrência de indivíduos nas fenofases, e sua significância foi testada com o teste de Rayleigh. O comprimento do vetor médio  $r$  (que varia de 0 a 1), pode ser utilizado como uma medida de sincronia intraespecífica, indicando atividade fenológica concentrada ao redor de uma data ou época do ano. Aplicamos o teste de Watson-Williams (F) para comparar a data média de início e pico das fenofases entre as espécies.

Analisamos a relação entre as variáveis climáticas mensais (precipitação, fotoperíodo, temperatura mínima, média e máxima) e o comportamento fenológico reprodutivo (porcentagem de indivíduos nas fenofases em cada mês) utilizando modelos lineares generalizados (GLM) no ambiente R versão 3.4.2 (pacotes Vegan, Packfor e Lsmeans; R Core Team 2017). Realizamos os testes com as variáveis climáticas de até três meses anteriores ao mês de ocorrência do evento fenológico considerando o possível atraso da resposta fenológica ao estímulo ambiental (Marques et al. 2004). Cada fenofase foi testada separadamente e utilizamos o procedimento *stepwise* para selecionar o melhor modelo de acordo com o menor valor no critério de informação de Akaike “AIC” (Akaike 1974).

Por fim, avaliamos a relação entre a herbivoria foliar (proporção de folhas com dano severo e danificadas total – dano leve + severo) e a produção de estruturas reprodutivas e folhas novas por copa usando a correlação de Spearman. Nesse teste correlacionamos a média de botões de outubro a novembro (pico da fenofase nas três espécies) e o número máximo de frutos (imaturos e maduros) produzidos no ano com a proporção média de folhas danificadas dos meses precedentes aos eventos fenológicos. No caso das folhas novas, correlacionamos a média anual de folhas novas com a proporção média anual de folhas danificadas.

## Resultados

**Fenologia vegetativa**– Do total de 158 indivíduos de *Palicourea* observados neste estudo, nove (5,70%) morreram ao longo do ano avaliado, devido a causas naturais desconhecidas ou em

alguns casos devido à queda de outras plantas sobre os indivíduos (Tabela 1). A população de *P. deflexa* apresentou os indivíduos de maior tamanho (perímetro basal e altura) comparado com as outras populações estudadas (Tabela 1). As três espécies (*P. deflexa*, *P. prunifolia* e *P. racemosa*) apresentaram padrão perenifólio, mantendo folhas novas, adultas e/ou senescentes nas copas dos indivíduos durante todo o ano; somente alguns indivíduos de *P. deflexa* e *P. racemosa* ficaram totalmente desfolhados por 1-2 meses (geralmente novembro-dezembro) devido ao ataque de herbívoros ou quebra dos ramos. Posteriormente, a copa desses indivíduos foi recomposta com a produção de folhas novas.

Nas três populações avaliadas quantitativamente (*P. deflexa* e *P. racemosa* na RFA e *P. racemosa* na RMS), o número de folhas jovens e senescentes por copa foi significativamente maior na estação chuvosa, comparado com a estação seca (Fig. 6, Tabela 2). Em geral, a maior quantidade de folhas jovens foi verificada entre setembro e outubro, na transição da estação seca para a chuvosa, e a menor entre maio e agosto (Fig. 6). O número de folhas adultas apresentou uma tendência de aumento durante a estação chuvosa, mas a diferença entre estações foi significativa somente para a população de *P. racemosa* na RMS (Fig. 6, Tabela 2). Entre agosto e setembro, na transição entre a estação seca e chuvosa, observamos a menor quantidade de folhas adultas em todas as populações, mas sem pico evidente de folhas senescentes (Fig. 6). A duração do período com folhas jovens, adultas e senescentes não diferiu entre a maioria das populações (Tabelas 1 e 3). O número máximo mensal de folhas jovens, adultas e senescentes por copa foi significativamente maior em *P. deflexa* comparado com as populações de *P. racemosa* da RFA e RMS, as quais não diferiram entre si (Tabelas 1 e 3).

Ao longo do estudo observamos a presença de lagartas e formigas nas folhas de indivíduos de *P. racemosa* e *P. deflexa*, as quais podem ser responsáveis pelos danos observados nas folhas dessas espécies. A proporção de folhas danificadas por copa foi significativamente maior ou apresentou tendência de aumento na estação chuvosa nas três populações de *Palicourea* (Fig. 6, Tabela 2). Entretanto, quando considerado o grau de dano foliar leve, somente um resultado foi significativo, indicando maior proporção de folhas com dano na estação chuvosa para *P. racemosa* na RMS, e tendência de aumento nessa estação nas outras duas populações (Fig. 6, Tabela 2). Nas três populações a proporção de folhas com dano severo foi maior na transição da estação chuvosa para a seca, entre abril e maio (Fig. 6), e talvez por este motivo a comparação entre a estação seca e chuvosa não apresentou diferenças estatisticamente significativas (Tabela 2).

A população de *P. deflexa* apresentou proporção média anual de folhas danificadas total (dano leve + severo) significativamente maior que as populações de *P. racemosa* na RFA ( $Z = -3,74$  e  $p < 0,001$ ) e RMS ( $Z = 2,02$  e  $p = 0,043$ ). Considerando a mesma variável, também constatamos diferença significativa entre as populações de *P. racemosa* na RFA e RMS, sendo os valores maiores

na RMS ( $Z = -3,04$  e  $p = p = 0,002$ ). Quanto ao dano severo, não encontramos diferença significativa entre as populações avaliadas ( $p > 0,05$ ).

Em *P. prunifolia*, o comportamento vegetativo foi similar nas três populações avaliadas quantitativamente, com maiores porcentagens de indivíduos em brotamento na transição da estação seca para a chuvosa, e com queda foliar mais pronunciada na estação seca (Fig. 6). Em agosto, todos os indivíduos de *P. prunifolia* apresentaram folhas amareladas e murchas e perda de folhas nas copas (Fig. 6). Em junho e julho/2016, no local em que a população de *P. prunifolia* foi amostrada, observamos marcas de pisoteio por animais e danos extensos na extremidade dos ramos da maioria dos indivíduos dessa espécie, possivelmente causados por porcos do mato.

**Fenologia reprodutiva** –Durante o ano estudado, a maioria dos 158 indivíduos acompanhados nas três espécies de *Palicourea* floresceu (80,4%) e frutificou (73,4%). Em *P. prunifolia* todos os indivíduos se reproduziram e em *P. deflexa* somente três (12,5%) indivíduos não floresceram e dois (8,3%) não frutificaram. A espécie *P. racemosa* apresentou o maior número de indivíduos não reprodutivos durante o estudo, chegando a 27,2% dos indivíduos sem botões/flores e 38,8% sem frutos. As três espécies apresentaram padrões sazonais na reprodução, com alta sincronia intraespecífica, iniciando o ciclo reprodutivo na estação chuvosa e estendendo o desenvolvimento dos frutos até o início da estação seca (Fig. 7, Tabela 4).

As maiores porcentagens de indivíduos em botão e antese, as maiores quantidades mensais e as datas médias de início e pico dessas fenofases ocorreram entre outubro e dezembro nas três espécies de *Palicourea* (Fig. 7, Fig. 8, Tabela 4), sendo que *P. prunifolia* iniciou o ciclo reprodutivo um mês depois das outras duas espécies. As fenofases da floração apresentaram duração relativamente curta, em geral de um a dois meses (Tabela 1), e *P. deflexa* apresentou duração significativamente maior do que as outras duas espécies (Tabela 3). Na comparação das datas médias de início e pico de botão e antese, somente não diferiram o início de botão e antese entre *P. deflexa* e *P. racemosa*, e o pico de antese entre *P. deflexa* e *P. prunifolia* (Tabela 4).

Nas três espécies, a fenofase botão apresentou relação significativa positiva com a temperatura média e/ou máxima de três meses anteriores, mas também verificamos relação positiva entre o número de indivíduos em botão de *P. prunifolia* e *P. deflexa* e a precipitação e fotoperíodo do mês do evento fenológico, respectivamente (Tabela 5). A fenofase antese, nas três espécies, apresentou relação significativa com as variáveis climáticas do mês de ocorrência desta fenofase, com maior florescimento relacionado com maior fotoperíodo e menor temperatura (Tabela 5). O teste de Kruskal-Wallis apontou diferença significativa entre as espécies na quantidade de inflorescências por copa no ano, sendo que *P. prunifolia* apresentou os maiores valores, seguida por *P. deflexa* e *P. racemosa* ( $H = 41,55$ ,  $p < 0,001$ ; Tabela 1). A copa dos indivíduos de *P. prunifolia* é bastante ramificada, com

inflorescências pequenas em cada extremidade (Fig. 3), o que pode ter contribuído para este resultado. Quanto ao número máximo mensal de botões e flores por copa, *P. deflexa* apresentou valores significativamente maiores que *P. prunifolia*, mas as outras comparações entre espécies não apresentaram diferença (Tabela 3).

A frutificação foi o evento fenológico de maior duração nas três espécies, chegando a oito meses em alguns indivíduos de *P. deflexa*, que apresentou duração significativamente maior de fruto imaturo e maduro que *P. prunifolia* e *P. racemosa* (Tabelas 1 e 3, Fig. 7). Em *P. deflexa* a produção de frutos imaturos iniciou em novembro (um mês antes das outras espécies), com pico em janeiro, duas semanas depois de *P. racemosa* e duas semanas antes de *P. prunifolia* (Tabela 4). Entre abril e junho, no final da estação chuvosa e início da estação seca, ocorreram as maiores porcentagens de indivíduos e o pico de frutos maduros nas espécies (Fig. 7, Fig. 8, Tabela 4).

Nas três espécies, a fenofase fruto imaturo apresentou relação negativa com a temperatura média e/ou máxima do mesmo mês e positiva com o fotoperíodo de 2-3 meses anteriores; em *P. racemosa* e *P. prunifolia* também ocorreu relação positiva com a precipitação de 1-3 meses (Tabela 5). Fruto maduro foi a fenofase mais relacionada com as variáveis climáticas, com diferentes resultados para as espécies, mas um resultado em comum mostrando que quanto maior a precipitação de 1-3 meses anteriores, maior a quantidade de indivíduos com frutos maduros (Tabela 5). *Palicourea deflexa* apresentou número máximo mensal significativamente maior de frutos imaturos que as outras espécies e de frutos maduros maior que *P. racemosa* e sem diferença de *P. prunifolia* (Tabelas 1 e 3).

A reprodução das três espécies coincidiu com o período de floração (outubro a dezembro) e frutificação (novembro a junho) de diversas espécies de *Palicourea* coletadas na RMS, RFA e outras áreas da região durante o estudo, como *P. alba* (Aubl.) Delpr. et J.H.Kirkbr., *P. amplectens* (Benth.) Delpr. et J.H.Kirkbr., *P. bracteocardia* (DC.) Delpr. et J.H.Kirkbr., *P. colorata* (Willd. ex Roem. et Schult.) Borhidi, *P. guianensis* Aubl., *P. hoffmannseggiana* (Willd. ex Roem et Schult.) Borhidi, *P. aff. macrobotrys* (Ruiz & Pav.) Schult., *P. nitidella* (Müll.Arg.) Standl., *P. ownbeyi* (Standl. ex C.M. Taylor) C.M. Taylor, *P. platypoda* (DC.) Borhidi e *P. rosea* (Benth.) Borhidi. Com exceção de *P. nitidella*, que ocorre em uma savana amazônica distante das áreas de estudo, todas as espécies citadas ocorrem na RMS, e *P. alba* e *P. aff. macrobotrys* em ambas as áreas do presente estudo.

**Herbivoria foliar e produtividade** – Em *P. deflexa* o número de frutos por copa foi significativamente menor em indivíduos com maior proporção de folhas com dano severo ( $r = -0,44$ ,  $p = 0,046$ ), mas não verificamos relação significativa entre o dano foliar e a produção de botões. Na população de *P. racemosa* na RFA não encontramos nenhuma relação significativa entre dano foliar e produtividade, enquanto na população dessa espécie na RMS somente uma correlação foi

significativa, apontando que plantas com maior proporção de folhas com dano severo produziram valores maiores de folhas novas por copa ( $r = 0,28$ ,  $p = 0,040$ ).

## Discussão

**Fenologia vegetativa e dano foliar** –As três espécies de *Palicourea* estudadas apresentaram padrão perenifólio, mantendo folhas nas copas durante todo o ano, com pronunciada produção de folhas novas no início da estação chuvosa, padrão similar ao observado para espécies arbustivas de *Palicourea* e *Psychotria* em floresta atlântica (Almeida & Alves 2000; San Martin-Gajardo & Morellato 2003a) e em florestas úmidas do Panamá (Wright 1991; Aide 1993). A estação chuvosa também foi o período do ano com quantidade significativamente maior de folhas senescentes na copa, principalmente na segunda metade dessa estação, culminando com a perda mais intensa de folhas (adultas e senescentes) durante a estação seca. Embora com período mais intenso de renovação foliar durante a estação chuvosa, observamos indivíduos com folhas jovens e/ou senescentes durante todo o ano, mostrando um padrão contínuo dessas fenofases, o que também foi observado para espécies de *Palicourea* e *Psychotria* em diversas florestas úmidas neotropicais (e.g., Opler et al. 1980; Koptur et al. 1988; San Martin-Gajardo & Morellato 2003a). Em vegetação de campina no Amazonas, entretanto, Alencar et al. (1990) observaram folhas senescentes de *Palicourea* cf. *coriacea* e *Pagamea duckei* (Rubiaceae) durante todo o ano, mas em maior quantidade na estação seca, o que pode ser devido a essa vegetação ser mais aberta do que as florestas úmidas mencionadas.

Nas duas áreas estudadas, assim como na maior parte da região amazônica, ocorre uma estação seca definida, a qual reconhecidamente afeta os padrões fenológicos vegetativos e reprodutivos, o desenvolvimento e a sobrevivência das plantas em florestas tropicais (e.g., Poorter & Oliver 2000; Bergamaschi 2007). A queda de folhas é considerada a resposta mais significativa das plantas aos períodos secos, sendo comum maior perda de folhas nessa estação, como verificado por Haugaasen & Peres (2005) para espécies arbóreas em floresta de terra firme no Amazonas. As folhas acumuladas na serrapilheira devido à pronunciada queda foliar na estação seca começam a se decompor com o início das chuvas, e este processo, segundo Morellato (1992), disponibilizaria mais nutrientes para as plantas, possivelmente estimulando o início da produção de folhas novas e estruturas reprodutivas nessa época. A investigação da época de produção de folhas e abscisão foliar é importante, pois estes são estágios chave para a ocorrência da floração e frutificação (Hawes & Peres 2016). Além disso, em florestas úmidas perenifólias como as florestas estudadas na RFA e RMS, as espécies do sub-bosque comumente vivenciam menor variação anual na irradiação e apresentam pico de brotamento

coincidente com a época em que o fotoperíodo começa a aumentar (e.g., Opler et al. 1980; Koptur et al. 1988; San Martin-Gajardo & Morellato 2003a).

A população de *P. deflexa* apresentou indivíduos de maior tamanho (perímetro basal e altura) e maior número de folhas comparada com as populações de *P. racemosa*, o que pode ser reflexo da fisiologia da espécie. Segundo Moutinho-Pereira (2000), cada folha, dependendo do grau de diferenciação ou da espécie em questão, tem a capacidade de reagir a alterações no seu habitat de modo a manter a eficácia fotossintética e hídrica. Portanto, é indispensável que indivíduos de maior porte apresentem também maior quantidade de folhas, para assim suprir as suas necessidades metabólicas.

Durante nosso estudo observamos maior quantidade de folhas danificadas na estação chuvosa em duas das três populações avaliadas, sendo este padrão descrito para florestas tropicais (e.g., Aide 1993; van Schaik et al. 1993). Nestas florestas, os insetos herbívoros são mais abundantes na estação chuvosa (e.g., Janzen 1973; Wolda 1978; van Schaik et al. 1993), o que pode explicar o maior dano nas folhas das espécies de *Palicourea* nessa estação. Aide (1993) sugeriu que o efeito combinado da maior pressão de herbívoros na estação chuvosa e o déficit hídrico durante a estação seca pode levar à produção foliar sincrônica no início da estação chuvosa, pois níveis mais elevados de herbivoria foram observados em folhas produzidas fora da época de pico.

Por outro lado, Angulo-Sandoval & Aide (2000) observaram níveis de herbivoria constantes ao longo do ano em espécies de floresta úmida subtropical de Porto Rico (incluindo uma espécie de *Palicourea*), e sugeriram que isso poderia minimizar o impacto seletivo de herbívoros na fenologia foliar. Este pode ser o caso da população de *P. racemosa* (RFA), em que os níveis de dano foliar foram constantes ao longo do ano e não observamos relação entre o grau de herbivoria e a produção de folhas novas. Além disso, a população de *P. racemosa* na RFA (floresta mais perturbada) apresentou proporção significativamente menor de folhas danificadas por copa em comparação com a da RMS, diferindo da literatura. Dodonov et al. (2016) demonstraram que florestas com grau de perturbação maior, como a RFA, geralmente apresentam maiores taxas de herbivoria em espécies de Rubiaceae. A produção de folhas novas em *P. racemosa* (RMS) apresentou relação significativa positiva com a proporção de dano foliar, corroborando nossa expectativa inicial de que plantas mais atacadas intensificam a renovação foliar. Já a população de *P. deflexa* apresentou as maiores proporções de folhas danificadas por copa durante nosso estudo, embora tenha sido relatado elevado nível de taninos e outros metabólitos secundários de defesa de herbívoros nessa espécie (Silva 2015).

Alguns estudos demonstraram que a produção de estruturas reprodutivas pode ser afetada negativamente pelo ataque de herbívoros foliares e que o efeito dos danos pode ser observado muitos meses ou até anos depois do ataque (e.g., Angulo-Sandoval & Aide 2000; Ornelas et al. 2004). Em nosso estudo somente verificamos efeito do dano foliar na produção de frutos de *P. deflexa*, que foi



reduzida nas plantas mais atacadas. Entretanto, é importante salientar que as estruturas reprodutivas das *Palicourea* aqui estudadas foram expostas à frugivoria, predação de sementes e doenças, e estes fatores, aliados com as diferenças no tamanho das copas dos indivíduos, podem ter contribuído para as escassas relações significativas entre o dano foliar e a produtividade. Além disso, a intensidade do ataque de herbívoros pode variar extremamente entre indivíduos, populações e anos (Williams-Linera & Herrera 2003), muitas vezes como resultado da luminosidade diferenciada na copa das plantas (Moura et al. 2017). Assim, a variação na intensidade da herbivoria foliar entre as populações de *Palicourea* aqui estudadas pode estar relacionada com características fisiológicas das plantas e, também, com as características ambientais e flutuações locais nas populações de herbívoros devido à disponibilidade de alimentos e densidade de predadores, necessitando de investigações adicionais nesse sentido.

A alta mortalidade de indivíduos observada em nosso estudo, em especial *P. racemosa*, está relacionada principalmente com eventos naturais da floresta, como a queda de galhos em cima dos indivíduos e passagem de animais. A queda de galhos e outras partes pesadas de árvores é a maior causa de mortalidade de espécies no sub-bosque de florestas úmidas (Chazdon 1986; Sharp 1993).

**Fenologia reprodutiva** –A floração das três espécies de *Palicourea* foi anual e, seguindo a classificação de Newstrom et al. (2004), *P. deflexa* e *P. racemosa* podem ser classificadas como anuais intermediárias (floração entre 1-5 meses) e *P. prunifolia* como anual curta, com duração de um mês. As espécies produziram botões e flores na estação chuvosa, com padrão sazonal e alta sincronia intra e interespecífica, consistindo na mesma época observada para a floração da maioria das espécies de *Palicourea* e *Psychotria* observadas em florestas úmidas tanto na América do Sul como na América Central (e.g., Hilty 1980; Opler et al 1980; Koptur et al. 1988; San Martin-Gajardo & Morellato 2003a; Pereira et al. 2006; Ferreira & Consolaro 2013; Liuth et al. 2013; Silva & Vieira 2015; Franco et al. no prelo). Em florestas neotropicais úmidas é comum observar menos espécies de Rubiaceae com flores nos meses de menor temperatura e pluviosidade (e.g. Opler et al. 1980; Koptur et al. 1988; San Martin-Gajardo & Morellato 2003; Gressler 2010).

Nas três espécies de *Palicourea* deste estudo, as temperaturas mais altas no meio da estação seca influenciaram a ocorrência da fenofase botão, enquanto a antese foi afetada por variáveis climáticas mais próximas, do mês de ocorrência, como menores temperaturas máximas e maior fotoperíodo. O papel do fotoperíodo no estímulo da floração é bem conhecido para as Rubiaceae (San Martin-Gajardo & Morellato 2003a; Liuth et al. 2013). A radiação solar é também mencionada como o principal fator climático que afeta a fenologia de plantas em florestas de terra firme na região amazônica (Bradley et al. 2011). Além dos fatores abióticos, caracteres genéticos das plantas e

interações com os polinizadores, dispersores e predadores de sementes estão relacionados com o período de floração (Costa et al. 1997).

A relação significativa entre o aumento na produção de frutos imaturos e maduros de *P. deflexa*, *P. prunifolia* e *P. racemosa* e a precipitação de meses anteriores à ocorrência dos eventos fenológicos, demonstra a importância da disponibilidade de água para o desenvolvimento dos frutos. Hugaasen & Peres (2005) também verificaram relação entre a frutificação e a precipitação em árvores da região amazônica, com características ambientais similares ao nosso estudo. A frutificação iniciando logo na primeira metade da estação chuvosa tem sido interpretada como uma estratégia para ajustar a dispersão das sementes para preceder o momento ótimo para a germinação (no final da estação chuvosa ou transição chuvosa-seca) e minimizar a mortalidade das plântulas durante a estação seca subsequente (Van Schaik et al. 1993). Além disso, o extenso período de frutificação observado nas espécies ao longo da estação chuvosa, principalmente em *P. deflexa*, pode garantir a água necessária para o desenvolvimento dos frutos.

A frutificação iniciando na estação chuvosa, com duração longa de frutos imaturos e curta de frutos maduros (dispersos no final da estação chuvosa ou transição chuvosa-seca) é comumente observada em Rubiaceae arbustivas na região neotropical (e.g., Opler et al. 1980; Hilty 1980; Almeida & Alves 2000; Ferreira & Consolaro 2013; Franco et al. no prelo). Krebs (1994) sugere que as Angiospermas, conquistaram a capacidade de defender os seus frutos de danos causados por herbívoros, diminuindo o tempo de exposição dos frutos maduros, permanecendo com frutos imaturos por vários meses, amadurecendo aos poucos (Howe & Smallwood 1982).

O período reprodutivo agregado das espécies de *Palicourea* estudadas e a coincidência com a época reprodutiva de outras espécies do mesmo gênero tanto nas mesmas áreas de estudo como em outras florestas indica possível influência da filogenia nos padrões fenológicos, como sugerido por outros estudos com Rubiaceae (e.g., Wright 1991; Poulin et al. 1999; Liuth et al. 2013). Isso é reforçado pelas poucas diferenças nos padrões fenológicos entre a RMS e RFA verificadas por Franco et al. (no prelo) para *P. racemosa*. A frutificação sincrônica pode ser importante para a dispersão de sementes já que espécies de *Psychotria* (atualmente muitas transferidas para o gênero *Palicourea*), geralmente apresentam baixo número de frutos maduros por planta (e.g., Poulin et al. 1999). De fato, observamos baixa quantidade de frutos maduros a cada mês nas espécies estudadas, o que também pode ser resultado da rápida remoção por animais frugívoros associada ao intervalo mensal de observação de nossa metodologia.

Nosso estudo mostra que espécies de *Palicourea* ocorrentes em floresta ombrófila no norte de Mato Grosso apresentam padrões fenológicos anuais e sazonais, com alta sincronia intra e interespecífica. O ciclo reprodutivo e a renovação foliar concentrados na estação chuvosa são comumente observados em espécies do gênero nas florestas úmidas, indicando possível efeito da

filogenia no comportamento fenológico. As variáveis climáticas influenciam significativamente a fenologia das *Palicourea* estudadas, sendo o fotoperíodo o fator mais importante. Nosso estudo é pioneiro no Brasil na avaliação do efeito do dano foliar na fenologia de Rubiaceae, e verificamos que a intensidade do dano difere entre as populações e influencia a produção de folhas e estruturas reprodutivas em algumas dessas populações. Diante da alta diversidade vegetal e da escassez de estudos fenológicos na região amazônica, a condução de mais pesquisas dessa natureza é essencial para o conhecimento da biologia das espécies amazônicas, visando à preservação e conservação das florestas em que ocorrem.

## Agradecimentos

Agradecemos à Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e Fundação de Amparo à Pesquisa do Mato Grosso (FAPEMAT) pelo apoio financeiro, à Carla P. Bruniera e Daniela C. Zappi pela determinação das espécies; à Fundação Ecológica do Cristalino (FEC) pela permissão de pesquisa e suporte logístico nas duas áreas de estudo.

## Referências

- Akaike HA (1974) New look at the statistical model identification. IEEE Trans. Autom. Control. 19(6):716-723. doi:10.1109/TAC.1974.1100705
- Aide TM (1993) Patterns of leaf development and herbivory in a tropical understory community. Ecology 74:455–466.
- Alencar JC (1990) Interpretação fenológica de espécies lenhosas de Campina na Reserva Biológica de Campina do INPA ao Norte de Manaus. Acta Amaz.20:145-183. doi:10.1590/1809-43921990201183
- Almeida EM de, Alves MAS (2000) Fenologia de *Psychotria nuda* e *P. brasiliensis* (Rubiaceae) em uma área de floresta atlântica no sudeste do Brasil. Acta Bot. Bras. 14(3):335-346. doi:10.1590/S0102-33062000000300010
- Almeida EM, Costa PF, Buckeridge MS, Alves MAS (2006) Potential bird dispersers of *Psychotria* in an area of Atlantic forest on Ilha Grande, RJ, Southeastern Brazil: a biochemical analysis of the fruits. Braz. J. Biol. 66(1a):11-08. doi:10.1590/S1519-69842006000100002
- Angulo-Sandoval P, Aide M (2000) Leaf phenology and leaf damage of saplings in the Luquilo Experimental Forest, Puerto Rico. Biotropica32(3):415-422. doi:10.1646/0006-3606(2000)032[0415:LPALDO]2.0.CO;2
- Araújo FP, Sazima M, Oliveira PE(2013) The assembly of plants used as nectar sources by hummingbirds in a Cerrado area of Central Brazil. Pl. Syst. Evol. 299:1119-1133. doi:10.1007/s00606-013-0783-0

- Bentos TV, Mesquita RCG, Williamson GB (2008) Reproductive phenology of central Amazon pioneer trees. *Trop. Conserv. Sci.*1(3):163-306. doi: 10.1177/194008290800100303
- Bergamaschi H (2007) O clima como fator determinante da fenologia das plantas. In: Rego GM, Negrelle RRB, Morellato LPC Fenologia: Ferramenta para conservação, melhoramento e manejo de recursos vegetais arbóreos. Colombo: Embrapa Florestas, pp 291-310
- BFG (2015) Growing knowledge: an overview of seed plant diversity in Brazil. *Rodriguésia* 66(4):1085–1113. doi:10.1590/2175-7860201566411
- Borhidi, A (2011) Transfer of the Mexican species of *Psychotria* subgen. *Heteropsychotria* to *Palicourea* based on morphological and molecular evidences. *Acta Bot. Hung.* 53(3–4):241–250. doi:10.1556/ABot.53.2011.3-4.4
- Borhidi AL (2017) La circunscrición de *Palicourea* subgen. *Heteropsychotria* (Rubiaceae, Palicoureae). *Acta Bot. Hung.* 59(1–2):25–61. doi:10.1556/034.59.2017.1-2.4
- Boyle WA, Bronstein JL (2012) Phenology of tropical understory trees: patterns and correlates. *Rev. Biol. Trop.*60(4):1415-1430. doi:10.15517/rbt.v60i4.2050
- Bradley AV, Gerard FF, Barbier N, Weedons GP, Anderson LO, Huntingford C, Aragão LEOC, Zelazowski P, Arai E (2011) Relationships between phenology, radiation and precipitation in the Amazon region. *Glob. Change Biol.* 17:2245-2260. doi:10.1111/j.1365-2486.2011.02405.x
- Bencke CSC, Morellato LPC (2002) Estudo comparativo da fenologia de nove espécies arbóreas em três tipos de floresta atlântica no sudeste do Brasil. *Rev. Bras. Bot.* 25:237-248. doi:10.1590/S0100-84042002000300003
- Bremer B, Eriksson O (1992) Evolution of fruit characters and dispersal modes in the tropical family Rubiaceae. *Biol. J. Linn. Soc.*47:79-95. doi:10.1111/j.1095-8312.1992.tb00657.x
- Castro CC, Oliveira PE (2002) Pollination biology of distylous Rubiaceae in the Atlantic Rain Forest, SE Brazil. *Plant Biol.* 4:640-646
- Chazdon RL (1986) The costs of leaf support in understory palms: economy versus safety. *Am. Nat.* 127:9–30. doi:10.1086/284464
- Cobra SSO, Nascimento F, Antoniazzi AS, Krause W, Silva CA (2015) Biologia reprodutiva de *Cordia macrophylla* (K. Schum.) Kuntze (Rubiaceae), espécie dióica da região sudoeste do Estado de Mato Grosso, Brasil. *Ver. Ceres* (62(6):516-523. doi:10.1590/0034-737X201562060002
- Coelho CP, Barbosa AAA (2004) Biologia reprodutiva de *Psychotria poeppigiana* Mull. Arg. (Rubiaceae) em mata de galeria. *Acta bot. bras.* 18(3):481-489. doi:10.1590/S0102-33062004000300008
- Consolaro HN (2008) A distília em espécies de Rubiaceae do Bioma Cerrado. PhD Thesis, Universidade de Brasília, Brasília.
- Consolaro H, Silva SCS, Oliveira PE (2011) Breakdown of distyly and pin-monomorphism in *Psychotria carthagenensis* Jacq. (Rubiaceae). *Plant Spec. Biol.* 26:24-32. doi:10.1111/j.1442-1984.2010.00300.x
- Contreras PS, Ornelas JF (1999) Reproductive conflicts of *Palicourea padifolia* (Rubiaceae) a distylous shrub of a tropical cloud forest in Mexico. *Pl. Syst. Evol.*219:225-241. doi:10.1007/BF00985581

- Costa ML, Andrade ACS, Pereira TS (1997) Fenologia de espécies arbóreas em floresta montana na Reserva Ecológica de Macaé de Cima. In Serra de Macaé de Cima: diversidade florística e conservação em Mata Atlântica (Lima HC, Guedes-Bruni RR eds.). Jardim Botânico, Rio de Janeiro p.167-186
- Davis A, Govaerts R, Bridson DM, Ruhsam M, Moat J, Brummitt NA (2009) A global assessment of distribution, diversity, endemism and taxonomic effort in Rubiaceae. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 96:68–78. doi:10.3417/2006205
- Delprete PG, Cortés-B R (2006) A synopsis of the Rubiaceae of the States of Mato Grosso and Mato Grosso do Sul, Brazil, with a key to genera, and a preliminary species list. *Rev. Biol. Neotrop.* 3(1):13–96
- Delprete PG, Jardim JG (2012) Systematics, taxonomy and floristics of Brazilian Rubiaceae: an overview about the current status and future challenges. *Rodriguésia* 63(1):101–128. doi:10.1590/S2175-78602012000100009
- Dew JL, Boubli JF (2006) *Tropical Fruits and Frugivores - The Search for Strong Interactors*. Dordrecht, The Netherlands
- Dodonov P, Morante-Filho JC, Mariano-Neto, Cazetta E, Andrade ER, Rocha-Santos L, Inforzato I, Gomes FS, Faria D (2016) Forest loss increases insect herbivory levels in human-altered landscapes. *Acta Oecol.* 77:136-143. doi:10.1016/j.actao.2016.10.003
- Dubreuil V, Debortoli N, Funatsu B, Durieux L (2012) Impact of land-cover change in the Southern Amazonia climate: a case study for the region of Alta Floresta, Mato Grosso, Brazil. *Environ. Monit. Assess.* 184(2):877–891. doi:10.1007/s10661-011-2006-x
- Faria RR, Araújo AA (2016) Flowering phenology and floral visitors in distylous populations of *Psychotria carthagenensis* (Rubiaceae) in Brazilian Cerrado. *Ann. Missouri Bot. Gard.* 101(4):636-647. doi:10.3417/2013019
- Ferreira, MC, Consolaro H (2013) Fenologia e síndrome de polinização e dispersão de espécies de sub-bosque em um remanescente florestal urbano no Brasil central. *Biosci. J.* 29:1708-1720
- Flora do Brasil (2020) (em construção) Rubiaceae. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/>. Accessed 24 January 2018
- Franco AA, Gressler E, Müller AO, Silva IV (no prelo) Fenologia reprodutiva de *Palicourea racemosa* no sub-bosque de floresta úmida no sul da Amazônia, Brasil. RCAA.
- Ganders FR (1979) The biology of heterostyly. *New Zealand Journal of Botany* 17(4):607-635. doi:10.1080/0028825X.1979.10432574
- Gentry AH, Emmons LH (1987) Geographical variation in fertility, phenology and composition of the understory of neotropical forests. *Biotropica* 19(3):216-227. doi:10.2307/2388339
- Gressler E (2010) Fenologia de espécies de floresta atlântica, Núcleo Picinguaba, Parque Estadual da Serra do Mar, Estado de São Paulo: comparação entre estratos e influência de borda natural. Tese, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro SP.
- Haugaasen T, Peres CA (2005) Tree phenology in adjacent Amazonian flooded and unflooded forests. *Biotropica* 37:620-630. doi:10.1111/j.1744-7429.2005.00079.x

- Hawes JE, Peres CA (2016) Patterns of plant phenology in Amazonian seasonally flooded and unflooded forests. *Biotropica* 48(4): 465–475. doi: 10.1111/btp.12315
- Hilty SL (1980) Flowering and fruiting periodicity in a premontane rain forest in Pacific Colombia. *Biotropica* 12(4): 298-306.
- Hochwender CG, Sork VL, Marquis RJ (2003) Fitness consequences of herbivory on *Quercus alba*. *Am. Midl. Nat.* 150:246-253. doi:10.1674/0003-0031(2003)150[0246:FCOHOQ]2.0.CO;2
- Howe HF, Smallwood J (1982) Ecology of seed dispersal. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 13:201-228. doi:10.1146/annurev.es.13.110182.001221
- Janzen DH (1973) Sweep samples of tropical foliage insects: effects of seasons, vegetation types, elevation, time of day, and insularity. *Ecology* 54:687-708. doi:10.2307/1935359
- Koptur S, Haber WA, Frankie GW, Baker HG (1988) Phenological studies of shrub and treelet species in tropical cloud forest of Costa Rica. *J. Trop. Ecol.* 4:323-346. doi:10.1017/S0266467400002984
- Kovach WL (2004) Oriana for Windows – version 2.02. Kovach Computer Services, Wales, U.K.
- Krebs CJ (1994) *Ecology: the experimental analysis of distribution and abundance*. 4th ed.: Harper-Collins College Publishers, New York
- Lemoine NP, Doublet D, Salminen JP, Burkepile DE, Parker JD (2017) Responses of plant phenology, growth, defense, and reproduction to interactive effects of warming and insect herbivory. *Ecology* 98:1817-1828. doi:10.1002/ecy.1855
- LiuthHS, Talora DC, Amorim AM (2013) Phenological synchrony and seasonality of understory Rubiaceae in the Atlantic Forest, Bahia, Brazil. *Acta Bot. Bras.* 27(1):195-204. doi:10.1590/S0102-33062013000100019
- Loiselle BA, Blake JB (1990) Diets of understory fruit-eating birds in Costa Rica: seasonality and resource abundance. *Stud. Avian. Biol.* 13:91-103
- Lopes LE, Buzato S (2005) Biologia reprodutiva de *Psychotria suterella* Muell. Arg. (Rubiaceae) e a abordagem de escalas ecológicas para a fenologia de floração e frutificação. *Rev. Brasil. Bot.* 28(4):785-795. doi:10.1590/S0100-84042005000400013
- Machado AO, Silva AP, Consolaro H, Granja MA, Oliveira PE (2010) Breeding biology and distyly in *Palicourea rigida* H. B. & K. (Rubiaceae) in the Cerrados of Central Brazil. *Acta bot. bras.* 24(3):686-696. doi:10.1590/S0102-33062010000300012
- Marques MCM, Roper JJ, Salvalaggio APB (2004) Phenological patters among plant life-forms in a subtropical forest in southern Brazil. *Plant Ecol.* 173:203-213. doi:10.1023/B:VEGE.0000029325.85031.90
- Massi KG, Eugênio CUO, Franco AC (2017) Post-fire reproduction of herbs at a savanna-gallery forest boundary in Distrito Federal, Brazil. *Braz. J. Biol.* doi:10.1590/1519-6984.06416
- Martén-Rodríguez S, Muños-Gamboa P, Delgado-Dávila R, Quesada M (2013) Asymmetric pollen transfer and reproductive success of the hawkmoth pollinated distylous tree *Palicourea tetragona* (Rubiaceae) at La Selva, Costa Rica. *J. Trop. Ecol.* 29(6):501-510. doi:10.1017/S0266467413000588

- Matias R, Oliveira AS, Furtado MT, Sá TFF, Rodrigues EB, Oliveira PE, Consolaro H (2016) Sistema reprodutivo atípico de duas espécies de Rubiaceae: distília com autoincompatibilidade parcial no morfo brevistilo? *Rodriguésia* 67(2):357–368. doi:10.1590/2175-7860201667207
- Melo NC, Beijo LA, Madail RH, Polo M (2013) Leaf anatomy and chlorophyll content in *Psychotria vellosiana* Benth influenced by the edge and two matrices. *Rev. Cienc. Agrar.* 56:1-9. doi:10.4322/rca.2013.085
- Morellato LPC (1992) Sazonalidade e dinâmica de ecossistemas florestais na Serra do Japi. In: Morellato LPC (Org.), História natural da Serra do Japi: ecologia e preservação de uma área florestal no sudeste do Brasil. Editora da Unicamp, Campinas, pp 112-140
- Morellato LPC, Alberton B, Alvarado ST, Borges B, Buisson E, Camargo MGG, Cancian LF, Carstensen DW, Escobar DFE, Leite PTP, Mendoza I, Rocha NMWB, Soares NC, Silva TSF, Staggemeier VG, Streher AS, Vargas BC, Peres CA (2016) Linking plant phenology to conservation biology. *Biol. Conserv.* 195:60-72. doi:10.1016/j.biocon.2015.12.033
- Morellato LPC, Camargo MGG, Gressler E (2013) A Review of Plant Phenology in South and Central America. Chapter 6 in: Schwartz MD (ed.), *Phenology: An Integrative Environmental Science*. doi:10.1007/978-94-007-6925-0\_6
- Morellato LPC, Alberti LF, Hudson IL (2010) Applications of circular statistics in plant phenology: a case studies approach. In: Hudson IL, Keatley MR (ed) *Phenological Research: Methods for environmental and climate change analysis*, Springer Netherlands, pp 333–353. doi:10.1007/978-90-481-3335-2\_16
- Morellato LPC, Talora DC, Takahasi A, Bencke CC, Romera EC, Zipparro VB (2000) Phenology of Atlantic rain forest trees – a comparative study. *Biotropica* 32(4B):811–823. doi:10.1111/j.1744-7429.2000.tb00620.x
- Moura RF, Alves-Silva E, Del-Claro K (2017) Patterns of growth, development and herbivory of *Palicourea rigida* are affected more by sun/shade conditions than by Cerrado phytophysiognomy. *Acta Bot. Bras.* 31(2):286-294. doi: 10.1590/0102-33062016abb0446
- Moutinho-Pereira JM (2000) Caracterização fisiológica e agrônômica de diferentes estratégias culturais para minimizar o stress estival em *Vitis vinifera* L. na Região Demarcada do Douro. Tese UTAD, Vila Real.
- Muniz FH (2008) Padrões de floração e frutificação de árvores da Amazônia Maranhense. *Acta Amaz.* 38(4):617-626. doi:10.1590/S0044-59672008000400004
- Newstrom LE, Frankie GW, Baker HG (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. doi:10.2307/2388804
- Opler PA, Frankie GW, Baker HG (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. doi:10.2307/2258961
- Ornelas JF, González C, Jiménez L, Lara C, Martínez AJ (2004) Reproductive ecology of distylous *Palicourea padifolia* (Rubiaceae) in a tropical montane cloud forest. II. Attracting and rewarding mutualistic and antagonistic visitors. *Am. J. Bot.* 91(7):1061-1069. doi:10.3732/ajb.91.7.1061

- Peel MC, Finlayson BL, McMahon TA (2007) Updated world map of the Köppen-Geiger climate classification. *Hydrol. Earth Syst. Sci.* 11:1633–1644. doi:10.5194/hess-11-1633-2007
- Pereira ZV, Vieira MF, Carvalho-Okano RM (2006) Fenologia da floração, morfologia floral e sistema de incompatibilidade em espécies distílicas de Rubiaceae em fragmento florestal do Sudeste brasileiro. *Rev. bras. bot.*29(3):471-480. doi:10.1590/S0100-84042006000300014
- Pinheiro M, Abrão BE, Harter-Marques B, Miotto STS (2008) Floral resources used by insects in a grassland community in Southern Brazil. *Rev. Bras. Bot.*31(3):469-489. doi:10.1590/S0100-84042008000300011
- Poorter L, Oliver YH (2000) Effects of seasonal drought on gap and understory seedlings in a Bolivian moist forest. *J. Trop. Ecol.* 16:481-498. doi:10.1017/S026646740000153X
- Poulin B, Wright J, Lefebvre G, Calderon O (1999) Interspecific synchrony and asynchrony in the fruiting phenologies of congeneric bird-dispersed plants in Panama. *J. Trop. Ecol.* 15:213–227. doi:10.1017/S0266467499000760
- Poveda K, Steffan-Dewenter I, Scheu S, Scharntke TT (2005) Floral trait expression and plant fitness in response to below and above ground plant-animal interactions. *Perspect. Plant Ecol. Evol. Syst.*7:77-83. doi:10.1016/j.ppees.2005.02.002
- Ramalho M, Kleinert-Giovannini A, Imperatriz-Fonseca VL (1990) Important bee plants for stingless bees (*Melipona* and *Trigonini*) and Africanized honeybees (*Apis mellifera*) in neotropical habitats: a review. *Apidologie* 21:469-488. doi:10.1051/apido:19900508
- Ramos FN, Santos FAM (2005) Phenology of *Psychotria tenuinervis* (Rubiaceae) in Atlantic forest fragments: fragment and habitat scales. *Can. J. Bot.* 83:1305-1316. doi:10.1139/b05-106
- Ramos FN, Santos FAM (2006) Floral visitors and pollination of *Psychotria tenuinervis* (Rubiaceae): distance from the anthropogenic and natural edges of an Atlantic Forest fragment. *Biotropica* 38(3):383-389. doi:10.1111/j.1744-7429.2006.00152.x
- R Core Team (2017) R version 3.4.2 (2017-09-28) -- "Short Summer" Copyright (C) 2017 The R Foundation for Statistical Computing.
- Rocca MA, Sazima M (2010) Beyond hummingbird–flowers: the other side of ornithophily in the Neotropics. *Oecologia Australis* 14(1):67–99. doi:10.4257/oeco.2010.1401.03
- Sakai S (2001) Phenological diversity in tropical forests. *Popul. Ecol.* 43:77-86. doi:10.1007/PL00012018
- Sakai S, Wright J (2008) Reproductive ecology of 21 coexisting *Psychotria* species (Rubiaceae): when is heterostyly lost? *Biol. J. Linn. Soc.* 93:125–134. doi:10.1111/j.1095-8312.2007.00890.x
- San Martin-Gajardo I, Morellato LPC (2003a) Fenologia de Rubiaceae do sub-bosque em floresta atlântica no sudeste do Brasil. *Rev. bras. bot.*26(3):299-309. doi:10.1590/S0100-84042003000300003
- San Martin-Gajardo I, Morellato LPC(2003b) Inter and intraspecific variation on reproductive phenology of the Brazilian Atlantic forest Rubiaceae – ecology and phylogenetic constraints. *Rev. biol. trop.*51(3-4):691-698
- Santos AO, Webber AC, Costa FRC (2008) Biologia reprodutiva de *Psychotria spectabilis* Steyrm. e *Palicoeura* cf. *virens* (Poepp & Endl.) Standl. (Rubiaceae) em uma floresta tropical úmida na região de Manaus, AM, Brasil. *Acta Bot. Bras.* 22(1):275-285. doi:10.1590/S0102-33062008000100025



- Sasaki D, Zappi D, Milliken W, Henicka GS, Piva JH (2010) *Vegetação e plantas do Cristalino – um manual*. Royal Botanic Gardens, Kew/Fundação Ecológica Cristalino, Alta Floresta.
- Sharp JM (1993) Plant growth and demography of the neotropical herbaceous fern *Danaea wendlandii* (Marattiaceae) in a Costa Rican rain forest. *Biotropica* 25:85-94. doi: 10.2307/2388981
- Silva CA, Segura JAL (2015) Reproductive Biology and Herkogamy of *Psychotria elata* (Rubiaceae), a Distylous Species of the Tropical Rain Forests of Costa Rica. *Am. J. Plant. Sci.* 6:433-444. doi:10.4236/ajps.2015.63049
- Silva CA, Vieira MF (2013) Sucesso reprodutivo de espécies distílicas de *Psychotria* (rubiaceae) em sub-bosque de floresta atlântica. *Revista Árvore* 37(2):289-297. doi:10.1590/S0100-67622013000200010
- Silva CA, Vieira MF (2015) Flowering and pollinators of three distylous species of *Psychotria* (Rubiaceae) co-occurring in the Brazilian Atlantic Forest. *Revista Árvore* 39(5):779-789. doi:10.1590/0100-67622015000500001
- Silva EMS, Oliveira UA, Cardoso ES, Roelis BV, Rossi AAB (2017) Fenologia reprodutiva e biologia floral de *Palicourea racemosa* (Aubl.) Borhidi (Rubiaceae) em um fragmento florestal no município de Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil. *Enciclopédia Biosfera* 14(26):986-994. doi: 10.18677/EnciBio\_2017B84
- Silva MS (2015) Avaliação antioxidante e quantificação de metabólitos secundários de *Psychotria deflexa* D.C. (Rubiaceae). TCC, Universidade Federal da Grande Dourados, Dourados.
- Sobrevila C, Ramirez N, Enrech NX (1983) Reproductive biology of *Palicourea fendleri* and *Palicourea petiolaris* (Rubiaceae), heterostylous shrubs of a tropical cloud forest in Venezuela. *Biotropica* 15(3):161-169. doi:10.2307/2387824
- Stevens, PF (2018) Angiosperm Phylogeny Website. Version 14. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>. Accessed 24 January 2018.
- Stevenson PR, Castellanos MC, Cortés AI, Link A (2008) Flowering patterns in a seasonal tropical lowland forest in western Amazonia. *Biotrópica* 417:9. doi:10.1111/j.1744-7429.2008.00417.x
- Taylor CM, (2017) Rubiacearum Americanarum Magna Hama Pars XXXVI: New Species and Taxonomic Changes in *Palicourea* (Palicoureeae). *Novon* 25(2):238-258. doi:10.3417/2015045
- Taylor CM, Hollowell VC (2016) Rubiacearum Americanarum Magna Hama Pars XXXV: The New Group *Palicourea* sect. *Nonatelia*, with five new species (Palicoureeae). *Novon* 25:69-110. doi:10.3417/2015012
- Theim TJ, Shirk RY, Givnish TJ (2014) Spatial genetic structure in four understory *Psychotria* species (Rubiaceae) and implications for tropical forest diversity. *Am. J. Bot.* 101(7):1189-1199. doi:10.3732/ajb.1300460
- Valladares F, Wright SJ, Lasso E, Kitajima K, Pearcy RW (2000) Plastic phenotypic response to light of 16 rainforest shrubs (*Psychotria*) differing in shade tolerance. *Ecology* 81, 1925-1936. doi:10.2307/177282
- Van Schaik CP, Terborgh JW, Wright SJ (1993) The phenology of tropical forests: adaptive significance and consequences for primary consumers. *Annu. Rev. Ecol. Syst.* 24:353-37. doi:10.1146/annurev.es.24.110193.002033

- Varejão-Silva MA (2006) Meteorologia e Climatologia – Versão Digital 2. Recife, 449 p.  
[http://www.icat.ufal.br/laboratorio/clima/data/uploads/pdf/METEOROLOGIA\\_E\\_CLIMATOLOGIA\\_VD2\\_Mar\\_2006.pdf](http://www.icat.ufal.br/laboratorio/clima/data/uploads/pdf/METEOROLOGIA_E_CLIMATOLOGIA_VD2_Mar_2006.pdf). Accessed 24 January 2018
- Williams-Linera G, Herrera F (2003) Folivory, herbivores, and environment in the understory of a Tropical Montane Cloud Forest. *Biotropica* 35(1):67-73. doi:10.1111/j.1744-7429.2003.tb00263.x
- Wolda H (1978) Fluctuations in abundance of tropical insects. *Amer. Natur.* 112(988):1017-45. doi:10.1086/283344
- Wright SJ (1991) Seasonal drought and the phenology of understory shrubs in a tropical moist forest. *Ecology* 72(5):1643-1657. doi:10.2307/1940964
- Wright SJ, Calderón O (1995) Phylogenetic Patterns among Tropical Flowering Phenologies. *Journal of Ecology* 83:937-948. doi:10.2307/2261176
- Zappi DC, Sasaki D, Milliken W, Piva J, Henicka GS, Biggs N, Frisby S (2011) Plantas vasculares da região do Parque Estadual Cristalino, norte de Mato Grosso, Brasil. *Acta Amaz.* 41(1):29–38. doi:10.1590/S0044-59672011000100004
- Zar JH (1996) *Biostatistical analysis*. Upper Saddle River, New Jersey: Prentice-Hall.

**Tabela 1.** Valores médios  $\pm$  desvio padrão (mínimo-máximo) de variáveis individuais e fenológicas de quatro populações de *Palicourea* em floresta ombrófila densa no norte de Mato Grosso, Brasil. O traço indica variável não avaliada.

	<i>P. deflexa</i> (RFA)	<i>P. racemosa</i> (RFA)	<i>P. racemosa</i> (RMS)	<i>P. prunifolia</i> (RMS)
Nº de indivíduos observados (mortos*)	24 (4)	50 (2)	53 (1)	31 (2)
Perímetro basal (cm)	4,33 $\pm$ 1,35 (2 – 7)	3,20 $\pm$ 1,12 (1,50 – 6,50)	2,66 $\pm$ 0,71 (1,50 – 5,00)	2,71 $\pm$ 1,24 (1,5 – 6)
Altura da copa (m)	0,92 $\pm$ 0,24 (0,45 – 1,4)	0,54 $\pm$ 0,29 (0,09 – 1,60)	0,56 $\pm$ 0,19 (0,3 – 1,05)	0,64 $\pm$ 0,19 (0,3 – 1,1)
<b>Duração das fenofases (meses):</b>				
Folhas jovens	7,65 $\pm$ 2,43 (4 – 12)	5,92 $\pm$ 2,21 (1 – 10)	5,78 $\pm$ 2,50 (1 – 12)	-
Folhas adultas	11,60 $\pm$ 0,88 (9 – 12)	10,96 $\pm$ 1,60 (5 – 12)	11,70 $\pm$ 0,79 (9 – 12)	-
Folhas senescentes	4,71 $\pm$ 2,39 (1 – 9)	4,21 $\pm$ 2,38 (1 – 9)	6,06 $\pm$ 3,10 (1 – 12)	-
Botão	2,70 $\pm$ 0,80 (1 – 4)	1,81 $\pm$ 0,59 (1 – 4)**		1,00 $\pm$ 0,00 (1 – 1)
Antese	2,26 $\pm$ 0,56 (1 – 3)	1,37 $\pm$ 0,52 (1 – 3)**		1,20 $\pm$ 0,41 (1 – 2)
Fruto imaturo	6,50 $\pm$ 1,95 (1 – 8)	4,56 $\pm$ 1,22 (1 – 7)**		5,33 $\pm$ 1,49 (1 – 7)
Fruto maduro	2,13 $\pm$ 0,72 (1 – 3)	1,14 $\pm$ 0,36 (1 – 2)**		1,76 $\pm$ 0,70 (1 – 3)
<b>Nº máximo mensal por copa (no ano):</b>				
Folhas jovens	21,10 $\pm$ 8,50 (8 – 34)	11,25 $\pm$ 7,68 (2 – 39)	9,08 $\pm$ 6,52 (1 – 29)	-
Folhas adultas	55,15 $\pm$ 28,48 (17 – 120)	24,67 $\pm$ 22,45 (4 – 126)	19,96 $\pm$ 11,87 (6 – 63)	-
Folhas senescentes	7,71 $\pm$ 4,31 (1 – 17)	3,36 $\pm$ 3,03 (1 – 17)	3,67 $\pm$ 2,22 (1 – 12)	-
Botão	113,35 $\pm$ 101,86 (2 – 360)	65,27 $\pm$ 93,98 (1 – 683)**		61,73 $\pm$ 72,22 (1 – 301)
Antese	116,21 $\pm$ 103,71 (6 – 360)	71,72 $\pm$ 97,18 (2 – 683)**		60,07 $\pm$ 70,19 (1 – 301)
Fruto imaturo	168,55 $\pm$ 159,10 (9 – 554)	60,67 $\pm$ 85,03 (1 – 445)**		61,77 $\pm$ 72,21 (1 – 301)
Fruto maduro	20,63 $\pm$ 19,10 (1 – 83)	3,96 $\pm$ 5,21 (1 – 21)**		9,33 $\pm$ 9,18 (1 – 32)
Nº total inflorescências por copa (no ano)	6,57 $\pm$ 5,23 (1 – 18)	3,80 $\pm$ 4,66 (1 – 34)**		37,48 $\pm$ 46,13 (1 – 194)

\* Indivíduos considerados nas análises que morreram durante o período de estudo (junho/2016 a maio/2017).

\*\* Informações adaptadas de Franco et al. (no prelo), que avaliaram a fenologia reprodutiva de *P. racemosa* (veja seção Materiais e Métodos).

**Tabela 2.** Resultados do teste pareado de Wilcoxon das fenofases vegetativas de três populações de *Palicourea* comparando estação seca (maio-setembro) e chuvosa (outubro-abril). Os valores de  $p < 0,05$  marcados com asterisco indicam diferença significativa entre as estações; a estação com os maiores valores é apresentada entre parênteses.

<b>Variável vegetativa</b>	<b><i>P. deflexa</i> (RFA)</b>	<b><i>P. racemosa</i> (RFA)</b>	<b><i>P. racemosa</i> (RMS)</b>
Folhas jovens	Z = 3,88; p < 0,001* (chuvosa)	Z = 4,85; p < 0,001* (chuvosa)	Z = 3,52; p < 0,001* (chuvosa)
Folhas adultas	Z = 0,93; p = 0,351 -	Z = 1,29; p = 0,196 -	Z = 5,15; p < 0,001* (chuvosa)
Folhas senescentes	Z = 3,20; p = 0,001* (chuvosa)	Z = 2,59; p = 0,010* (chuvosa)	Z = 4,51; p < 0,001 (chuvosa)
% de folhas com dano leve	Z = 1,75; p = 0,079 -	Z = 0,88; p = 0,379 -	Z = 3,39; p = 0,001* (chuvosa)
% de folhas com dano severo	Z = 0,16; p = 0,872 -	Z = 0,52; p = 0,606 -	Z = 0,56; p = 0,573 -
% de folhas danificadas (total)	Z = 2,20; p = 0,028* (chuvosa)	Z = 1,87; p = 0,062 -	Z = 3,49; p < 0,001* (chuvosa)

**Tabela 3.** Resultados do teste comparativo (Mann-Whitney) entre as populações (fenologia vegetativa) e espécies de *Palicourea* (fenologia reprodutiva) quanto ao número máximo mensal de folhas e estruturas reprodutivas por copa e a duração das fenofases. Legenda: defle (*P. deflexa*), pruni (*P. prunifolia*), racem (*P. racemosa*). \*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001; ns: não significativo.

A. Fenologia vegetativa	Nº máximo mensal por copa			Duração da fenofase				
	Folhas jovens	Folhas adultas	Folhas senescentes	Folhas jovens	Folhas adultas	Folhas senescentes		
defle & racem (RFA)	*** ( defle > racem)	*** ( defle > racem)	*** ( defle > racem)	ns	ns	ns		
defle & racem (RMS)	*** ( defle > racem)	*** ( defle > racem)	** ( defle > racem)	* ( defle > racem)	ns	ns		
racem (RFA) & racem (RMS)	ns	ns	Ns	ns	ns	* (racem RMS > RFA)		
B. Fenologia reprodutiva	Nº máximo mensal por copa				Duração da fenofase			
	Botão	Antese	Fr. imaturo	Fr. maduro	Botão	Antese	Fr. imaturo	Fr. maduro
defle & racem	ns	ns	** ( defle > racem)	*** (defle > racem)	** ( defle > racem)	*** ( defle > racem)	*** ( defle > racem)	*** ( defle > racem)
defle & pruni	* (defle > pruni)	* (defle > pruni)	* (defle > pruni)	Ns	*** (defle > pruni)	*** (defle > pruni)	ns	ns
racem & pruni	ns	ns	ns	* (pruni > racem)	*** (racem > pruni)	ns	* (pruni > racem)	* (pruni > racem)

**Tabela 4.** Resultados da análise estatística circular para a ocorrência de sazonalidade no início e pico das fenofases reprodutivas de três espécies de *Palicourea* (Rubiaceae), em duas áreas de floresta ombrófila densa no norte de Mato Grosso, Brasil. **A.** Teste de sazonalidade. **B.** Comparação das datas médias entre as espécies (teste de Watson-Williams, em que  $p < 0,05$  indica diferença significativa). Fenofases: Bot. = botão, Ant. = antese, Imat. = fruto imaturo, Mad. = fruto maduro. Compr. vetor médio = comprimento do vetor médio.

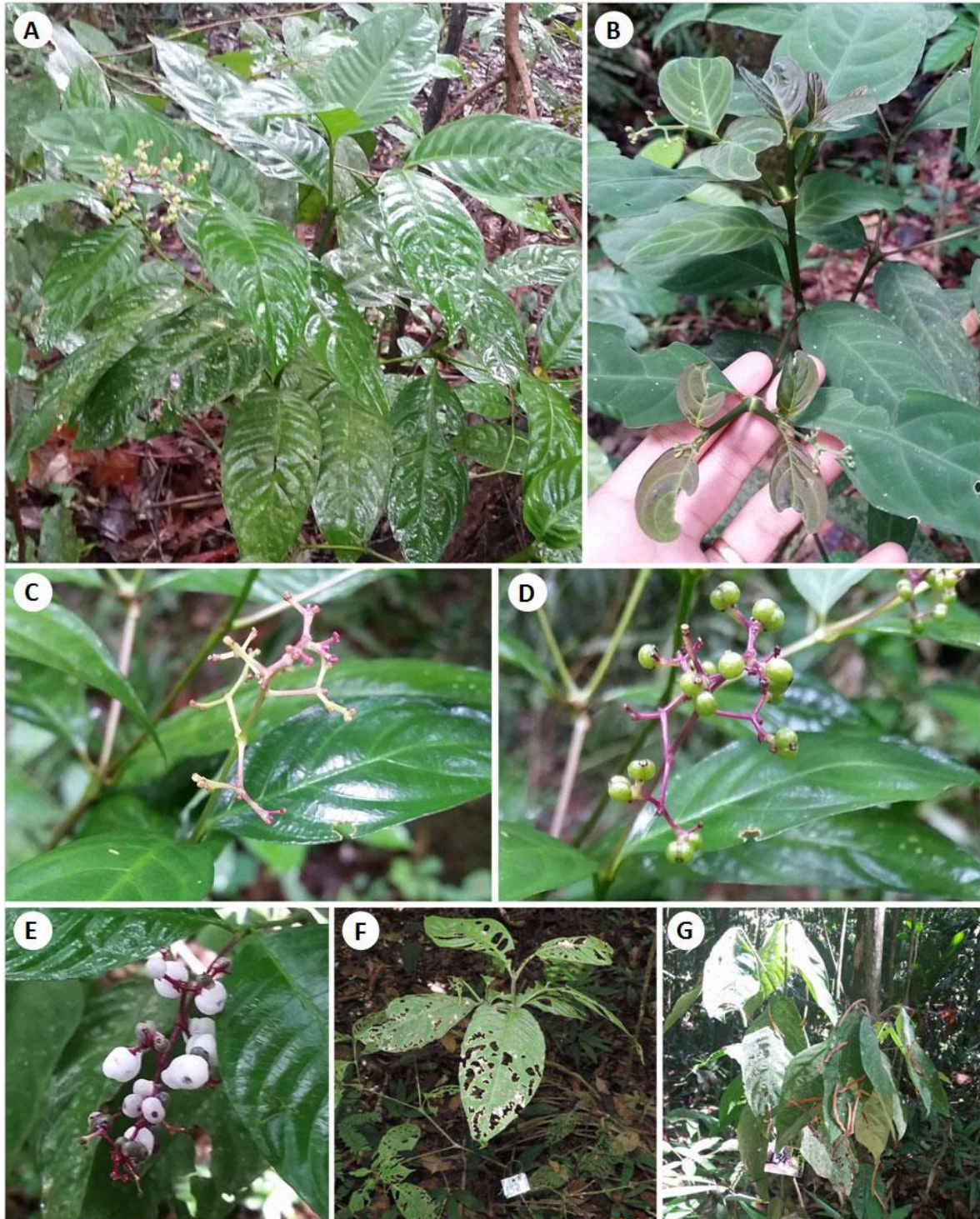
	Início das fenofases				Pico das fenofases			
	Bot.	Ant.	Imat.	Mad.	Bot.	Ant.	Imat.	Mad.
<b>A. Teste de sazonalidade</b>								
<b><i>P. deflexa</i></b>								
Observações (N)	21	19	19	14	20	19	19	15
Ângulo médio ( $\mu$ )	294,77°	328,34°	328,34°	119,91°	316,43°	349,11°	12,32°	141,88°
Data média	25/out	28/nov	28/nov	01/mai	16/nov	19/dez	12/jan	23/mai
Compr. vetor médio (r)	0,99	0,96	0,96	0,95	0,96	0,96	0,95	0,89
Desvio padrão circular	8,92°	15,34°	15,34°	17,61°	15,47°	16,53°	18,15°	27,10°
Teste Rayleigh (p)	*	*	*	*	*	*	*	*
<b><i>P. prunifolia</i></b>								
Observações (N)	31	30	30	18	30	30	30	21
Ângulo médio ( $\mu$ )	322,53°	344,35°	352,12°	124,90°	322,53°	350,22°	26,56°	149,89°
Data média	23/nov	15/dez	23/dez	06/mai	23/nov	21/dez	26/jan	31/mai
Compr. vetor médio (r)	1,00	0,97	1,00	0,89	1,00	0,99	0,93	0,96
Desvio padrão circular	0,00°	13,11°	0,00°	27,37°	0,00°	7,33°	21,30°	15,97°
Teste Rayleigh (p)	*	*	*	*	*	*	*	*
<b><i>P. racemosa</i>**</b>								
Observações (N)	75	67	62	26	75	67	61	27
Ângulo médio ( $\mu$ )	295,08°	323,41°	351,66°	106,73°	297,96°	324,30°	358,77°	109,87°
Data média	26/out	23/nov	22/dez	18/abr	29/out	24/nov	29/dez	21/abr
Compr. vetor médio (r)	0,96	0,97	1,00	0,96	0,95	0,97	0,98	0,94
Desvio padrão circular	16,22°	14,97°	3,69°	16,13°	18,21°	14,86°	12,90°	20,78°
Teste Rayleigh (p)	*	*	*	*	*	*	*	*
<b>B. Comparação entre espécies</b>								
3 espécies	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,017	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001
<i>P. deflexa</i> & <i>P. prunifolia</i>	< 0,001	< 0,001	< 0,001	0,564	0,045	0,754	0,022	0,287
<i>P. deflexa</i> & <i>P. racemosa</i>	0,932	0,215	< 0,001	0,025	< 0,001	< 0,001	0,001	< 0,001
<i>P. prunifolia</i> & <i>P. racemosa</i>	< 0,001	< 0,001	0,721	0,010	< 0,001	< 0,001	< 0,001	< 0,001

\* Valores de  $p < 0,00001$ .

\*\* Valores adaptados de Franco et al. (no prelo).

**Tabela 5.** Relação entre as variáveis climáticas e a fenologia reprodutiva das espécies de *Palicourea* de floresta ombrófila densa, norte de Mato Grosso, considerando os resultados dos modelos lineares generalizados (GLM) Tmín: temperatura mínima. Tméd: temperatura média. Tmáx: temperatura máxima. Precip: precipitação. Fotop: fotoperíodo. O sinal indica o tipo de relação entre a fenofase e a variável climática: positiva (+) ou negativa (-). O número entre parênteses representa o mês da correlação com menor valor de “p”: mês de ocorrência do evento fenológico (0), um mês antes do evento (1), dois meses antes do evento (2), três meses antes do evento (3). \*p<0,05; \*\*p<0,01; \*\*\*p<0,001. ns: não significativo.

<b>Espécie</b>	<b>V. climática</b>	<b>Botão</b>	<b>Antese</b>	<b>Fr. imaturo</b>	<b>Fr. maduro</b>
<i>P. deflexa</i>	Tmín	ns	+ (0) *	ns	+ (1) **
	Tméd	+ (3) *	- (0) *	ns	- (3) **
	Tmáx	+ (3) ***	- (0) *	- (0) **	- (3) *
	Precip	ns	Ns	ns	+ (3) **
	Fotop	+ (0) *	+ (0) **	+ (3) ***	+ (3) **
<i>P. prunifolia</i>	Tmín	+ (0) *	Ns	ns	+ (1) **
	Tméd	- (0) *	Ns	- (0) **	- (3) *
	Tmáx	+ (3) *	- (0) *	ns	+ (0) *
	Precip	+ (0) *	Ns	+ (1) *	+ (3) **
	Fotop	ns	+ (0) *	+ (2) ***	- (1) **
<i>P. racemosa</i>	Tmín	- (3) ***	+ (0) **	ns	ns
	Tméd	+ (3) **	- (0) **	- (0) **	- (3) *
	Tmáx	ns	- (0) **	ns	ns
	Precip	- (3) *	Ns	+ (3) *	+ (1) **
	Fotop	ns	Ns	+ (2) ***	- (0) **

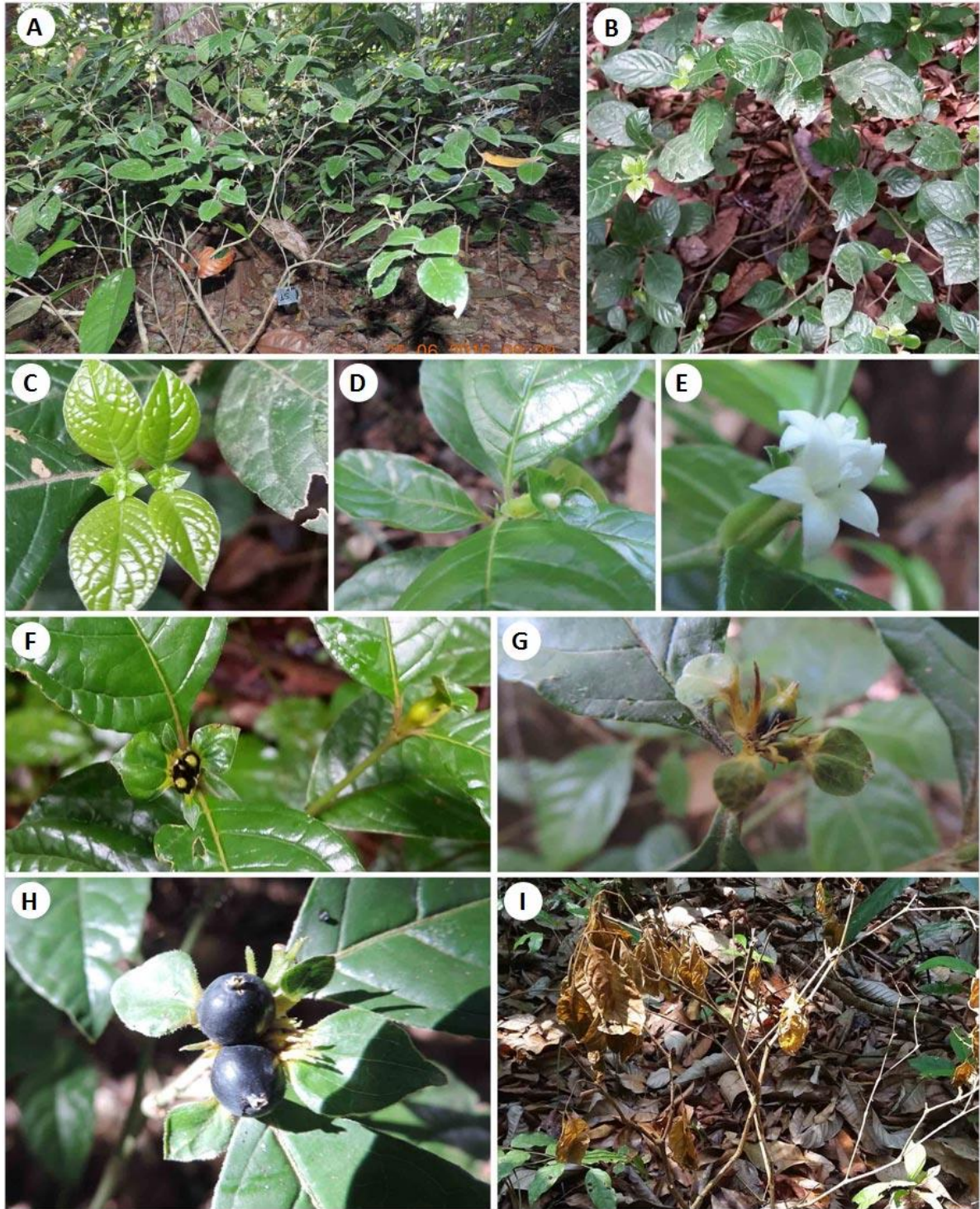


**Fig. 1-** *Palicourea deflexa*. **A.** Aspecto geral de um indivíduo (com frutos imaturos). **B.** Folhas novas e inflorescência em estágio inicial. **C.** Início do desenvolvimento dos frutos. **D.** Frutos imaturos. **E.** Frutos maduros. **F.** Folhas danificadas. **G.** Folhas adultas murchas.

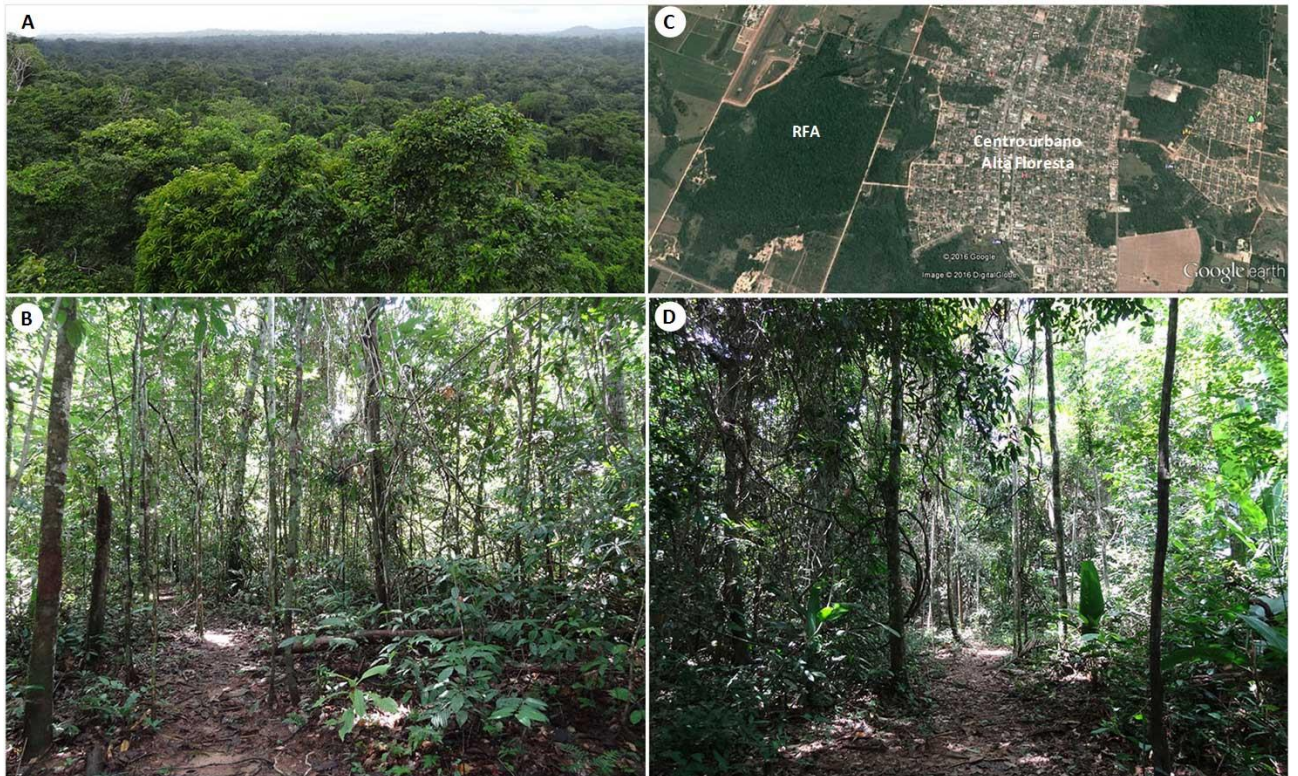




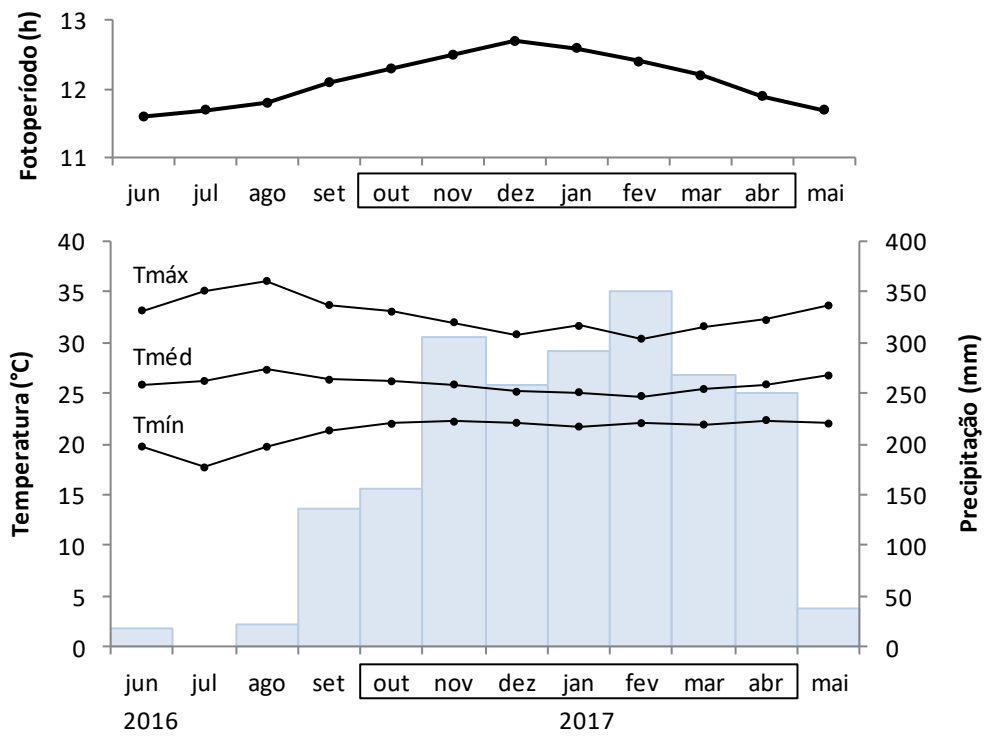
**Fig. 2-** *Palicourea racemosa*. **A.** Aspecto geral de um indivíduo (com frutos imaturos). **B.** Botões e flores. **C-D.** Frutos imaturos. **E-F.** Frutos imaturos em maturação (alaranjados) e maduros (pretos). **G.** Folhas senescentes e adultas danificadas. **H.** Folhas adultas danificadas e início de produção de folhas novas.



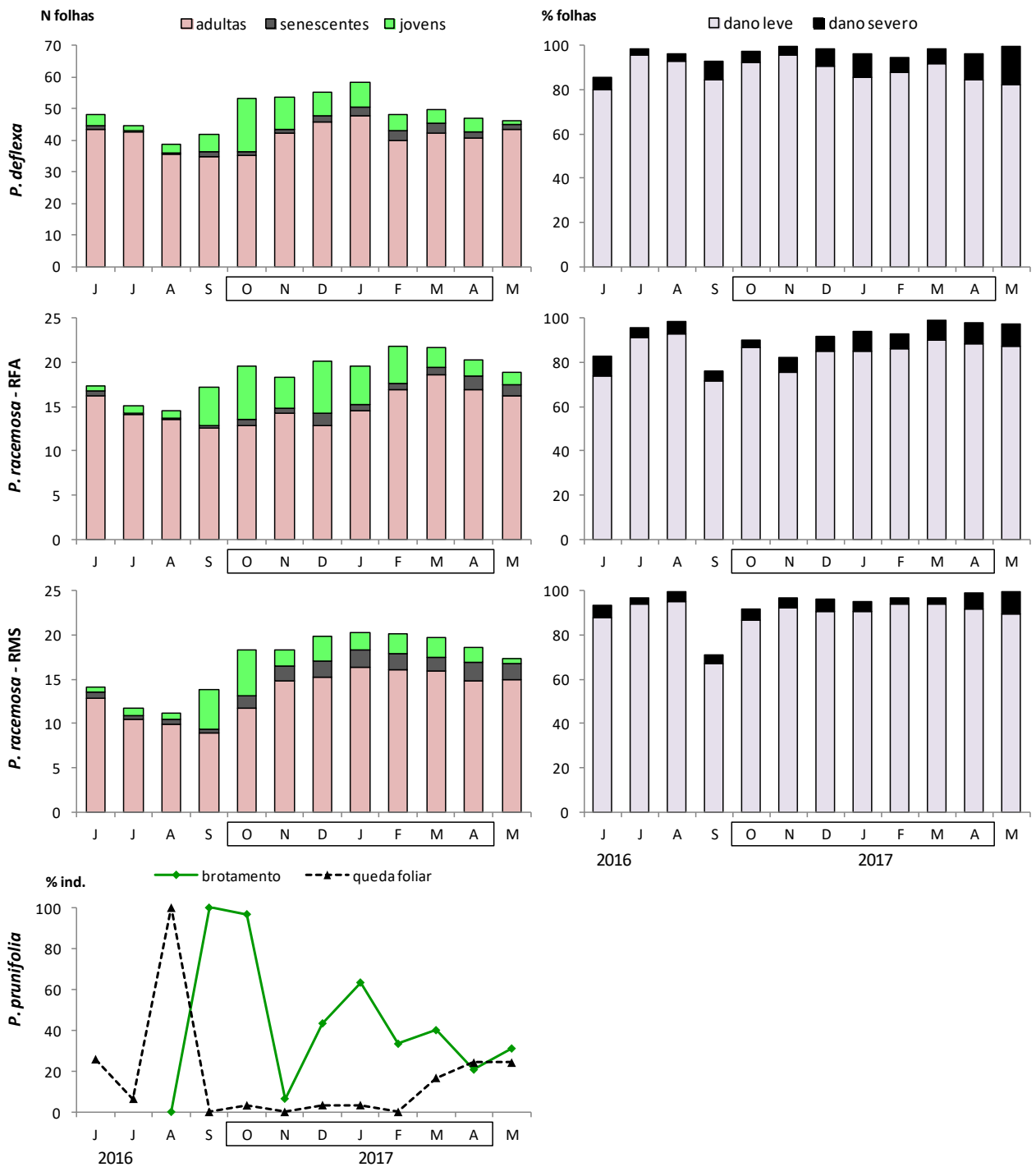
**Fig. 3-** *Palicourea prunifolia*. **A.** Aspecto geral de um indivíduo. **B-C.** Brotamento (emissão de folhas novas). **D.** Botão floral. **E.** Flores. **F-G.** Frutos imaturos. **H.** Frutos maduros. **I.** Folhas secas.



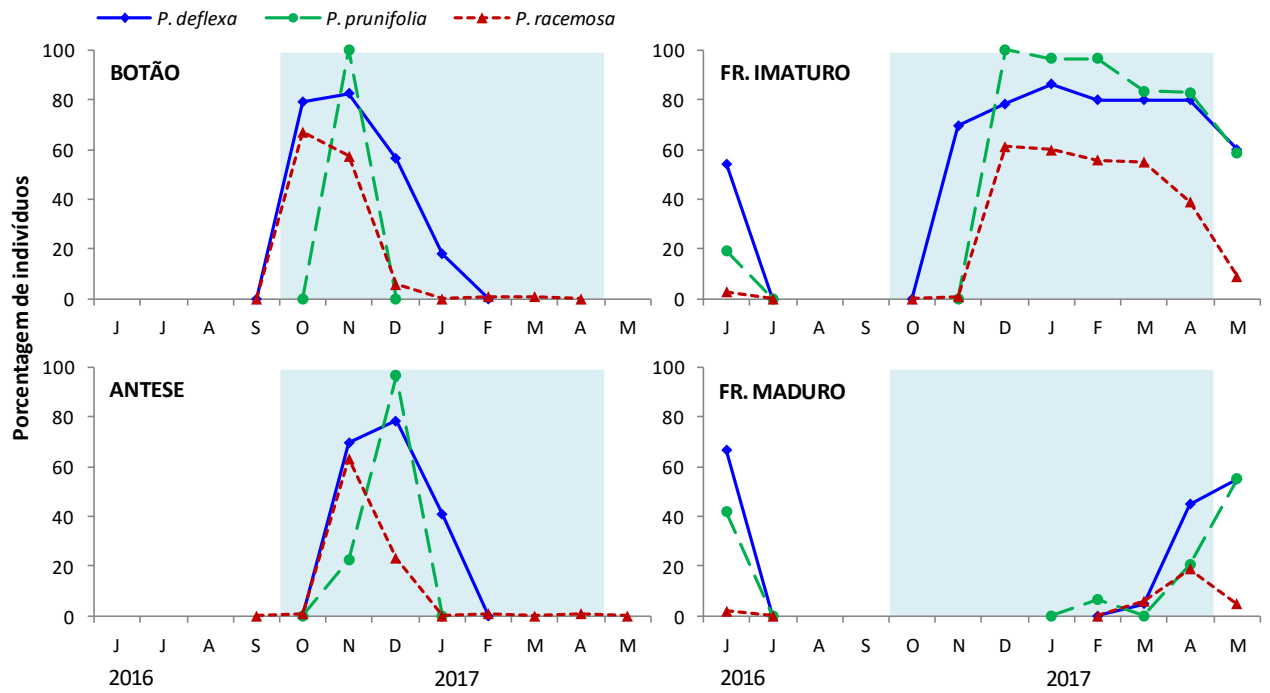
**Fig. 4-** Localização e vegetação das áreas de estudo. **A-B.** RPPN Mirante da Serra (RMS), município de Novo Mundo. **C-D.** Reserva do Floresta Amazônica Hotel Resort (RFA), município de Alta Floresta.



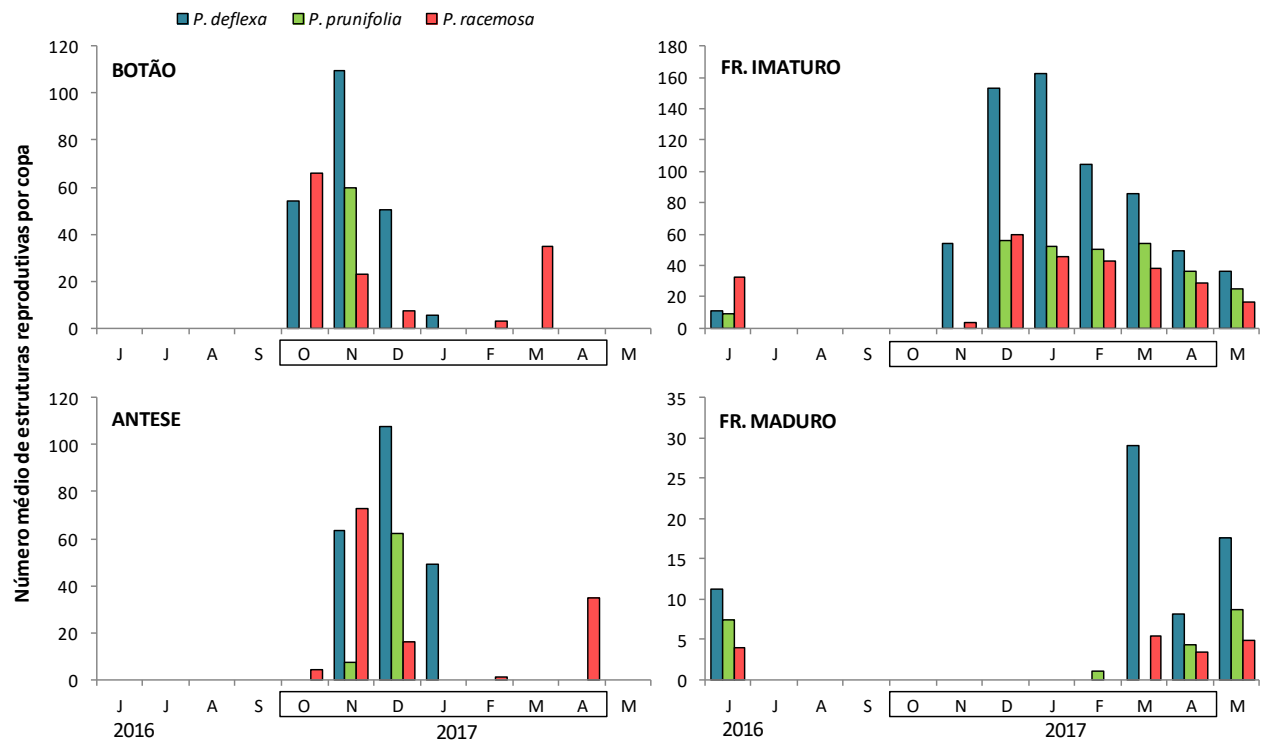
**Fig. 5-** Variáveis climáticas na região do estudo (Alta Floresta, Mato Grosso, Brasil) no período de junho/2016 a maio/2017. Legenda: temperatura mínima (Tmín), média (Tméd) e máxima (Tmáx). A barra representa a estação chuvosa na região (outubro a abril).



**Fig. 6-** Padrão anual das fenofases vegetativas de três espécies de *Palicourea* em duas áreas de floresta ombrófila densa, Mato Grosso, Brasil. N folhas: número médio de folhas por copa. % folhas: porcentagem média mensal de folhas danificadas por copa. % ind.: porcentagem de indivíduos na fenofase. A escala de “N folhas” varia entre espécies. RFA: Reserva do Floresta Amazônica Hotel Resort. RMS: RPPN Mirante da Serra. Estação chuvosa na região de estudo: outubro a abril.



**Fig. 7-** Fenologia reprodutiva de três espécies de *Palicourea* em floresta ombrófila densa, Mato Grosso, Brasil. Estação chuvosa na região de estudo: outubro a abril.



**Fig. 8-** Quantidade média mensal de estruturas reprodutivas por copa em três espécies de *Palicourea* em floresta ombrófila densa, Mato Grosso, Brasil. A escala varia entre as fenofases e o cálculo considerou somente os indivíduos reprodutivos em cada mês. Estação chuvosa na região de estudo: outubro a abril.

#### 4. CONSIDERAÇÕES FINAIS

As espécies de *Palicourea* e *Psychotria* estudadas apresentam características anatômicas semelhantes, permitindo o agrupamento desses dois gêneros no dendrograma gerado e impossibilitando a separação dos mesmos pelos caracteres anatômicos foliares elencados.

As fenofases reprodutivas e vegetativas das três espécies de *Palicourea* avaliadas ocorreram concentradas na estação chuvosa, com alta sincronia intra e interespecífica, padrão similar ao descrito para a maioria das *Palicourea* e *Psychotria* de outras áreas de floresta úmida da América do Sul e Central.

Este estudo evidencia a importância de avaliar a plasticidade e fenologia em diferentes populações das mesmas espécies, bem como de relacionar os caracteres anatômicos com a taxonomia. Além disso, contribui para o conhecimento anatômico e fenológico de espécies de Rubiaceae no sul da Amazônia, onde a família apresenta alta diversidade, mas é escassamente pesquisada, correndo sérios riscos devido à intensa devastação da vegetação nativa na região.



# NORMAS DAS REVISTAS PARA PUBLICAÇÕES

## CAPÍTULO 1

### INSTRUCTIONS TO AUTHORS

- Aim and editorial policy
- Preparation of manuscripts

The journal Anais da Academia Brasileira de Ciências from 2012 onwards only considers online submissions. Once you have prepared your manuscript according to the instructions below, please visit the new, improved online submission website at <https://mc04.manuscriptcentral.com/aabc-scielo>. Please read these instructions carefully and follow them strictly. In this way you will help ensure that the review and publication of your paper are as efficient and quick as possible. The editors reserve the right to return manuscripts that are not in accordance with these instructions. Papers must be clearly and concisely written in English.

#### **Aim and editorial policy**

All submitted manuscripts should contain original research not previously published and not under consideration for publication elsewhere. The primary criterion for acceptance is scientific quality. Papers should avoid excessive use of abbreviations or jargon, and should be intelligible to as wide an audience as possible. Particular attention should be paid to the Abstract, Introduction, and Discussion sections, which should clearly draw attention to the novelty and significance of the data reported. Failure to do this may result in delays in publication or rejection of the paper. Articles accepted for publication become property of the journal.

Texts can be published as a review, a full paper (article) or as a short communication. Issues appear in March, June, September and December.

#### **Types of Papers**

##### **Reviews**

Reviews are published by invitation only. A proposal for a Review must be sent to the Editorial Office ([aabc@abc.org.br](mailto:aabc@abc.org.br)), which will proceed accordingly.

### **Articles**

Whenever possible the articles should be subdivided into the following parts: 1. Front Page; 2. Abstract (written on a separate page, 200 words or less, no abbreviations); 3. Introduction; 4. Materials and Methods; 5. Results; 6. Discussion; 7. Acknowledgments, if applicable; 8. References. Articles from some areas such as Mathematical Sciences should follow their usual format. In some cases it may be advisable to omit part (4) and to merge parts (5) and (6). Whenever applicable, the Materials and Methods section should indicate the Ethics Committee that evaluated the procedures for human studies or the norms followed for the maintenance and experimental treatments of animals.

### **Short communications**

Short communications aim to report on research which has progressed to the stage when it is considered that results should be divulged rapidly to other workers in the field. A short communication should also have an Abstract and should not exceed 1,500 words. Tables and Figures may be included but the text length should be proportionally reduced. Manuscripts submitted as articles but found to fit these specifications will be published as short communications upon the author's agreement.

After the first screening, the articles will be evaluated by at least two reviewers, them being from educational and/or national and international research institutions, with proven scientific production. After due corrections and possible suggestions, the paper may be accepted or rejected, considering the reviews received.

We use the integrated Crossref Similarity Check program to detect plagiarism. There are no APC and submission charges in the AABC.

### **Preparation of manuscripts**

All parts of the manuscript should be double-spaced throughout. After acceptance, no changes will be made in the manuscript so that proofs require

only corrections of typographical errors. The authors should send their manuscript in electronic version only.

### **Length of manuscript**

While papers may be of any length required for the concise presentation and discussion of the data, succinct and carefully prepared papers are favored both in terms of impact as well as in readability.

### **Tables and Illustrations**

Only high-quality illustrations will be accepted. All illustrations will be considered figures including drawings, graphs, maps, photographs as well as tables with more than 12 columns or more than 24 lines. Their tentative placement in the text should be indicated. The AABC do not charge the first 5 figures in black and white or scale of gray. Should the authors want colored figures in the hard copy, a cost may be generated for each one of them, as well as for each figure in black and white or scale of gray beyond 5. Figures that are published in colors only in the online version do not generate additional costs.

### **Digitalized figures**

Figures should be sent according to the following specifications: 1. Drawings and illustrations should be in format EPS (PostScript) or AI (Adobe Illustrator) and never be inserted in text; 2. Images or figures in grayscale should be in format TIF and never be inserted in text; 3. Each figure should be saved in a separate file; 4. Figures should be submitted at high quality (minimum resolution of 300dpi) at the size they are to appear in the journal, i.e., 8 cm (one column) or 16.5 cm (two columns) wide, with maximal height for each **figure and respective legend smaller than or equal to 22 cm**. The legends to the figures should be sent double-spaced on a separate page. Each linear dimension of the smallest characters and symbols should not be less than 2 mm after reduction; 5. Manuscripts on Mathematics, Physics or Chemistry may be typesetted in , or . The TEX, PDF and BIB files should be sent, and EPS files if there are any figures; 6. Manuscripts without mathematical formulae may be sent in RTF, DOC or DOCX.

## **Front page**

The front page of the manuscript should present the following items: 1. Title of the article (the title should be short, specific, and informative); 2. Full name(s) of the author(s); 3. Full professional address of each author (institution, street, number, zip code, city/county, state if applicable, country, etc.); 4. Key words (four to six in alphabetical order); 5. Running title (up to 50 characters); 6. Academy Section (one out of our 10 areas) to which the content of the work belongs; 7. Name and e-mail address of the author to whom all correspondence and proofs should be provided. Should any of these requirements not be met, we may unsubmit your paper and ask for corrections.

## **Acknowledgments**

These should be included at the end of the text. Personal acknowledgments should precede those of institutions or agencies. Footnotes should be avoided; when necessary they must be numbered. Acknowledgments to grants and scholarships, and of indebtedness to colleagues as well as mention to the origin of an article (e.g. thesis) should be added to the Acknowledgments section.

## **Abbreviations**

Abbreviations should be defined at their first occurrence in the text, except for official, standard abbreviations. Units and their symbols should conform to those approved by the ABNT or by the Bureau International des Poids et Mesures (SI).

## **References**

Authors are responsible for the accuracy of the References. Published articles and those in press may be included. Personal communications (Smith, personal communication) must be authorized in writing by those involved. References to thesis, meeting abstracts (not published in indexed journals) and manuscripts in preparation or submitted, but not yet accepted, should be cited in the text as (Smith et al., unpublished data) and should NOT be included in the list of references.

The references should be cited in the text as, for example, 'Smith 2004', 'Smith and Wesson 2005' or, for three or more authors, 'Smith et al. 2006'. Two or more

papers by the same author(s) in the same year should be distinguished by letters, e.g. 'Smith 2004a', 'Smith 2004b' etc. Letters should also distinguish papers by three or more authors with identical first author and year of publication. References should be listed according to the alphabetical order of the first author, always in the order SURNAME XY in which X and Y are initials. If there are more than ten authors, use et al. after the first author. References must contain the title of the article. Names of the journals should be abbreviated without dots or commas. For the correct abbreviations, refer to lists of the major databases in which the journal is indexed or consult the World List of Scientific Periodicals. The abbreviation to be used for the Anais da Academia Brasileira de Ciências is An Acad Bras Cienc. The following examples are to be considered as guidelines for the References.

## REFERENCES

ALBE-FESSARD D, CONDES-LARA M, SANDERSON P AND LEVANTE A. 1984a. Tentative explanation of the special role played by the areas of paleospinothalamic projection in patients with deafferentation pain syndromes. *Adv Pain Res Ther* 6: 167-182.

ALBE-FESSARD D, SANDERSON P, CONDES-LARA M, DELAND-SHEER E, GIUFFRIDA R AND CESARO P. 1984b. Utilisation de la depression envahissante de Leão pour l'étude de relations entre structures centrales. *An Acad Bras Cienc* 56: 371-383.

KNOWLES RG AND MONCADA S. 1994. Nitric oxide synthases in mammals. *Biochem J* 298: 249-258.

PINTO ID AND SANGUINETTI YT. 1984. Mesozoic Ostracode Genus *Theriosynoecum* Branson, 1936 and validity of related Genera. *An Acad Bras Cienc* 56: 207-215.

Books and book chapters

DAVIES M. 1947. An outline of the development of Science. *Thinker's Library*, n. 120. London: Watts, 214 p.

PREHN RT. 1964. Role of immunity in biology of cancer. In: NATIONAL CANCER CONFERENCE, 5., Philadelphia. *Proceedings ...*, Philadelphia: J. B. Lippincott, p. 97-104.

UYTENBOGAARDT W AND BURKE EAJ. 1971. Tables for microscopic identification of minerals, 2nd ed., Amsterdam: Elsevier, 430 p.

WOODY RW. 1974. Studies of theoretical circular dichroism of polipeptides: contributions of B-turns. In: BLOUTS ER ET AL. (Eds), Peptides, polypeptides and proteins, New York: J Wiley & Sons, New York, USA, p. 338-350.

## **CAPÍTULO 2**

### **Author guidelines**

FLORA publishes original contributions and review articles on plant structure (morphology and anatomy), plant distribution (incl. phylogeography) and plant functional ecology (ecophysiology, population ecology and population genetics, organismic interactions, community ecology, ecosystem ecology). Manuscripts (both original and review articles) on a single topic can be compiled in Special Issues, for which suggestions are welcome.

### **PREPARATION**

#### Use of word processing software

It is important that the file be saved in the native format of the word processor used. The text should be in single-column format. Keep the layout of the text as simple as possible. Most formatting codes will be removed and replaced on processing the article. In particular, do not use the word processor's options to justify text or to hyphenate words. However, do use bold face, italics, subscripts, superscripts etc. When preparing tables, if you are using a table grid, use only one grid for each individual table and not a grid for each row. If no grid is used, use tabs, not spaces, to align columns. The electronic text should be prepared in a way very similar to that of conventional manuscripts (see also the Guide to Publishing with Elsevier). Note that source files of figures, tables and text graphics will be required whether or not you embed your figures in the text. See also the section on Electronic artwork. To avoid unnecessary errors you are strongly advised to use the 'spell-check' and 'grammar-check' functions of your word processor. Number pages and lines consecutively throughout the manuscript.

### **Article structure**

#### Subdivision - numbered sections

Divide your article into clearly defined and numbered sections. Subsections should be numbered 1.1 (then 1.1.1, 1.1.2, ...), 1.2, etc. (the abstract is not included in section numbering). Use this numbering also for internal cross-

referencing: do not just refer to 'the text'. Any subsection may be given a brief heading. Each heading should appear on its own separate line.

#### Introduction

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

#### Material and methods

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

#### Theory/calculation

A Theory section should extend, not repeat, the background to the article already dealt with in the Introduction and lay the foundation for further work. In contrast, a Calculation section represents a practical development from a theoretical basis.

#### Results

Results should be clear and concise.

#### Discussion

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

#### Conclusions

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

#### Appendices



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

### **Essential title page information**

- **Title.** Concise and informative. Titles are often used in information-retrieval systems. Avoid abbreviations and formulae where possible.
- **Author names and affiliations.** Please clearly indicate the given name(s) and family name(s) of each author and check that all names are accurately spelled. Present the authors' affiliation addresses (where the actual work was done) below the names. Indicate all affiliations with a lowercase superscript letter immediately after the author's name and in front of the appropriate address. Provide the full postal address of each affiliation, including the country name and, if available, the e-mail address of each author.
- **Corresponding author.** Clearly indicate who will handle correspondence at all stages of refereeing and publication, also post-publication. **Ensure that the e-mail address is given and that contact details are kept up to date by the corresponding author.**
- **Present/permanent address.** If an author has moved since the work described in the article was done, or was visiting at the time, a 'Present address' (or 'Permanent address') may be indicated as a footnote to that author's name. The address at which the author actually did the work must be retained as the main, affiliation address. Superscript Arabic numerals are used for such footnotes.

### **Abstract**

A concise and factual abstract is required. The abstract should state briefly the purpose of the research, the principal results and major conclusions. An abstract is often presented separately from the article, so it must be able to stand alone. For this reason, References should be avoided, but if essential, then cite the author(s) and year(s). Also, non-standard or uncommon abbreviations should be avoided, but if essential they must be defined at their first mention in the abstract itself.

Graphical abstract

Although a graphical abstract is optional, its use is encouraged as it draws more attention to the online article. The graphical abstract should summarize the contents of the article in a concise, pictorial form designed to capture the attention of a wide readership. Graphical abstracts should be submitted as a separate file in the online submission system. Image size: Please provide an image with a minimum of 531 × 1328 pixels (h × w) or proportionally more. The image should be readable at a size of 5 × 13 cm using a regular screen resolution of 96 dpi. Preferred file types: TIFF, EPS, PDF or MS Office files. You can view Example Graphical Abstracts on our information site. Authors can make use of Elsevier's Illustration and Enhancement service to ensure the best presentation of their images and in accordance with all technical requirements: Illustration Service.

#### Highlights

Highlights are mandatory for this journal. They consist of a short collection of bullet points that convey the core findings of the article and should be submitted in a separate editable file in the online submission system. Please use 'Highlights' in the file name and include 3 to 5 bullet points (maximum 85 characters, including spaces, per bullet point). You can view example Highlights on our information site.

#### **Keywords**

Immediately after the abstract, provide a maximum of 6 keywords, using British spelling and avoiding general and plural terms and multiple concepts (avoid, for example, 'and', 'of'). Be sparing with abbreviations: only abbreviations firmly established in the field may be eligible. These keywords will be used for indexing purposes.

#### Abbreviations

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

#### **Nomenclature and taxonomic reference**

If you have a small number of species (or vegetation units), please indicate full names and authorships upon first appearance in the text, and skip authors thereafter. In case of a large number of species names (or vegetation units), refer

to a standard source for nomenclature such as a checklist or a flora. References (in FLORA format) may be added following the keywords, see example below. Do not use author citation for names in the text if they are given in the nomenclature source. **Nomenclature:** Stace (2010) for vascular plants; Hill et al. (2006) for mosses

#### Acknowledgements

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

#### Formatting of funding sources

List funding sources in this standard way to facilitate compliance to funder's requirements: Funding: This work was supported by the National Institutes of Health [grant numbers xxxx, yyyy]; the Bill & Melinda Gates Foundation, Seattle, WA [grant number zzzz]; and the United States Institutes of Peace [grant number aaaa]. It is not necessary to include detailed descriptions on the program or type of grants and awards. When funding is from a block grant or other resources available to a university, college, or other research institution, submit the name of the institute or organization that provided the funding. If no funding has been provided for the research, please include the following sentence: This research did not receive any specific grant from funding agencies in the public, commercial, or not-for-profit sectors.

#### **Artwork**

##### Electronic artwork

##### General points

- Make sure you use uniform lettering and sizing of your original artwork.
- Embed the used fonts if the application provides that option.
- Aim to use the following fonts in your illustrations: Arial, Courier, Times New Roman, Symbol, or use fonts that look similar.
- Number the illustrations according to their sequence in the text.
- Use a logical naming convention for your artwork files.
- Provide captions to illustrations separately.

- Size the illustrations close to the desired dimensions of the published version.
- Submit each illustration as a separate file.

A detailed guide on electronic artwork is available.

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

#### Formats

If your electronic artwork is created in a Microsoft Office application (Word, PowerPoint, Excel) then please supply 'as is' in the native document format. Regardless of the application used other than Microsoft Office, when your electronic artwork is finalized, please 'Save as' or convert the images to one of the following formats (note the resolution requirements for line drawings, halftones, and line/halftone combinations given below):

EPS (or PDF): Vector drawings, embed all used fonts.

TIFF (or JPEG): Color or grayscale photographs (halftones), keep to a minimum of 300 dpi.

TIFF (or JPEG): Bitmapped (pure black & white pixels) line drawings, keep to a minimum of 1000 dpi.

TIFF (or JPEG): Combinations bitmapped line/half-tone (color or grayscale), keep to a minimum of 500 dpi.

#### **Please do not:**

- Supply files that are optimized for screen use (e.g., GIF, BMP, PICT, WPG); these typically have a low number of pixels and limited set of colors;
- Supply files that are too low in resolution;
- Submit graphics that are disproportionately large for the content.

#### Color artwork

Please make sure that artwork files are in an acceptable format (TIFF (or JPEG), EPS (or PDF), or MS Office files) and with the correct resolution. If, together with your accepted article, you submit usable color figures then Elsevier will ensure, at no additional charge, that these figures will appear in color online (e.g., ScienceDirect and other sites) regardless of whether or not these illustrations are reproduced in color in the printed version. **For color reproduction in print, you will receive information regarding the costs from Elsevier after receipt of**

**your accepted article.** Please indicate your preference for color: in print or online only. Further information on the preparation of electronic artwork.

#### Figure captions

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

#### Tables

Please submit tables as editable text and not as images. Tables can be placed either next to the relevant text in the article, or on separate page(s) at the end. Number tables consecutively in accordance with their appearance in the text and place any table notes below the table body. Be sparing in the use of tables and ensure that the data presented in them do not duplicate results described elsewhere in the article. Please avoid using vertical rules and shading in table cells.

#### References

##### Citation in text

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

##### Web references

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

## Data references

This journal encourages you to cite underlying or relevant datasets in your manuscript by citing them in your text and including a data reference in your Reference List. Data references should include the following elements: author name(s), dataset title, data repository, version (where available), year, and global persistent identifier. Add [dataset] immediately before the reference so we can properly identify it as a data reference. The [dataset] identifier will not appear in your published article.

## References in a special issue

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

## Reference management software

Most Elsevier journals have their reference template available in many of the most popular reference management software products. These include all products that support Citation Style Language styles, such as Mendeley and Zotero, as well as EndNote. Using the word processor plug-ins from these products, authors only need to select the appropriate journal template when preparing their article, after which citations and bibliographies will be automatically formatted in the journal's style. If no template is yet available for this journal, please follow the format of the sample references and citations as shown in this Guide. Users of Mendeley Desktop can easily install the reference style for this journal by clicking the following link: <http://open.mendeley.com/use-citation-style/flora>. When preparing your manuscript, you will then be able to select this style using the Mendeley plugins for Microsoft Word or LibreOffice.

## Reference style

Text: All citations in the text should refer to:

1. Single author: the author's name (without initials, unless there is ambiguity) and the year of publication;
2. Two authors: both authors' names and the year of publication;
3. Three or more authors: first author's name followed by 'et al.' and the year of publication. Citations may be made directly (or parenthetically). Groups of references should be listed first alphabetically, then chronologically. Examples:

'as demonstrated (Allan, 2000a, 2000b, 1999; Allan and Jones, 1999). Kramer et al. (2010) have recently shown ....'

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

Examples:

Reference to a journal publication: Van der Geer, J., Hanraads, J.A.J., Lupton, R.A., 2010. The art of writing a scientific article. *J. Sci. Commun.* 163, 51–59.

Reference to a book: Strunk Jr., W., White, E.B., 2000. *The Elements of Style*, fourth ed. Longman, New York.

Reference to a chapter in an edited book: Mettam, G.R., Adams, L.B., 2009. How to prepare an electronic version of your article, in: Jones, B.S., Smith, R.Z. (Eds.), *Introduction to the Electronic Age*. E-Publishing Inc., New York, pp. 281–304.

Reference to a website: Cancer Research UK, 1975. Cancer statistics reports for the UK. <http://www.cancerresearchuk.org/aboutcancer/statistics/cancerstatsreport/> (accessed 13.03.03).

Reference to a dataset: [dataset] Oguro, M., Imahiro, S., Saito, S., Nakashizuka, T., 2015. Mortality data for Japanese oak wilt disease and surrounding forest compositions. *Mendeley Data*, v1. <http://dx.doi.org/10.17632/xwj98nb39r.1>.

Journal abbreviations source

Journal names should be abbreviated according to the List of Title Word Abbreviations.

### **Supplementary material**

Supplementary material such as applications, images and sound clips, can be published with your article to enhance it. Submitted supplementary items are published exactly as they are received (Excel or PowerPoint files will appear as such online). Please submit your material together with the article and supply a concise, descriptive caption for each supplementary file. If you wish to make changes to supplementary material during any stage of the process, please make sure to provide an updated file. Do not annotate any corrections on a previous version. Please switch off the 'Track Changes' option in Microsoft Office files as these will appear in the published version.

## **CAPÍTULO 3**

### **INSTRUÇÕES AOS AUTORES REVISTA DE CIÊNCIAS AGRO-AMBIENTAIS**

Somente serão aceitos para publicação trabalhos científicos originais, revisões bibliográficas, notas científicas, ainda não publicadas nem encaminhadas à outra revista para o mesmo fim, escritos em Português, Inglês e Espanhol. Trabalhos de graduação ou monografias serão aceitos desde que acompanhado por um professor. Os trabalhos com mais de um autor devem vir acompanhados de carta de encaminhamento assinada pelos autores (modelo disponível no endereço eletrônico [www.unemat.br/revistas/rcaa](http://www.unemat.br/revistas/rcaa)), informando que o artigo é inédito e não foi submetido à apreciação de outro periódico. Os artigos devem ser encaminhados eletronicamente ao Editor Chefe Prof. Oscar Mitsuo Yamashita no endereço [rcaa@unemat.br](mailto:rcaa@unemat.br).

O artigo submetido é analisado pela comissão editorial, podendo ser devolvido ao autor(es) para adequações às normas da revista ou simplesmente negado por falta de mérito ou perfil. Quando aprovado pelos editores, o artigo será encaminhado para três revisores, que emitirão seu parecer científico. Caberá ao(s) autor(es) atender às sugestões e recomendações dos revisores; caso não possam atender na sua totalidade, deverá(ão) justificar ao Conselho Editorial da Revista.

São de exclusiva responsabilidade dos autores as opiniões e conceitos nos trabalhos. Contudo, o Conselho Editorial, com assistência dos Editores Associados e do corpo de Assessores Científicos, reserva-se o direito de sugerir ou solicitar modificações aconselháveis ou necessárias.

#### **Na elaboração dos artigos, deverão ser atendidas as seguintes normas:**

Os trabalhos devem ser digitados em espaço 1,5 e com as margens superior, inferior, direita e esquerda de 3,0 cm; o texto será escrito na seqüência, intercalando Tabelas e Figuras no próprio corpo do texto. As páginas com texto não deverão exceder 36 linhas em papel tamanho A4, utilizando fonte Arial tamanho 12. O texto não deve exceder um total de 20 laudas para artigos científicos, 25 para revisão bibliográfica e 8 para notas, incluindo as ilustrações (Figuras e Tabelas).



### **Para a digitação do trabalho utilizar o editor de texto Word for Windows.**

A redação dos trabalhos deve ser a mais concisa possível, com a linguagem no passado impessoal. Siglas e abreviaturas dos nomes de instituições, ao aparecerem pela primeira vez no trabalho, serão colocadas entre parêntese e precedidas do nome por extenso.

Todas as tabelas e todas as figuras serão mencionadas no texto. No RESUMO, e ABSTRACT serão evitados os parágrafos, bem como a apresentação de dados em colunas ou em quadros e a inclusão de citações bibliográficas.

As Revisões de Literatura deverão consistir na reflexão e análise de pesquisa bibliográfica que reflete o estado da arte de determinada área do conhecimento ou subárea.

As Notas Científicas consistem num artigo curto, relatando resultados preliminares de pesquisa.

Filiação institucional e endereço dos autores: relatar, por extenso, o nome da instituição a que o autor está vinculado, por ordem de hierarquia crescente, como Departamento (ou laboratório, ou seção), Unidade (faculdade, escola, centro, instituto, núcleo), Instituição (universidade, secretaria, empresa); em seguida, o CEP (Código de Endereçamento Postal), local e o Estado. Não usar abreviações do nome de instituições nem traduzir seu nome, no caso de publicação em espanhol ou inglês. Todos os elementos do mesmo endereço são separados por vírgula; entre endereços o separador é o ponto-e-vírgula. Indicar o autor principal para correspondência e acrescentar o e-mail.

### **Os trabalhos (artigos e notas) devem ser organizados, na seqüência:**

Título em português; Nome(s) do(s) autor(es); Titulação, vinculação e endereço postal e eletrônico dos autores; Resumo em português: devendo informar os objetivos, a metodologia, os resultados e a conclusão; Palavras-chave em português; Título em inglês; Resumo em língua estrangeira (Abstract); Palavras-chave em língua estrangeira (Key words); Introdução, incluindo a revisão de literatura; Material e Métodos; Resultados e Discussão; Conclusão; Agradecimento (opcional); Referências Bibliográficas.

A revisão bibliográfica deverá conter os seguintes tópicos: Título em português; Resumo em português; Título em inglês; Resumo em língua estrangeira (Abstract); Palavras-chave em língua estrangeira (Key words); Introdução; Desenvolvimento; Conclusão; Referências Bibliográficas.

**Citações no texto.** As citações de autores, no texto, são feitas pelo sobrenome com apenas a primeira letra em maiúsculo, seguida do ano da publicação. No caso de dois autores, são incluídos os sobrenomes de ambos, intercalados por “&”, havendo mais de dois autores, é citado apenas o sobrenome do primeiro, seguido de “et al.”. A citação no texto seguirá o sistema autorano, devendo-se obedecer a seguinte ordem: - o autor não consultado deve aparecer em primeiro lugar (data de publicação) seguido da expressão “citado por” e o sobrenome do autor da obra consultada, seguido da data de publicação. No caso de duas ou mais obras do(s) mesmo(s) autor (es), publicadas no mesmo ano, elas devem ser identificadas por letras minúsculas (a,b,c, etc.), colocadas imediatamente após o ano de publicação.

**Referências Bibliográficas:** Devem ser apresentadas em ordem alfabética pelo sobrenome do autor ou do primeiro autor, sem numeração; mencionar todos os autores dos trabalhos separados por “ ; ” . Normalizar estilo ABNT-nbr 6023 – 2002, de acordo com as instruções normativas da revista. Alguns exemplos são apresentados a seguir:

#### **Artigos de Periódicos**

FARIAS NETO, J.T.; CASTRO, A.W.V.; MOCHIUTTI, S. Eficiência da seleção combinada no melhoramento genético do taxi-branco (*Sclerolobium paniculatum* Vogel.). Acta Amazônica, Manaus, v.28, n.2, p.147-152, 1998.

#### **Artigos de Anais ou Resumos:**

ANDREOLI, D.M.C.; GROTH, D.; RAZERA, L.F. Qualidade fisiológica de sementes de café *Coffea canephora* L. cv. Guarani após secagem natural e artificial. In: CONGRESSO BRASILEIRO DE ENGENHARIA AGRÍCOLA, 20., 1991, Londrina. Anais... Londrina: SBEA/IAPAR/Universidade de Londrina, 1991. v.2, p.1453-1466.

#### **Livros:**

FINGER, C.A.G. Fundamentos de biometria florestal. Santa Maria: UFSM/CEPEF/FATEC, 1992. 269p.

**Capítulo de livro:**

ROBERTS, E.H.; KING, M.W.; ELLIS, R.H. Recalcitrant seeds: their recognition and storage. In: HOLDEN, J.H.W.; WILLIAMS, J.F. (eds.) Crop genetic resources: conservation and evaluation. London: Allen and Unwin, 1984, p.38-52.

**Dissertações ou Teses:**

SOUSA, S.G.A. de. Dinâmica de plantas invasoras em sistemas agro-florestais implantados em pastagens degradadas na Amazônia Central (região de Manaus-AM). 1995. 105f. Dissertação (Mestrado em Ciências Florestais) – Escola Superior de Agricultura “Luiz de Queiroz”, Universidade de São Paulo, Piracicaba.

**Publicações com autoria desconhecida:**

NOVAS técnicas – Revestimento de sementes facilita o plantio. Globo Rural, Rio de Janeiro, v.9, n.107, p.7-9, 1994.

**Artigos de revista não científica:**

KRZYZANOWSKI, F.C.; FRANÇA-NETO, J.B.; HENNING, A.A. Relato dos testes de vigor para as grandes culturas. Informativo ABRATES, Londrina, v.1, n.2, p.15-50, 1991.

**Leis, Decretos, Portarias:**

País ou Estado. Lei, Decreto, ou Portaria nº .../ano, (dia) (mês) (ano). Órgão que publicou (Secretaria da..., ou Ministério da .... Diário Oficial da União) (ou do Estado), local de publicação, data mês e ano. Seção.... p.....

**Relatório Técnico:**

FRANÇA-NETO, J.B.; HENNING, A.A.; COSTA, N.P. Estudo da deterioração da semente de soja no solo. In: RESULTADOS DE PESQUISA DE SOJA 1984/85. Londrina: EMBRAPA/CNPSo, 1985. P.440-445.

**Documentos eletrônicos:**Artigo de periódico

BYRNE, D.N. Migration and dispersal by the sweet potato whitefly, *Bemisia tabaci*. Agricultural and Forest Meteorology, v.97, n.2, p.309-316, 1999. Disponível em: [www.elsevier.com/locate/agrformet](http://www.elsevier.com/locate/agrformet). Acesso em: 10 fev. 2003.

Bases de dados

VENTURINI FILHO, W.G.; NOJIMOTO, T. Utilization of the wet milling malt steep water as raw material on brewing. Ciência e Tecnologia de Alimentos, Campinas,

v.19, n.2, p.174-178. 1999. In: FSTA, 1990/2001. Accession 2000-11-H2363. Disponível em: <http://sedes-sapientiae.cgb.unesp.br>. Acesso em: 14 jun. 2001.

Tabelas. As tabelas numeradas consecutivamente com algarismo arábicos, recebendo a denominação de TABELA, devem ser encabeçadas por um título conciso e claro, com letras minúsculas, não devendo ser usadas linhas verticais para separar colunas. Quando for o caso, as tabelas deverão ter indicação de fonte.

Figuras. As figuras (gráficos, desenhos, mapas ou fotografias), recebendo a denominação de FIGURA, devem ser numeradas consecutivamente em algarismos arábicos e devem, obrigatoriamente, ser digitadas em programas compatíveis com WORD FOR WINDOWS. As fotos devem ser enviadas em formato JPEG com, no mínimo 300 dpi de resolução e no máximo 15 cm de largura e 20 cm de comprimento, e os gráficos no Microsoft Excel ou no formato de fotos. Imagens coloridas só serão publicadas em casos de absoluta necessidade e a critério da comissão editorial.

**Os artigos que não se enquadrarem nas normas acima descritas, na sua totalidade ou em parte, serão devolvidos e perderão a prioridade da ordem seqüencial de publicação.**

## CAPÍTULO 4

### Instruções aos autores

A Brazilian Journal of Botany (BJBot), periódico editado pela Sociedade Botânica de São Paulo (SBSP), publica artigos originais de pesquisa completos e notas científicas em Ciências Vegetais, em Inglês.

Preparar todo o manuscrito com numeração sequencial das páginas incluindo tabelas e ilustrações utilizando: Word for Windows versão 2000 ou superior; fonte Times New Roman, tamanho 12 e espaçamento duplo. Deixar apenas um espaço entre as palavras e não hifenizá-las. Usar tabulação (tecla Tab) apenas no início de parágrafos. Não usar negrito ou sublinhado. Usar itálico apenas para nomes científicos, palavras e expressões em latim ou em outra língua (exceto nomes e designações de localidades), descrições ou diagnoses de táxons novos, nomes e números de coletores, além de casos mais específicos, como genética e estatística.

#### Formato do manuscrito

**Primeira página** - Título: conciso e informativo (em negrito, centralizado e apenas com as iniciais maiúsculas); nome completo do(s) autor(es) (em maiúsculas); filiação, endereço completo, autor para correspondência e respectivo e-mail como nota de rodapé; título resumido. Auxílios, bolsas recebidas e números de processos, quando for o caso, devem ser referidos no item Acknowledgements.

**Texto** - Iniciar em nova página colocando sequencialmente: **Introduction, Material and methods, Results / Discussion, Acknowledgments and References**. Citar cada figura e tabela no texto em ORDEM NUMÉRICA CRESCENTE. Colocar as citações bibliográficas de acordo com os exemplos: Smith (1960) / (Smith 1960); Smith (1960, 1973); Smith (1960a, b); Smith & Gomez (1979) / (Smith & Gómez 1979); Smith et al. (1990) / (Smith et al. 1990); (Smith 1989, Liu & Barros 1993, Araujo et al. 1996, Sanches 1997). Em trabalhos taxonômicos, detalhar as citações de material botânico, incluindo ordenadamente: local e data de coleta, nome e número do coletor e sigla do herbário, conforme os modelos a seguir: BRASIL. MATO GROSSO: Xavantina, s.d., H.S. Irwin s.n. (HB3689). SÃO PAULO: Amparo, 23-XII-1942, J.R. Kuhlmann & E.R. Menezes 290 (SP); Matão, ao longo da BR 156, 8-VI-1961, G. Eiten et al. 2215 (SP, US). Nos demais tipos de trabalhos os materiais-testemunho devem ser referidos. Os nomes de autores de táxons de plantas vasculares devem ser abreviados seguindo Brummit & Powell (1992), colocando espaços após cada ponto, como ex.: *Brassica nigra* (L.) W. D. J. Koch. O(s) nome(s) do(s) autor(es) em nível de espécie ou abaixo deve(m) ser citado(s) no Abstract e na primeira vez que aparece(m) no texto e opcionalmente no título. Abreviaturas de obras em trabalhos taxonômicos devem seguir o BPH. Citar referências a resultados não publicados ou trabalhos submetidos da seguinte forma: (S.E. Sanchez, unpublished data) Citar números e unidades da seguinte forma:

- Escrever números até nove por extenso, a menos que sejam seguidos de unidades ou indiquem numeração de figuras ou tabelas.
- Separar as unidades dos valores por um espaço (exceto para porcentagens ou para graus, minutos e segundos de coordenadas geográficas); utilizar abreviações sempre que possível.

- Utilizar, para unidades compostas, exponenciação e não barras (Ex.: mg day<sup>-1</sup> nunca mg/day, ?mol min<sup>-1</sup> nunca ?mol/min). **Não inserir espaços** para mudar de linha, caso a unidade não caiba na mesma linha. **Não inserir figuras no arquivo do texto.**

**Referências bibliográficas** - Indicar ao lado da referência a(s) página(s) onde a mesma foi citada, em todas as versões que forem enviadas.

Adotar o formato apresentado nos seguintes exemplos:

ZAR, J.H. 1999. Biostatistical analysis. 4th ed., Prentice Hall, Upper Saddle River. YEN, A.C. & OLMSTEAD, R.G. 2000. Phylogenetic analysis of Carex (Cyperaceae): generic and subgeneric relationships based on chloroplast DNA. In Monocots: Systematics and evolution (K.L. Wilson & D.A. Morrison, eds.). CSIRO Publishing, Collingwood, p.602-609.

BENTHAM, G. 1862. Leguminosae. Dalbergiae. In Flora brasiliensis (C.F.P. Martius & A.G. Eichler, eds.). F. Fleischer, Lipsiae, v.15, pars 1, p.1-349.

DÖBEREINER, J. 1998. Função da fixação de nitrogênio em plantas não leguminosas e sua importância no ecossistema brasileiro. In Anais do IV Simpósio de Ecossistemas Brasileiros (S. Watanabe, coord.). Aciesp, São Paulo, v.3, p.1-6.

FARRAR, J.F., POLLOCK, C.J. & GALLAGHER, J.A. 2000. Sucrose and the integration of metabolism in vascular plants. Plant Science 154:1-11.

PUNT, W., BLACKMORE, S., NILSSON, S. & LE THOMAS, A. 1999. Glossary of pollen and spore terminology. <http://www.biol.ruu.nl/~palaeo/glossary/glosint.htm> (accessed 2003 Apr 10).

Citar dissertações ou teses **somente em caráter excepcional**, quando as informações nelas contidas forem imprescindíveis para o entendimento do trabalho e quando não estiverem publicadas na forma de artigos científicos. Nesse caso, utilizar o seguinte formato:

SANO, P.T. 1999. Revisão de Actinocephalus (Koern.) Sano - Eriocaulaceae. Tese de doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo. Não citar resumos de congressos.

### **Tabelas**

Usar os recursos de criação e formatação de tabela do Word for Windows. Evitar abreviações (exceto para unidades).

Colocar cada tabela em página separada e o título na parte superior conforme exemplo:

Table 1. Total flavonoids and total phenol production (% of dry mass) in leaves of *Pyrostegia venusta*. Não inserir linhas verticais; usar linhas horizontais apenas para destacar o cabeçalho e para fechar a tabela.

### **Figuras**

Enviar ilustrações em pranchas (fotos ou desenhos, gráficos, mapas, esquemas) no **tamanho máximo de 23,0 x 17,5 cm**, incluindo preferencialmente o espaço necessário para a legenda. Não serão aceitas figuras que ultrapassem o tamanho estabelecido ou que apresentem qualidade gráfica ruim. **Figuras devem ser geradas com pelo menos 600 dpi de resolução, salvas no programa utilizado (CorelDraw, Photoshop) e, também, em .tif e nunca devem ser coladas no MS Word ou no Power Point.** Gráficos ou outras figuras que possam ser publicados em uma única coluna (8,5 cm) serão reduzidos; atentar, portanto, para o tamanho de números ou letras, para que continuem visíveis após a redução. Tipo e tamanho da fonte, tanto na legenda quanto no

gráfico, deverão ser os mesmos utilizados no texto. Gráficos e figuras confeccionados em planilhas eletrônicas devem vir acompanhados do arquivo com a planilha original. Colocar cada prancha em página separada e o conjunto de legendas das figuras, sequencialmente, em outra(s) página(s). Utilizar escala de barras para indicar tamanho. A escala, sempre que possível, deve vir à esquerda da figura; o canto inferior direito deve ser reservado para O(S) NÚMERO(S) DA(S) FIGURA(S). Letras devem ser utilizadas somente para legenda interna. O não cumprimento de todas as exigências acima, referentes ao envio das figuras/imagens, poderá implicar em má qualidade na impressão final e nestes casos o comitê editorial poderá decidir pela rejeição, mesmo de manuscritos anteriormente aceitos. Sempre que houver dúvida consulte o fascículo mais recente da RBB. O trabalho somente receberá data definitiva de aceite após aprovação pelo Corpo Editorial, tanto em relação ao mérito científico quanto ao formato gráfico. Para maiores informações enviar e-mail para [rbbot@ig.com.br](mailto:rbbot@ig.com.br)