

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
FFCLRP - DEPARTAMENTO DE BIOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOLOGIA COMPARADA

Palinotaxonomia em Espécies Brasileiras de *Beslerieae* Bartl. e *Napeantheae* Wiehler
(*Gesneriaceae*) – caracteres evolutivos e influência fitogeográfica

Talita Kely Belonsi

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de
São Paulo, como parte das exigências para a obtenção do
título de Mestre em Ciências, Área: BIOLOGIA
COMPARADA.

RIBEIRÃO PRETO – SP
2018

TALITA KELY BELONSI

Palinotaxonomia em Espécies Brasileiras de *Beslerieae* Bartl. e *Napeantheae* Wiehler
(*Gesneriaceae*) – caracteres evolutivos e influência fitogeográfica

Versão Original

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia,
Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de
São Paulo, como parte das exigências para a obtenção do
título de Mestre em Ciências, Área: BIOLOGIA
COMPARADA.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Custódio Gasparino

RIBEIRÃO PRETO
2018

Autorizo a reprodução e divulgação total ou parcial deste trabalho, por qualquer meio convencional ou eletrônico, para fins de estudo e pesquisa, desde que citada a fonte.

Belonsi, Talita Kely

Palinotaxonomia em Espécies Brasileiras de *Beslerieae* Bartl. *Napeantheae* Wiehler (Gesneriaceae) – caracteres evolutivos e influência fitogeográfica. Ribeirão Preto, 2018.

88 p.: il.; 30 cm

Dissertação de Mestrado, apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto/USP. Área de concentração: Biologia Comparada.

Orientador: Gasparino, Eduardo Custódio.

Nome: BELONSI, Talita Kely

Título: Palinotaxonomia em Espécies Brasileiras de Beslerieae Bartl. e Napeantheae Wiehler (Gesneriaceae) – caracteres evolutivos e influência fitogeográfica

Dissertação apresentada à Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo para obtenção do título de Mestre em Ciências, área de concentração: Biologia Comparada.

Aprovado em: ___/___/___

Banca Examinadora

Prof (a). Dr(a).: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof (a). Dr(a).: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Prof (a). Dr(a).: _____

Instituição: _____

Julgamento: _____

Aos meus pais, Leontina Barbieri Belonsi e Paulo Henrique Belonsi, por ser tão são
extraordinários!
Dedico.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente agradeço a DEUS, por ter me capacitado para chegar até aqui, por ser essencial e insubstituível em minha vida, Autor do meu destino e meu Guia. “Pode alguém até duvidar/ Sei que há um Deus a me guardar/ E eu, tão pequeno e frágil, querendo Sua atenção/ No silêncio encontro resposta certa, então/ Dono de toda ciência, sabedoria e poder/ Oh, dá-me de beber da água da fonte da vida/ Antes que o haja houvesse/ Ele já era Deus/ Se revelou ao seus/ Do crente ao ateu/ Ninguém explica Deus”.

A minha querida família, meus pais Paulo Henrique e Leontina e minha querida irmã, Paula Fernanda. Vocês são minha base, meus exemplos, obrigada por me apoiarem e acreditarem nos meus sonhos. (Incluo aqui também a Pandora e as minhas pets que não estão mais entre nós, Lessy e Nicole). Um parágrafo é insignificante para demonstrar toda minha gratidão e amor por vocês.

Ao meu querido orientador, Prof. Dr. Eduardo Custódio Gasparino, em quem não tenho apenas o respeito e carinho, mas também grande admiração profissional e pessoal. Agradeço por ser uma pessoa tão incrível, de tão bom coração, por acreditar em mim, pela paciência, dedicação, apoio, compreensão, pelos conselhos e por me permitir conhecer a Palinologia e me apaixonar pela Ciência e Pesquisa. Sou infinitamente grata por tudo!

As minhas amigas tão especiais Fernanda e Mirela (Dilá). Obrigada por aguentarem firme comigo em todos os momentos, vocês são minhas irmãs de alma! Minhas queridas amigas da BIO012(2 ou Glorinha Kalil, rs) que ainda continuam junto a mim, em especial Júlia e Jéssica. Todas vocês foram extremamente essenciais desde meus primeiros dias em Jaboticabal, obrigada por tudo! Sempre lembrarei de todas as nossas histórias com muito carinho. Amo vocês! (Bora tomar um café da tarde?).

Todas as minhas amigas de infância da minha cidade natal, Viradouro. Em especial, Carol Sorrente, Carol Januário, Naty, Noemi e Thaís, obrigada pelas orações e por muitas vezes, mesmo sem entender meus projetos, nunca deixaram de me apoiar, se interessar e me incentivar. Por todos os anos de amizade sincera e verdadeira, vocês são pessoas que quero ter ao meu lado a vida toda. Amo vocês!

Minha companheira de apartamento de longa data, Ana Flávia (Végi) e as minhas ex-companheiras Ana Paula (Coró) e Rachel (Poá), todas fundadoras da minha primeira família em Jabuka. Obrigada meninas, por terem me acolhido com carinho e atenção desde o início. Pela dedicação em me ensinar tanto coisas da faculdade como da vida. Virão como eu cresci desde então? Hoje me torno uma mestra, rs! Vocês serão sempre minha família. Amo muito vocês!

Ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Comparada da Universidade de São Paulo que me deu a oportunidade e todo o auxílio para me tornar mestra. A todos os docentes e funcionários da Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto (FFCLRP – USP), em especial a Vera, por ser tão solícita e sempre nos receber com um grande sorriso no rosto (isso sempre fez toda a diferença nos meus longos dias na USP).

A Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (FCAV – UNESP), meu berço, local aonde me graduei em Ciências Biológicas. Ao Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária, na qual minha dissertação foi desenvolvida. Ao Laboratório de Microscopia Eletrônica de Varredura e a sua técnica responsável, Cláudia, por se atenciosa e ter toda paciência nas 17 horas em frente ao MEV.

Ao Laboratório de Morfologia Vegetal e Palinologia, a nossa técnica Roseli, e as minhas companheiras de laboratório (incluindo o Eduardo, rs). Obrigada por serem tão colaborativas e por contribuírem, com todos os conhecimentos compartilhados, para que eu conseguisse chegar ao fim de mais uma etapa da minha vida acadêmica. Obrigada também pelos bons momentos nas viagens dos Congressos. Agradeço em especial a mestranda Ana (Topera) e as doutorandas Cíntia e Lorryne (Sacumé). Vocês são pessoas incríveis e são muito importantes para mim! Sempre muito solícitas, pacientes e dispostas a passar todo o conhecimento aos mais novos do laboratório. Me espelho nas profissionais que vocês são!

Ao Dr. Gabriel E. Ferreira pelos conhecimentos compartilhados sobre as *Besleria*. Ao Instituto Nacional de Pesquisas Amazônicas – INPA, aos herbários SP e MBM que me permitiram coletar o material herborizado das espécies de Gesneriaceae.

E a todos aqueles que de certa forma contribuíram para que eu pudesse concluir mais uma etapa da minha vida acadêmica.

A todos, minha enorme gratidão!

“acima de tudo ame
como se fosse a única coisa que você sabe fazer
no fim do dia isso tudo
não significa nada
esta página
onde você está
seu diploma
seu emprego
o dinheiro
nada importa
exceto o amor e a conexão entre as pessoas
quem você amou
e com que profundidade você amou
como você tocou as pessoas à sua volta
e quando você se doou a elas.”

(KAUR, 2017, p. 194)

RESUMO

BELONSI, Talita Kely. **Palinotaxonomia em Espécies Brasileiras de Beslerieae Bartl. e Napeantheae Wiehler (Gesneriaceae) – caracteres evolutivos e influência fitogeográfica.** 2018. 88f. Dissertação (Mestrado em Ciências, área de concentração: Biologia Comparada) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

Foram estudadas a morfologia polínica de 20 espécies de Beslerieae Bartl. (*Anetanthus*, *Besleria* e *Tylopsacas*) e quatro espécies de Napeantheae Wiehler (*Napeanthus*), nativas no território brasileiro e encontradas principalmente nos biomas da Amazônia e/ou Mata Atlântica. O objetivo deste trabalho é contribuir com a caracterização morfológica das espécies, identificando dados polínicos que possam auxiliar na taxonomia do grupo, ampliando desta forma os conhecimentos sobre a diversidade polínica nos gêneros estudados e fornecendo subsídios para o melhor entendimento das relações entre as tribos brasileiras de Gesneriaceae e da evolução dos caracteres polínicos nestes gêneros. Também foi discutida a relação entre a morfologia polínica de *Besleria* e sua distribuição fitogeográfica. O material analisado foi obtido a partir de espécimes depositados nos herbários INPA, SP e MBM. Os grãos de pólen foram acetolisados, medidos, fotografados em microscopia óptica, microscopia eletrônica de varredura e transmissão e descritos qualitativamente. Os dados quantitativos foram analisados por meio de estatísticas descritiva e multivariada. Os grãos de pólen são mônades; isopolares; de tamanho pequeno; com grande variação de forma, podendo ser, oblatos, suboblatos, oblatos-esferoidais, prolotos-esferoidais, subprolotos ou prolotos; âmbitos circulares, circulares-lobados, subcirculares a subtriangulares. As aberturas são 3-colpadas, 3-(4) colpadas ou 3-colporadas; colpos longos, curtos ou muito curtos; estreitos a largos; extremidades afiladas ou arredondadas, algumas vezes possuindo margem, colpo constricto ou membrana ornamentada; endoabertura predominantemente lolongada, as vezes circulares. Ornamentação da exina fossulada, microrreticulada, microrreticulada-rugulada, microrreticulada-fossulada, rugulada, rugulada-perfurada. Exina variando de muito fina, fina a espessa, sexina sempre mais espessa que a nexina. Variações no tipo de abertura e nos padrões da ornamentação da exina dos grãos de pólen contribuíram para a distinção das espécies estudadas e confirmam o caráter euripolínico de Beslerieae e Napeantheae.

Palavras-chave: *Anetanthus*, *Besleria*, Gesneriaceae, grãos de pólen, morfologia polínica, *Napeanthus*, palinologia, *Tylopsacas*.

ABSTRACT

BELONSI, Talita Kely. **Palynotaxonomy in Brazilian Species of Beslerieae Bartl. and Napeantheae Wiehler (Gesneriaceae) - evolutionary and phylogeographical characters.** 2018. 88f. Dissertação (Mestrado em Ciências, área de concentração: Biologia Comparada) – Faculdade de Filosofia, Ciências e Letras de Ribeirão Preto, Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

The pollen morphology of 24 Brazilian species of Beslerieae Bartl. (*Anetanthus*, *Besleria* and *Tylopsacas*) and Napeantheae Wiehler (*Napeanthus*) was studied, these species are native to the Amazon and / or Atlantic Forest biomes. The objective of this study is to contribute to the morphological characterization of the species, identifying pollen data that may help in the taxonomy of the group, thus increasing the knowledge about the pollen diversity and evolution in the studied genera and providing subsidies for a better understanding of the relations between the Brazilian tribes of Gesneriaceae. Also we discussed the relationship between the pollen morphology of *Besleria* and its phylogeographic distribution. The material analyzed was obtained from specimens deposited in the INPA, SP and MBM herbaria. The pollen grains were acetolysed, measured, photographed under light microscopy, scanning and transmission electron microscopy and described qualitatively. Quantitative data were analyzed using descriptive and multivariate statistics. The pollen grains are monads; isopolar; small size; with variation in shape, oblate, suboblate, oblate-spheroidal, prolate-spheroidal, subprolate or prolate; circular, circular-lobed, subcircular to subtriangular amb. The apertures are 3-colpate, 3-(4) colpate or 3-colporate; long, short or very short colpi and narrow to wide; with or without margo, rounded or tapered at the polar ends, sometimes constricted or with ornate membrane; endoapertures lolongate or circular. Exine fossulate, microrreticulate, microreticulate-rugulate, microreticulate-fossulate, rugulate, rugulate-perforate. Very thin, thin to thick exine, sexine always thicker than nexin. Variations in the type of aperture and patterns of exine ornamentation of the pollen grains contributed to the distinction of the species studied and confirmed the eurypalynous character of Beslerieae and Napeantheae.

Keywords: *Anetanthus*, *Besleria*, Gesneriaceae, *Napeanthus*, palynology, pollen grains, pollen morphology, *Tylopsacas*.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Distribuição no Brasil das espécies das Tribos Beslerieae Bartl. e Napeantheae Wiehler.....26
- Figura 2- Fotomicrografias dos grãos de pólen das espécies brasileiras da Tribo Beslerieae Bartl. A-D: *Anetanthus gracilis* Hiern. E-H: *Besleria aggregata* (Mart.) Hanst. I-L: *Besleria barclayi* L. E. Skog. M-O': *Besleria brevicalyx* G.E.Ferreira & Chautems.....46
- Figura 3- Fotomicrografias dos grãos de pólen das espécies brasileiras da Tribo Beslerieae Bartl. A-E': *Besleria diabolica* G.E. Ferreira & Chautems. F-I: *Besleria flavo-virens* Nees & Mart. J-L': *Besleria fluminensis* Brade. M-O: *Besleria gibbosa* (Poepp.) Hanst.....47
- Figura 4- Fotomicrografias dos grãos de pólen das espécies brasileiras da Tribo Beslerieae Bartl. A-D: *Besleria grandifolia* Schott. E-G: *Besleria iara* G. E. Ferreira & M. J. G. Hopkins. H-J: *Besleria laxiflora* Benth. K-O': *Besleria longimucronata* Hoehne.....48
- Figura 5- Fotomicrografias dos grãos de pólen das espécies brasileiras da Tribo Beslerieae Bartl. A-D: *Besleria macahensis* Brade. E-G- *Besleria melancholica* (Vell.) C.V.Morton. H-K: *Besleria meridionalis* C.V.Morton. L-O: *Besleria neblinae* Feuillet.....49
- Figura 6- Fotomicrografias dos grãos de pólen das espécies brasileiras da Tribo Beslerieae Bartl. A-D: *Besleria parviflora* L.E.Skog & Steyerl. E-H': *Besleria selloana* Klotzsch & Hanst. I-K: *Besleria solanoides* Kunth. L-O': *Tylopsacas cuneatum* (Gleason) Leeuwenb....50
- Figura 7 - Fotomicrografias dos grãos de pólen das espécies de *Napeanthus* Gardner. A-C': *Napeanthus jelskii* Fritsch. D-F': *Napeanthus macrostoma* Leeuwenb. G-J': *Napeanthus primulifolius* (Raddi) Sandwith. K-L: *Napeanthus reitzii* (L.B. Sm.) B.L. Burt ex Leeuwenb.....51
- Figura 8 – Eletromicrografias (MEV) dos grãos de pólen das espécies de *Besleria* Plum. ex L. A-*Besleria aggregata* (Mart.) Hanst. B- *Besleria barclayi* L. E. Skog. C-E: *Besleria brevicalyx* G.E.Ferreira & Chautems. F-H: *Besleria gibbosa* (Poepp.) Hanst. I-L: *Besleria grandifolia* Schott. M-O: *Besleria laxiflora* Benth.....52

Figura 9 – Eletromicrografias (MEV) dos grãos de pólen das espécies de *Besleria* Plum. ex L. A-C: *Besleria meridionalis* C.V.Morton. D-E: *Besleria parviflora* L.E.Skog & Steyerm. F-H: *Besleria selloana* Klotzsch & Hanst. I-J: *Besleria solanoides* Kunth. K-L: *Besleria grandifolia* Schott. M- *Besleria longimucronata* Hoehne. N- *Besleria selloana* Klotzsch & Hanst.....53

Figura 10 – Eletromicrografias (MEV) dos grãos de pólen das espécies de *Napeanthus* Gardner. A-C: *Napeanthus jelskii* Fritsch. D-E: *Napeanthus macrostoma* Leeuwenb. F-H: *Napeanthus primulifolius* (Raddi) Sandwith.....54

Figura 11 - Representação gráfica da média e dos intervalos de confiança da média a 95% das medidas dos grãos de pólen das espécies brasileiras das Tribos Beslerieae Bartl. e Napeantheae Wiehler.....56

Figura 12 - Ordenação pela Análise de Componentes Principais das espécies brasileiras das Tribos Beslerieae Bartl. e Napeantheae Wiehler em função das variáveis métricas dos grãos de pólen.....62

Figura 13 - Dendograma produzido a partir da análise de cluster (Distância Euclidiana) para as espécies brasileiras das Tribos Beslerieae Bartl e Napeantheae Wiehler.....63

Figura 14 - Ordenação pela Análise de Componentes Principais das espécies do gênero *Besleria* Plum. ex L. em função das variáveis métricas dos grãos de pólen.....66

Figura 15 - Dendograma produzido a partir da análise de cluster (Distância Euclidiana) para as espécies do gênero *Besleria* Plum. ex L.....67

Figura – 16 Reconstrução de máxima parcimônia de estados ancestrais para a morfologia dos grãos de pólen de *Besleria* Plum. ex L.....70

Figura – 17 Reconstrução de máxima parcimônia de estados ancestrais para a morfologia dos grãos de pólen de *Besleria* Plum. ex L.....71

Fig. 18- Otimização da endoabertura e comprimento do colpo dos grãos de pólen das espécies de <i>Besleria Plum ex. L.</i> a partir de análises moleculares obtidas e modificadas de Ferreira, 2018.....	77
Fig. 19- Otimização da ornamentação e espessura da exina dos grãos de pólen das espécies de <i>Besleria Plum ex. L.</i> a partir de análises moleculares obtidas e modificadas de Ferreira, 2018.....	77
Fig. 20- Hipóteses da evolução das aberturas para <i>Besleria Plum. ex L.</i>	78
Fig. 21- Hipóteses da evolução da ornamentação da exina em <i>Besleria Plum. ex L.</i>	78

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 – Lista de caracteres morfológicos e estados de caráter dos grãos de pólen das espécies de <i>Besleria</i> usados na reconstrução ancestral.....	36
Tabela 2 – Dados quantitativos dos grãos de pólen das espécies brasileiras das Tribos Beslerieae Bartl. e Napeantheae Wiehler com base nas medidas dos diâmetros equatoriais e diâmetros polares (n=25).....	41
Tabela 3 - Caracterização morfológica dos grãos de pólen das espécies brasileiras das Tribos Beslerieae Bartl. e Napeantheae Wiehler.....	44
Tabela 4 - Média aritmética, em μm , das medidas das aberturas e camadas da exina dos grãos de pólen das espécies brasileiras das Tribos Beslerieae Bartl. e Napeantheae Wiehler.....	45
Tabela 5 - Média aritmética (em μm) dos diâmetros equatoriais e diâmetros polares, da relação P/E e forma dos grãos de pólen de <i>Besleria</i> Plum. ex L.e <i>Napeanthus</i> Gardner e <i>Napeanthus</i> , com base nos materiais de comparação (n = 10).....	57
Tabela 6. Coeficientes de correlação de Pearson e Kendall entre as variáveis métricas dos grãos de pólen e os dois primeiros eixos da ordenação pela ACP para as espécies brasileiras das Tribos Beslerieae Bartl. e Napeantheae Wiehler com 11 variáveis.....	61
Tabela 7. Coeficientes de correlação de Pearson e Kendall entre as variáveis métricas dos grãos de pólen e os dois primeiros eixos da ordenação pela ACP para as espécies de <i>Besleria</i> Plum ex. L. com 11 variáveis.....	65

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	16
1.1. A Família Gesneriaceae: considerações e taxonomia.....	16
1.1.1. Tribo Beslerieae e Napeantheae.....	19
1.2. Gesneriaceae: palinotaxonomia.....	21
1.3. Justificativa.....	24
2. MATERIAL E MÉTODOS	25
2.1. Área de estudo e espécies analisadas.....	25
2.2. Coleta do Material analisado.....	27
2.2.1. Métodos.....	31
2.2.2. Microscopia óptica (MO): acetólise e medidas.....	31
2.2.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	33
2.2.4. Microscopia eletrônica de transmissão (MET).....	34
2.2.5. Ilustrações.....	34
2.2.6. Terminologia e descrições polínicas.....	35
2.2.7 Reconstrução ancestral das características morfológicas dos grãos de pólen.....	36
3. RESULTADOS	37
3.1. Descrição Geral.....	37
3.2. Análises Quantitativas.....	55
3.2.1. Medidas de diâmetro: Análise Gráfica de Intervalo de confiança à 95%.....	55
3.2.2. Análise multivariada: Análise de componentes principais das Tribos Beslerieae Bartl. Napeantheae Wiehler. (ACP).....	59
3.2.3. Análise de agrupamento: Análise de Cluster das Tribos Beslerieae Bartl. e Napeantheae Wiehler.....	60
3.3. Análise multivariada: Análise de componentes principais para as espécies de Besleria Plum ex L. (ACP).....	64
3.3.1. Análise de agrupamento: Análise de Cluster das espécies do gênero Besleria Plum. ex L.....	64
3.4. Reconstrução ancestral das características morfológicas dos grãos de pólen.....	68
4. DISCUSSÃO	72
4.1. Morfologia polínica.....	72
4.2. Dados qualitativos e quantitativos dos grãos de pólen e distribuição fitogeográfica do gênero Besleria Plum ex L.....	74
4.3. Evolução dos tipos de abertura e ornamentação do gênero Besleria Plum ex L.....	75
5. CONCLUSÕES	79
REFERÊNCIAS	80

1. INTRODUÇÃO

1.1. Gesneriaceae: considerações e taxonomia

Composta por 147-148 gêneros e aproximadamente 3260-3435 espécies (WIEHLER, 1983; WEBER 2004a), a família Gesneriaceae Rich & Juss. ex DC., está posicionada segundo a classificação mais recente (APG IV 2016), no grupo das Euasterídeas I, dentro de Lamiales, junto com outras 24 famílias, entre elas Acanthaceae, Bignoniaceae, Lamiaceae e Verbenaceae. Está distribuída amplamente em todo o Mundo, sendo pantropical, e é bem representada nos trópicos, com poucas espécies nativas em regiões temperadas (BURTT; WIEHLER, 1995). O centro de diversidade mundial situa-se da Colômbia ao Equador, seguido da região Centro-americana e no sudeste brasileiro (PERRET et al. 2003).

No Brasil, as Gesneriaceae estão representadas por cerca de 220 espécies distribuídas em 28 gêneros, sendo 148 endêmicas e todas pertencentes à subfamília neotropical Gesnerioideae (ARAUJO; CHAUTEMS; FERREIRA, 2015). As espécies são encontradas no Cerrado (cerca de 40 espécies), nos Pampas, na Caatinga e principalmente em matas úmidas da região amazônica ou na Mata Atlântica (130 espécies, principalmente epífitas – SAFFORD; MARTINELLI, 2000), sendo muitas vezes nativas de campos rupestres de planalto (14 espécies – CHAUTEMS, 1991; ARAUJO; CHAUTEMS; FERREIRA, 2015). Existe uma importante concentração de táxons na região Sudeste, principalmente nas matas úmidas, onde há também um forte endemismo (BARROSO et al. 1986; CHAUTEMS, 1988; CHAUTEMS; MATSUOKA, 2003).

Em relação às características morfológicas vegetativas e reprodutivas a família é representada por ervas perenes, subarbustos ou arbustos, terrestres ou epifíticos; caule herbáceo ou lenhoso, ereto, escandente ou pendente. Folhas opostas-cruzadas, simples, às vezes rosuladas ou 3-4-verticiladas, raramente alternas, inteiras, pecioladas ou subsésseis. Sinflorescência politélica axilar ou terminal, composta por cimeiras ou flores solitárias, brácteas pequenas ou raramente ausentes (por exemplo, em *Besleria* L.). As flores apresentam-se solitárias ou em inflorescências, vistosas, gamopétalas, zigomorfas, bissexuadas, protândricas; sépalas 5, verdes ou coloridas, corola tubulosa, branca ou colorida, estames 4, epipétalos, anteras unidas, raramente livres, rimosas, às vezes poricidas; disco anular constituído de 1-5 glândulas, raramente ausente (por exemplo, *Napeanthus* Gardn.); ovário súpero a semi-ínfero, 2-carpelar, 1-locular, placentação parietal; estilete simples terminal. Fruto baga ou cápsula seca ou carnosas; sementes numerosas, diminutas,

(WIEHLER, 1983; BARROSO et al. 1986, CHAUTEMS; WEBER, 1999; CHAUTEMS; MATSUOKA, 2003; WEBER, 2004a, ARAÚJO, 2007).

As flores da família podem ser polinizadas por abelhas, borboletas, moscas, mariposas, morcegos ou pássaros, e em espécies brasileiras, a grande maioria é polinizadas por beija flores. Muitas espécies da família podem ser classificadas dentro de uma síndrome de polinização, por possuir flores com características correlacionadas a um determinado grupo de polinizador, como a ocorrência de flores vistosas, com néctar e corolas de cores vivas e adaptadas com gibas (KRAHL et al. 2014; WIEHLER, 1983). Um exemplo é *Besleria longimucronata* Hoehne que tem características ornitófilas típicas, tais como flores vistosas e tubulares, na posição horizontal a pendente, com néctar diluído (SANMARTIN-GAJARDO; FREITAS, 1999). Para este mesmo gênero, existe também a ocorrência de mirmecofilia em *Besleria formicaria* Nowicke que hospeda formigas na nervura central das folhas (WINDSOR; JOLIVET, 1996). As sementes de frutos secos da família são dispersas pela água e vento, já as sementes dos frutos carnosos são dispersas por aves ou formigas (WIEHLER 1983).

Quanto à aplicação medicinal das espécies da família, WIEHLER (1995) estudou a utilização medicinal de 13 espécies do gênero *Besleria* por povos indígenas e populações de povoados nos neotrópicos, sendo uma destas com ocorrência no Brasil. Outras espécies dos gêneros *Columnnea* L., *Drymonia* Mart., *Gloxinia perennis* Fritsch são também utilizadas pela medicina popular indígena na América Central e do Sul (VICKERS; PLOWMAN, 1984; KVIST, 1986; 1989; KVIST; HOLM-NIELSEN, 1987; WIEHLER, 1995). A família também possui importância econômica, onde espécies de Gesneriaceae são cultivadas como ornamentais, como exemplo os gêneros: *Aeschynanthus* Jack, *Codonanthe* (Mart.) Hanst., *Columnnea*, *Episcia* Mart., *Gloxinia* L'Hér., *Kohleria* Regel, *Nautilocalyx* Linden, *Nematanthus* Schrader, *Sinningia* Nees, *Streptocarpus* Lindl. e *Saintpaulia* W. Hendl., a “violeta-africana” uma das espécies mais comercializadas no Brasil (LORENZI; SOUZA, 1999; SOUZA; LORENZI 2012).

Gesneriaceae foi estudada taxonomicamente por diversos autores e sua classificação compreende subfamílias e tribos. Bentham (1876), Fritsch (1893, 1894) e Burtt (1962, 1977), baseados no desenvolvimento do endosperma e no crescimento dos cotilédones, subdividiram a família em duas subfamílias: Gesnerioideae e Didymocarpoideae (ou Cyrtandroideae). Posteriormente, a família foi dividida em três grupos naturais ou subfamílias, Coronantheroideae, Gesnerioideae e Didymocarpoideae, com distribuição, respectivamente, nas regiões Sul Pacífica, Neotropical e Paleotropical (WIEHLER, 1983; BURTT; WIEHLER,

1995). Tanto a família, quanto as subfamílias são consideradas monofiléticas com base em dados morfológicos, moleculares (sequências de *ndhF*), número de cromossomos e metabólitos secundários (SMITH, 1996; SMITH et al. 1997).

Weber (2004a) seguiu as principais subdivisões taxonômicas anteriormente propostas e afirmando que os dados disponíveis não seriam suficientes para o entendimento dos grandes grupos de Gesneriaceae, preferiu adotar uma classificação informal dividindo Gesnerioideae e Didymocarpoideae em quatro grupos denominados Coronantheroide (hemisfério sul), Gesnerioide (neotropical), Epithematoide e Didymocarpoide (dois grupos paleotropicais), esta classificação foi utilizada até recentemente.

Alguns trabalhos moleculares sobre a família como os de Smith (1996, 2000), Smith et al. (1997), Citerne; Moller e Cronk (2000), Zimmer et al. (2002), Perret et al. (2003), Roalson et al. (2005a, 2005b) e Clark et al. (2006, 2012), apontaram considerações quanto ao monofiletismo de grupos dentro de Gesneriaceae e reconsideraram o posicionamento de espécies, gêneros e tribos. O trabalho mais recente sobre a classificação da família, e o primeiro que sumarizou os trabalhos moleculares em Gesneriaceae, propôs um rearranjo nos grupos e considerou três subfamílias: Sanangoideae, Gesnerioideae e Didymocarpoideae (WEBER; CLARK; MOLLER, 2013).

A subfamília Gesnerioideae (ou Gesnerioide *sensu* WEBER, 2004a) é caracterizada por apresentar as espécies neotropicais, com crescimento cotiledonar igual, e nectário constituído por glândulas separadas quando presente. No Brasil a maioria dos táxons da subfamília estão localizados nas regiões extra-amazônicas (principalmente Floresta Atlântica), sendo a grande concentração e endemismo no Sudeste brasileiro (CHAUTEMS, 1988). Wiehler (1983) subdividiu-a em cinco tribos, Beslerieae, Episcieae, Gesnerieae, Gloxinieae e Napeantheae. Posteriormente, estudos de morfologia e biologia molecular reconheceram outros grupos monofiléticos definindo então outras três tribos, Coronanthereae, Sinningieae e Sphaerorrhizeae (SMITH, 1996, 2000; SMITH et al. 1997; ZIMMER et al. 2002; ROALSON; BOGGAN; SKOG, 2005b). A nova classificação de Weber, Clark, Moller (2013), a qual detalha os estudos de filogenia molecular já realizados, indica para Gesnerioideae cinco tribos e suas subtribos: Titanotricheae, Napeantheae, Beslerieae (com Besleriinae e Anethanthinae), Coronanthereae (com Coronantherinae, Mitrariinae e Negriinae), Gesnerieae (com Gesneriinae, Gloxiniinae, Columneinae, Sphaerorrhizinae e Ligerrinae).

1.1.1. Tribos Beslerieae e Napeantheae

A tribo Beslerieae Bartl. é fortemente sustentada por dados moleculares (ZIMMER et al. 2002; ROALSON et al. 2005a, MOLLER; CLARK 2013, FERREIRA, 2018), no entanto trata-se de grupo muito heterogêneo morfológicamente, principalmente com base no hábito, nos caracteres florais (com variação na flor e nas possíveis síndromes de polinização) e nos tipos de frutos (WEBER; CLARK; MOLLER, 2013). Segundo Beaufort-Murphy (1983), as diferenças morfológicas na superfície das sementes nos gêneros de Beslerieae contribuem para a divisão da tribo em duas subtribos (Besleriinae G. Don. e Anetanthinae A. Weber & J.L. Clark), fato confirmado com outros estudos morfológicos e moleculares para a tribo (BURTT; WIEHLER 1995, CLARK et al. 2010; WEBER; CLARK; MOLLER, 2013; FERREIRA, 2018).

Besleria Plum. Ex L. (1753) é o gênero mais representativo da tribo Beslerieae (subtribo Besleriinae), e também um dos maiores e menos explorados de Gesneriaceae (WIEHLER 1983; WEBER; CLARK; MOLLER, 2013), embora recentemente algumas novas espécies foram descritas (FERREIRA et al. 2016b, FERREIRA et al 2017; CORTÉS-CEBALLOS, 2017). O gênero tem distribuição neotropical, e seus representantes podem ser ervas perenes, arbustos ou arvoretas formando populações com poucos indivíduos localizados apenas no interior da floresta úmida, geralmente ocupando áreas próximas a córregos, riachos e cachoeiras em variadas altitudes. O centro de diversidade do gênero é nos Andes Tropical (mais de 100 espécies) e na América Central (20 espécies), entretanto tem distribuição disjunta nos Andes e floresta Amazônica da Bolívia até a Colômbia, nas ilhas do Caribe e na Mata Atlântica brasileira (11 espécies), locais que são importantes redutos de riqueza e endemismo dessas espécies, abrigando vários táxons endêmicos (SKOG; BOGGAN, 2007; LOPES; ANDREATA; CHAUTEEMS, 2007; FERREIRA et al. 2016a). No Brasil, 24 espécies são conhecidas atualmente, ocorrendo nas florestas tropicais Amazônica e Atlântica (FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO, 2018; FERREIRA et al. 2016a, 2017). Embora a maioria das espécies sejam endêmicas dos locais onde ocorrem, algumas são amplamente distribuídas, como *Besleria flavo-virens* Nees & Mart. e *Besleria laxiflora* Benth., que ocorrem da América Central até a Mata Atlântica brasileira, ou *Besleria solanoides* Kunth, que varia da Nicarágua à Bolívia (SKOG; BOGGAN, 2007). Lopes; Andreato; Chautems (2007) analisaram e buscaram delimitar a distribuição fitogeográfica de 17 espécies de *Besleria* nativas no Brasil, encontrando padrões amplos e restritos de distribuição. O padrão amplo engloba espécies neotropicais e espécies limitadas a América do Sul que se abrigam nas Florestas Amazônica e/ou Atlântica. O padrão restrito compõe as espécies que estão

presentes apenas na Floresta Atlântica. Os autores também observaram o elevado endemismo na região Sudeste, principalmente no estado do Rio de Janeiro, demonstrando que o gênero tem uma maior habilidade de se desenvolver e se adaptar a ambientes de alta pluviosidade e altas cotas altitudinais (LOPES; ANDREATA; CHAUTEMS. 2007), o inverso do que ocorre no Cerrado, onde a riqueza de espécies é menor (CHAUTEMS, 2003).

Um estudo filogenético recente demonstrou que *Besleria* apresenta um alto sinal filogenético geográfico, onde as sinapomorfias morfológicas para o gênero, não são representativas e ficam em segundo plano (FERREIRA, 2018). Em seu trabalho, que fornece a filogenia mais abrangente e resolvida do gênero até o momento, Ferreira e colaboradores 2018, realizaram análises temporais e de reconstrução de área ancestral do gênero. Nas análises foram encontrados seis principais clados que não haviam sido reconhecidos em estudos anteriores, e que são caracterizados por distribuições geográficas específicas. Por fim, o trabalho mostra que o tempo de divergência sugere que o gênero começou a diversificar no início do Mioceno, provavelmente no norte dos Andes. Assim, a história biogeográfica de *Besleria* e sua expansão na América do Sul e Central foram amplamente influenciadas pelos principais eventos geológicos e paleogeográficos que ocorreram nos neotrópicos durante o Mioceno. Outra informação importante é que a estrita disjunção biogeográfica entre os clados andinos e brasileiros, descritas no trabalho, e suas radiações endêmicas dentro dessas áreas, correspondem com estudos anteriores sugerindo que a formação de uma diagonal SW-NE de vegetação seca na América do Sul que tem limitado fortemente as trocas bióticas entre a Mata Atlântica e a Amazônia e outros biomas circundantes (COSTA, 2003; FERREIRA et al. 2016a; FOUQUET et al. 2012; WERNECK et al. 2012).

Os gêneros *Anetanthus* Hiern ex Benth. & Hook.f. e *Tylopsacas* Leeuwenb., também estão inseridos dentro da tribo Beslerieae, porém classificados atualmente, com base na morfologia das sementes e em dados moleculares, na subtribo Anetanthinae, juntamente com outros três gêneros (WEBER; CLARK; MOLLER, 2013; FERREIRA, 2018). O gênero *Anetanthus* que já foi constituído por uma única espécie (WIEHLER, 1976; 1983), hoje conta com duas espécies apenas, *Anetanthus rubra* L.E. Skog, proveniente do Peru e *A. gracilis* Hiern, que também tem distribuição no Peru, Colômbia, Bolívia e no Brasil, nos estados de Minas Gerais e Distrito Federal (WIEHLER, 1976; 1983; ARAUJO; CHAUTEMS; FERREIRA, 2015; FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO, 2018). *Tylopsacas* é um gênero monoespecífico, com distribuição na Amazônia brasileira, Venezuela e nas terras altas da Guiana (MOLLER; CLARK, 2013; FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO, 2018). Uma característica interessante compartilhada pelos gêneros *Anetanthus* e *Tylopsacas*

é a presença de sementes aladas. A semente redonda e plana com asas desenvolvidas é única nas Gesneriaceae, portanto, Wiehler (1976), sugeriu uma relação próxima dos dois gêneros, fato comprovado por Clark e colaboradores 2010 por meio de análises moleculares e dados morfológicos das sementes.

Napeantheae (estabelecida por Wiehler, 1983), com seu único gênero *Napeanthus* Gardner, possui cerca de 20 espécies que podem ser localizadas geralmente em covas, barrancos sobre ou na base das rochas, de florestas úmidas e sombreadas de até 1000m de altura (KVIST; SOKG; AMAYA-MÁRQUEZ, 1998; LOPES; CHAUTEMS; ANDREATA, 2005). São ervas com folhas rosuladas, com ausência de nectário e fruto em cápsula loculicida, características que as diferenciam das outras Gesnerioideae (FEUILLET; SKOG, 2002; WEBER, 2004a). Suas espécies estão distribuídas nos neotrópicos, do México a Bolívia, Guianas, Trindade e Brasil (MOLLER; CLARK, 2013; FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO, 2018). No Brasil, as espécies são encontradas tanto na Floresta Amazônica, quanto, na Atlântica, mais precisamente nas regiões Norte, Nordeste, Sudeste e Sul (FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO, 2018). Estudos moleculares (SMITH, 2000; ZIMMER et al. 2002; PERRET et al 2013; ROALSON; ROBERTS, 2016) apontaram Napeantheae muito próxima de Beslerieae, no entanto Moller e Clark (2013) questionam o relacionamento entre as tribos e sugeriram que outros estudos moleculares e morfológicos eram necessários para o esclarecimento das relações entre elas. Recentemente, Ferreira (2018) analisando morfologia e biologia molecular de Beslerieae, exclui a relação Beslerieae-Napeantheae e confirma *Titanotrichum* Solereder como grupo irmão de Beslerieae.

1.2 Gesneriaceae: palinotaxonomia

Palinologia é uma das áreas da Botânica que estuda as características morfológicas externas dos grãos de pólen e esporos, sua dispersão e suas aplicações (ERDTMAN, 1952). A palinotaxonomia é o ramo da palinologia mais associado a Taxonomia Vegetal, que auxilia, através de evidências palinológicas, no posicionamento de táxons de afinidades incertas, sugere rearranjos, afastamentos e separações, e também pode confirmar outras linhas de hipóteses da taxonomia (GASPARINO; CRUZ-BARROS, 2006). Assim, o foco principal são os grãos de pólen, ou seja, o gametófito masculino das plantas com sementes, a estrutura microscópica portadora dos gametas masculinos (HESSE et al. 2009). Isso só é possível porque os grãos de pólen apresentam grande variabilidade morfológica (como unidade polínica, número e tipo de abertura e ornamentação da exina) e suas características, estabelecidas geneticamente, não estão sujeitas as variações de condições ambientais, o que os

torna bastante estáveis e de grande valor diagnóstico para a palinotaxonomia e outros ramos da ciência (MELHEM et al 2003).

A estrutura externa dos grãos de pólen foi estudada pela primeira vez em 1670, por Malpighi e com a melhoria dos aparelhos ópticos a partir do século XIX, esses estudos começaram a evoluir (MELHEM, 1978). O cientista considerado pai da palinologia, é Erdtman, que descreveu e publicou em 1952 os grãos de pólen de várias famílias das Angiospermas no seu livro “Pollen Morphology and Plan Taxonomy” (PLÁ et al. 2006). O autor também foi o pioneiro a descrever a morfologia polínica de Gesneriaceae, relatando para a família grãos de pólen 2-3-4-colporoidados-colporados, usualmente subprolatos, com sexina tão espessa quanto a nexina e ornamentação obscura. Seu trabalho baseou-se principalmente nos gêneros *Bellonia* L., *Boeae* Comm. Ex Lam., *Columenea* L., *Coronanthera* Vieill. Ex. C.B. Clarke e *Streptocarpus* Lindl.

Com o advento da palinologia, alguns trabalhos sobre a morfologia polínica de Gesneriaceae foram publicados ao longo dos anos, são exemplos: Campos (1962), Woods (1964), Melhem e Mauro (1973), Salgado-Labouriau (1973), Nowicke (1974), Howard (1975), Skog (1976), Williams (1978), Felice; Sanchis; Villar (1981), Xi- Yi-Zhen (1987), Fritze e Williams (1988), Roubik e Moreno (1991), Luegmayer (1993a, 1993b), Yan Zhi-Jian; Li Zhen-Yu; Wang Fu-Hsiung (1995, 1997), Weigend e Edwards (1996), Xifreda (1996), Schlag-Edler e Kiehn (2001), Melhem et al. (2003), Palee; Sampson; Anusarnsunthorn (2003), Weber (2004b), Gasparino (2008), Fourny et al. (2010) e Gasparino et al. (2011), Gasparino; Cruz-Barros; Chautems (2013), Gasparino; Souza; Cruz-Barros (2014), Landi (2017), Souza (2017), Souza et al. (2018) e Dutra (2018).

O trabalho mais significativo em nível de família foi o de Williams (1978) que estudou a morfologia polínica de 30 espécies neotropicais da subfamília Gesnerioideae e suas principais tribos, englobando os gêneros *Alsobia* Hanst., *Bellonia*, *Bucinella* Wiehler, *Cobananthus* Wiehler, *Codonanthe*, *Columnea*, *Dalbergaria* Tussac, *Drymonia*, *Episcia*, *Gasteranthus* Benth., *Gloxinia*, *Kohleria*, *Moussonia* Regel, *Napeanthus*, *Nautilocalyx*, *Pentadenia* Hanst., *Rufodorsia* Wiehler, *Sinningia* e *Trichantha* Hook. O resultado desse trabalho mostrou uma diversidade de tipos polínicos nas tribos da subfamília, e em casos mais particulares em espécies isoladas (WILLIAMS, 1978).

Smith et al. (1997) consideram que o tamanho dos grãos de pólen sustenta a monofilia da subfamília Gesnerioideae. Segundo Melhem e Mauro (1973) o estudo dos caracteres morfológicos dos grãos de pólen em Gesneriaceae permite uma diferenciação de gêneros, e até de espécies, em alguns casos. Assim, oito espécies pertencentes aos gêneros *Gesneria*,

Hypocyrtia Mart. e *Nematanthus*, hoje transferidas para os gêneros *Besleria*, *Sinningia* e *Nematanthus*, revelaram variações em relação à forma, tamanho, aberturas (3-colporado, 3-colpado), e ornamentação. Melhem et al. (2003) estudando os grãos de pólen das espécies nativas de Campos do Jordão (São Paulo) descrevem os grãos de pólen de *Nematanthus fornix* (Vell.) Chautems como 3-colpados, oblato-esferoidais, com exina reticulada, e os de *Sinningia allagophylla* (Mart.) Wiehler como 3-colporados, esféricos, e com exina reticulada, confirmando que a morfologia polínica é importante para a taxonomia da família.

Gasparino (2008) desenvolveu um estudo polínico em 76 espécies brasileiras de Gesneriaceae, o que representa cerca de 40% das espécies nativas no Brasil. Este estudo buscou elucidar os caracteres qualitativos e quantitativos dos grãos de pólen, que na maioria das vezes permitem caracterizar as tribos, gêneros e espécies da família. O resultado deste estudo permitiu uma caracterização dos gêneros *Besleria* e *Napeanthus* (GASPARINO et al. 2011) e também para os gêneros *Codonanthe* e *Nematanthus* (GASPARINO; CRUZ-BARROS; CHAUTEMS 2013) tendo como base espécies nativas da região sudeste do país.

Somente cinco espécies de Beslerieae e Napentheae foram analisadas por Gasparino et al. (2011) com ênfase na região sudeste do Brasil, este estudo indica uma diversidade polínica para as espécies de *Besleria*, pois foram descritos grãos de pólen com forma, ornamentação da exina e tamanhos diferentes, o que confirma a grande variação morfológica para as espécies do gênero. Em relação à *Napeanthus*, o gênero parece ser estenopolínico, pois quase nenhuma variação foi descrita para as espécies analisadas (GASPARINO et al. 2011).

Para os gêneros de Gesneriaceae, principalmente em *Besleria*, *Goyazia* e *Mandirola*, Gasparino (2008), Gasparino et al. (2011), Gasparino; Cruz-barros; Chautems, (2013), Landi (2017) e Souza et al. (2018), observaram uma variação de tamanho, forma e âmbito dentro de uma mesma amostra, o que normalmente não acontece em outras famílias de Lamiales.

A grande diversidade morfopolínica, encontrada no estudo dos grãos de pólen de famílias, gêneros e espécies, são de grande valor diagnóstico, com aplicação mais vasta na taxonomia, e fornece suporte aos estudos cladísticos, que buscam as relações entre os diferentes grupos de plantas, no esforço de se traçar linhas evolutivas dos diferentes táxons. A vantagem de se utilizar o grão pólen nos estudos filogenéticos, é que os seus caracteres morfológicos não estão sujeitos a alterações ambientais e são bem estudados do ponto de vista evolutivo e documentados nos registros fósseis (MELHEM et al. 2003). Assim, a morfologia polínica pode colaborar para o esclarecimento de relacionamentos incongruentes entre filogenias moleculares ou até mesmo, morfológicas, dessa forma, podendo contribuir, para a resolução de problemas taxonômicos (SABA, 2007).

Com o advento da cladística e da análise por parcimônia, os métodos para testar ideias evolutivas em grãos de pólen se tornaram possíveis, onde objetiva-se estabelecer hipóteses consistentes de filogenias. Alguns trabalhos que incluem análises de caracteres dos grãos de pólen, nas quais foram avaliados sua evolução em diferentes grupos e seu valor filogenético, são apresentadas nos estudos de Banks e Rico (1999), Doyle (2005), Hayat et al. (2009), Chung; Elisens; Skvarla (2010), Van der Weide e Van der Ham (2012) e Du et al. (2014).

1.3 Justificativa

Desta forma o presente trabalho visou o estudo detalhado dos grãos de pólen das espécies brasileiras das tribos Beslerieae e Napeantheae (Gesneriaceae), uma vez que poucas espécies foram palinologicamente analisadas e trata-se de grupos heterogêneos morfolologicamente, principalmente em *Besleria*. Para este gênero busca-se investigar se as variações morfológicas já relatadas estão relacionadas com sua distribuição em diferentes regiões brasileiras. Portanto, este estudo busca dados morfológicos que possam melhor definir as espécies estudadas, assim como esclarecer a evolução dos caracteres no grupo o que auxiliará no melhor entendimento das relações de parentesco entre as espécies, e possíveis relações com sua distribuição fitogeográfica.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. Área de estudo e espécies analisadas

Foram analisados morfológicamente os grãos de pólen de 24 espécies das Tribos Beslerieae e Napeantheae, distribuídas entre os gêneros *Besleria* Plum. ex L., *Anetanthus* Hiern ex Benth. & Hook.f., *Tylopsacas* Leeuwenb. e *Napeanthus* Gardner. Estudos sobre a biogeografia demonstram que as Gesneriaceae brasileiras possuem distribuição nativa na Mata Atlântica ou na Mata Amazônica (PERRET et al. 2013). Nas espécies analisadas, isso é fortemente demonstrado para *Besleria*, onde o estudo filogenético mais recente aponta que o gênero é mais facilmente caracterizado por sua distribuição geográfica (FERREIRA, 2018). Considerando isto, foi adotado no presente trabalho, tratar as espécies de *Besleria* de acordo com sua distribuição geográfica: Ampla distribuição, distribuição Atlântica e distribuição Extra Atlântica. As espécies de ampla distribuição estão presentes tanto na Mata Atlântica e na Mata Amazônica, as Atlânticas apenas na Mata Atlântica e as Extra Atlântica na Floresta Amazônica, Escudo das Guianas e Andes Tropical (FERREIRA, 2018 – Figura 1). Quanto às outras espécies, *Anetanthus gracilis* está presente no Cerrado e Mata Atlântica, *Tylopsacas cuneatum* na Floresta Amazônica e as espécies de *Napeanthus* nos dois domínios fitogeográficos da Amazônia e Mata Atlântica (FLORA DO BRASIL 2020 EM CONSTRUÇÃO, 2018; SPECIESLINK, 2018).

Tribo Beslerieae Bartl.

Besleria longimucronata Hoehne

Besleria macahensis Brade

***Anetanthus* Hiern ex Benth. & Hook.f.**

Besleria melancholica (Vell.) C.V.Morton

Anetanthus gracilis Hiern

Besleria meridionalis C.V.Morton

Besleria selloana Klotzsch & Hanst.

***Besleria* Plum. ex L.**

Extra Atlântica

Ampla distribuição

Besleria aggregata (Mart.) Hanst.

Besleria flavo-virens Nees & Mart.

Besleria barclayi L. E. Skog

Besleria laxiflora Benth.

Besleria gibbosa (Poepp.) Hanst.

Atlântica

Besleria neblinae Feuillet

Besleria brevicalyx G.E.Ferreira & Chautems

Besleria parviflora L.E.Skog & Steyerm.

Besleria diabolica G.E. Ferreira & Chautems

Besleria fluminensis Brade

Besleria grandifolia Schott

Besleria iara G. E. Ferreira & M. J. G. Hopkins **Tribo Napeantheae Wiehler**

Besleria solanoides Kunth

***Tylopsacas* Leeuwenb.**

Tylopsacas cuneatum (Gleason)
Leeuwenb.

***Napeanthus* Gardner**

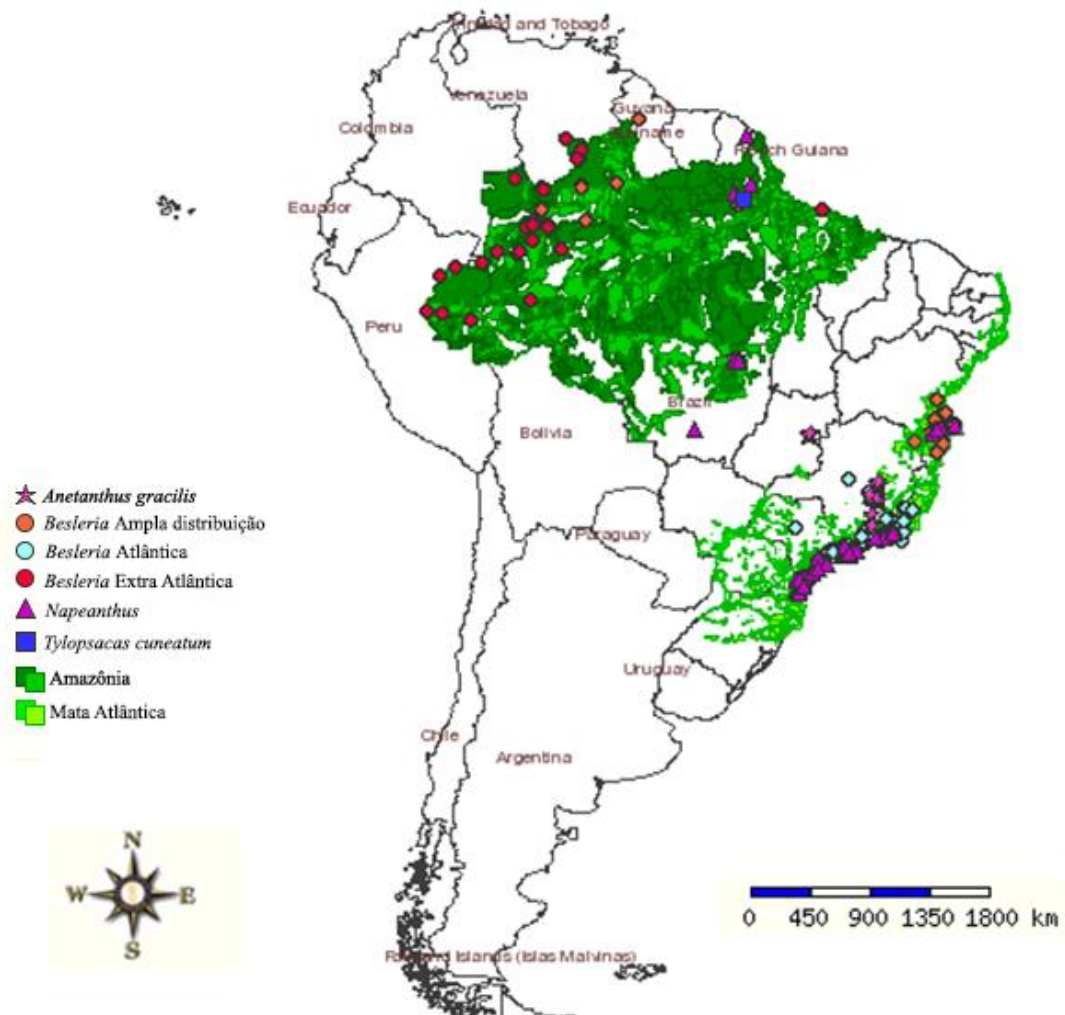
Napeanthus jelskii Fritsch

Napeanthus macrostoma Leeuwenb.

Napeanthus primulifolius (Raddi)
Sandwith

Napeanthus reitzii (L.B. Sm.) B.L. Burt ex
Leeuwenb.

Figura 1 – Distribuição no Brasil das espécies das Tribos Beslerieae Bartl. e Napeantheae Wiehler



Coordenadas obtidas e mapa elaborado em Specieslink, 2018. Fonte: A autora.

2.2. Coleta de Material analisado

Foram realizadas coletas nos principais herbários do Brasil, onde se encontravam os espécimes das plantas aqui analisadas. Os herbários visitados foram: Herbário do Estado "Maria Eneyda P. Kaufmann Fidalgo" - Coleção de Fanerógamas (SP), Museu Botânico Municipal (MBM) na cidade de Curitiba e o Herbário do Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia (INPA), localizado na cidade de Manaus, e que foi fundamentalmente importante por armazenar a grande maioria dos espécimes.

Material coletado e analisado: *Anetanthus gracilis* Hiern: BRASIL. Minas Gerais: Rio Santo Antônio, Mun. Conceição do Mato Dentro, 18/I/1972, G. Hatschback, L.B. Smith & E. Ayense n° 28893 (MBM). **Anetanthus gracilis* Hiern: BRASIL. Minas Gerais: Santana do Riacho, Conceição do Mato, 5/VII/2001, V.C. Souza, J.P. Souza, G.O. Romes & A.O. Araújo n° 25131 (SP). *Besleria aggregata* (Mart.) Hanst.: BRASIL. Amazonas: Rio Cunhá, Vila indígena, 29/IX/1971, G.T. Prance, P.J.M. Maos, D.B. Woolcott, O.P. Monteiro & J.F. Ramos n° 34647 (INPA). *Besleria aggregata* (Mart.) Hanst.: BRASIL. Amazonas: Manaus, G. E. Ferreira n° 354 (1)* (2) (3) (4) (INPA). **Besleria barclayi* L.E. Skog: COLOMBIA. Depto del Chocó, 08/VIII/1976, E. Forero & R. Jaramillo n° 64525 (MBM). *Besleria barclayi* L.E. Skog: COLOMBIA. Amazônia Colombiana, 08/IX/1976, E. Forero & R. Jaramillo n° 2654 (INPA). *Besleria brevicalyx* G.E.Ferreira & Chautems: BRASIL. Minas Gerais: Descoberto, 09/X/2014, G.E. Ferreira, A. Chautems, M. Perret & M. Peixoto n° 292 (INPA). **Besleria brevicalyx* G.E.Ferreira & Chautems: BRASIL. Minas Gerais: Descoberto, 09/X/2014, G.E. Ferreira, A. Chautems, M. Perret & M. Peixoto n° 292-1 (INPA). *Besleria diabolica* G.E. Ferreira & Chautems: BRASIL. São Paulo: El Eldorado, Caverna do Diabo, 29/IX/2014, G.E. Ferreira, A. Chautems, A.O. Araújo & M. Peixoto n° 271-2 (INPA). **Besleria diabolica* G.E. Ferreira & Chautems: BRASIL. São Paulo: El Eldorado, Caverna do Diabo, 29/IX/2014, G.E. Ferreira, A. Chautems, A.O. Araújo & M. Peixoto n° 271-5 (INPA). *Besleria flavo-virens* Nees & Mart.: BRASIL. Amazonas: Tabatinga, 12/X/1904, A. Ducre n° 12119 (INPA). *Besleria flav-virens* Nees & Mart.: BRASIL. Roraima: Serra dos Surucucus, II/1962, G.T. Prance, J.R. Steward, J.F. Ramos & L.G. Farias s/ n° (INPA). *Besleria flavo-virens* Nees & Mart.: BRASIL. Rondônia, 19/II/1969, G.T. Prance, T.R. Ramos & L.G. Farias n° 27211 (INPA). *Besleria flavo-virens* Nees & Mart.: BRASIL. Bahia: Itacaré, 21/VII/1984, André M. de Carvalho, T.S. dos Santos, J.F. Baumgrat & R. Voeks n° 2089 (MBM). *Besleria flavo-virens* Nees & Mart.: BRASIL. Bahia: Almadina, 15/I/1998, Jomar G. Pardim, T.S. dos Santos, J.L. da Paixão & H.D. Pengel n° 1224 (MBM). *Besleria flavo-virens* Nees & Mart.: BRASIL. Bahia: Camacan, 15/X/2014, G.E. Ferreira, A. Chautems, M. Perret & M. Peixoto

n° 313 (INPA). **Besleria flavo-virens* Nees & Mart.: BRASIL. Bahia: Camacan, 15/X/2014, G.E. Ferreira, A. Chautems, M. Perret & M. Peixoto n° 314 (INPA). *Besleria fluminensis* Brade: BRASIL. Rio de Janeiro: Angra dos Reis, 02/X/2014, G.E. Ferreira, A. Chautems, M. Perret & M. Peixoto n° 276-1 (INPA). **Besleria fluminensis* Brade: BRASIL. Rio de Janeiro: Angra dos Reis, 02/X/2014, G.E. Ferreira, A. Chautems, M. Perret & M. Peixoto n° 276-2 (INPA). *Besleria gibbosa* (Poepp.) Hanst.: BRASIL. Amazonas: Rio Javari, 14/X/1976, G.T. Prance, R.J. Hill, T.D. Pennington & J.M. Ramos n° 23761 (INPA). **Besleria gibbosa* (Poepp.) Hanst.: BRASIL. Amazonas: São Gabriel da Cachoeira, 20/X/1978, P.I.S. Madison & H. Kennedy n° 527 (INPA). *Besleria gibbosa* (Poepp.) Hanst.: VENEZUELA: Amazonas, 28/X/1987, P.J.M. Maas, D.W. Steverson, W.A. Rodrigues & J. Ramos s/ n° (INPA). *Besleria grandifolia* Schott: BRASIL. Rio de Janeiro: Petrópolis, 01/XI/1980, L. Krieger, s/ n° (INPA). *Besleria grandifolia* Schott: BRASIL. Rio de Janeiro: Duque de Caxias, 13/IX/1986 L.P. Gonzaga, s/n° (INPA). **Besleria grandifolia* Schott: BRASIL. Rio de Janeiro: Barra do Piauí, 25/X/1988, V.L.G. Klein & M.A.A. Mamiy n° 568 (INPA). *Besleria grandifolia* Schott: BRASIL. Rio de Janeiro: Resende, 07/IX/1999, A. Lobão n° 455 (INPA). *Besleria grandifolia* Schott: BRASIL. Rio de Janeiro: Petrópolis, 02/XIII/2007, R. Tsuji n° 10441 (HPL). *Besleria grandifolia* Schott: BRASIL. Rio de Janeiro: Petrópolis, 03/X/2014, G.E. Ferreira, A. Chautems, M. Perret & M. Peixoto n° 279-5 (INPA). *Besleria grandifolia* Schott: BRASIL. São Paulo: Pindamonhangaba, Fazenda São Sebastião do Ribeirão Grande, 02/XII/1993, S.A. Nicolau, P.L.B. Tomasulo & H.G. Souza n° 2188 (SP). *Besleria iara* G. E. Ferreira & M. J. G. Hopkins: Brasil. Amazonas: Benjamin Constant. 08/II/2016, G. E. Ferreira n° 355-1 (INPA). **Besleria iara* G. E. Ferreira & M. J. G. Hopkins: Brasil. Amazonas: Benjamin Constant. 08/II/2016, G. E. Ferreira n° 355-2. *Besleria laxiflora* Benth.: BRASIL. Roraima: Vicinity of Auaris, 06/II/1969, G.T. Prance, J.R.Steward, J.F. Ramos & L.G. Farias s/n° (INPA). *Besleria laxiflora* Benth.: VENEZUELA. Santa Elena, Mata Cutia, 02/IX/1979, N.A. Rosa & O.C. Nascimento n° 3226 (MBM). *Besleria laxiflora* Benth.: BRASIL. Distrito Federal, 07/IV/1982, Ronald Liesner & Vilealdo Medina n° 89753 (MBM). *Besleria laxiflora* Benth.: BRASIL. Amazonas, 08/1993, W. Milliken n° 182306 (INPA). *Besleria laxiflora* Benth.: BRASIL. Bahia: Camacan, 14/X/2014, G.E. Ferreira, A. Chautems, M. Perret & M. Peixoto n° 303 (INPA). *Besleria laxiflora* Benth.: BRASIL. Bahia: Camacan, 15/X/2014, G.E. Ferreira n° 265834 (INPA). **Besleria laxiflora* Benth.: BRASIL. Amazonas: Yanomani Indigenous Reserve. Det: W. Milliken s/n° (INPA). *Besleria longimucronata* Hoehne: BRASIL. Rio de Janeiro: Paraty, 20/VIII/1987, M. Kirizawa & E. Ieda n° 1892 (SP). *Besleria longimucronata* Hoehne: BRASIL. Rio de Janeiro: Angra dos Reis, 5/V/2006, R. Tsuji n°

1936 (HPL). *Besleria longimucronata* Hoehne: BRASIL. Rio de Janeiro: Paraty, Estrada Paraty/Cunha, 01/X/2014, G.E. Ferreira, A. Chautems, M. Perret & M. Peixoto n° M274-3 (INPA). **Besleria longimucronata* Hoehne: BRASIL. São Paulo: Ubatuba, Praia Prumirim, G.E. Ferreira, A. Chautems, M. Perret & M. Peixoto n° M 273-6 (INPA). *Besleria macahensis* Brade: BRASIL. Rio de Janeiro: Macaé, 24/VI/1987, H.C. de Lima, C. Farney, R.H.P. Andreato, T. Wendt & J. Caruso Gomes n° 2997 (INPA). *Besleria macahensis* Brade: BRASIL. Rio de Janeiro: Santa Maria Madalena, 25/VIII/2012, J.A. Oliveira, L.S. Silvestre, C.M. Mynssen, P.H. Laliok & V.M. Barbosa n° 181 (INPA). **Besleria macahensis* Brade: BRASIL. Rio de Janeiro: Poço Parado, 11/X/2014, G.E. Ferreira, A. Chautems, M. Perret & M. Peixoto n° 301 (INPA). **Besleria melancholica* (Vell.) C.V.Morton: BRASIL. Rio de Janeiro: Corcovado, II/1915, F.C. Hoehne n° 192 (SP). *Besleria melancholica* (Vell.) C.V.Morton: BRASIL. Rio de Janeiro: Macaé, 22/X/1985, Marta Leitman, C. Farney, G. Martinelli, S.Pessoa & J.C.Gomes n° 40 (INPA). *Besleria melancholica* (Vell.) C.V.Morton: BRASIL. Rio de Janeiro: Petrópolis, 16/VIII/1989, M.C. Marques n° 121 (INPA). *Besleria melancholica* (Vell.) C.V.Morton: BRASIL. Rio de Janeiro: Macaé, 04/III/2004, R.C. Forzza, L.C.S. Assis, J.G. Jardim, L.R. Lima, E. Lucas, B.R. Silva, S. Edwards & D. Zappi n° 2876 (INPA). *Besleria melancholica* (Vell.) C.V.Morton: BRASIL. Rio de Janeiro: Teresópolis, Parque Nacional da Serra dos Órgãos, 21/XI/2006, E.J. Lucas et al. n° 268744 (INPA). *Besleria melancholica* (Vell.) C.V.Morton: BRASIL. Rio de Janeiro: Macaé, 19/VII/2006, R. Marquete, N., Marquete, E. Medeiros & M.C. Nalente n° 3747 (INPA). *Besleria melancholica* (Vell.) C.V.Morton: BRASIL. Rio de Janeiro: Guapimirim, 05/X/2015, G.E. Ferreira, A. Chautems, M. Perret & M. Peixoto n° M285 (INPA). *Besleria meridionalis* C.V.Morton: BRASIL. Minas Gerais: Descoberto, Reserva Biológica da Represa do Grama, 25/02/2000, P.C.L. Faria, P.C. Zampa, F. Magalhães, P.O. Costa, L.F. Fazza, L.D. Meireles & S.M. Verardo n° 31061 (INPA). **Besleria meridionalis* C.V.Morton: BRASIL. Minas Gerais: Descoberto, Reserva Biológica da Represa do Grama, 29/IV/2000, P.C.L. Faria, P.C. Zampa, F. Magalhães, P.O. Costa, L.F. Fazza, L.D. Meireles & S.M. Verardo n° 31139 (INPA). **Besleria neblinae* Feuillet: BRASIL. Amazonas: Rio Negro, XI/1987, D.W. Stevenson & J.F. Ramos s/ n° (INPA). *Besleria parviflora* L.E.Skog & Steyerl.: BRASIL. Roraima: Vicinity of Awaris, 07/II/1969, G.T. Prance, J.R. Steward, J.F. Ramos & L.G. Farias s/n° (INPA). *Besleria parviflora* L.E.Skog & Steyerl.: BRASIL. Roraima: Surucucu, 07/II/1971, G.T. Prance, W.C. Steward, F.P. Harter, J.F. Ramos, W.S.Pinheiro & O.P. Monteiro n° 28686 (INPA). **Besleria parviflora* L.E.Skog & Steyerl.: BRASIL. Amazonas: Rio Javari, 02/VIII/1973, E. Leras, W.C. Steaward, J.C. Ongley, D.F. Coelho, J.F. Ramos & J.F. Lima n°

40242 (INPA). *Besleria parviflora* L.E.Skog & Steyerm.: BRASIL. Amazonas: Santa Isabel do Rio Negro, 28/12/2004, F.A. Carvalho n° 223356 (INPA). *Besleria selloana* Klotzsch & Hanst.: BRASIL. Paraná: Rio Pequeno, 31/X/1973, G. Hatschbach n° 32987 (MBM). **Besleria selloana* Klotzsch & Hanst.: BRASIL. São Paulo: Bertioga, 27/IX/2014, G.E. Ferreira, A. Chautems, M. Perret & M. Peixoto n° 268-2 (INPA). *Besleria selloana* Klotzsch & Hanst.: BRASIL. São Paulo: Bertioga, 27/IX/2014, G.E. Ferreira, A. Chautems, M. Perret & M. Peixoto n° 268-3 (INPA). *Besleria selloana* Klotzsch & Hanst.: BRASIL. São Paulo: Bertioga, 27/IX/2014, G.E. Ferreira, A. Chautems, M. Perret & M. Peixoto n° 268/7 (INPA). **Besleria solanoides* Kunth: COLOMBIA. Município Remedios: Corregimiento Santa Isabel, 03/VII/1989, Ricardo Callejas, J. Betancur & O. Escobar n° 215727. (INPA). *Besleria solanoides* Kunth: PANAMA. Thomas B. Croat n° 66242 (INPA). **Napeanthus jelskii* Fritsch: GUIANA FRANCESA. Régina, 12/VI/1988, C. Feuillet n° 213233 (INPA) **Napeanthus macrostoma* Leeuwenb.: BRASIL. Amapá: Rio Jari, 05/VIII/1961, W.A. Egler & H.S. Irwin n° 272059 (INPA). *Napeanthus macrostoma* Leeuwenb.: GUIANA FRANCESA. Montagne Bellevie de l'Inini., 21/X/1985 (INPA). *Napeanthus primulifolius* (Raddi) Sandwith: BRASIL. Iguapé, Reserva ecológica da Juréia, 13/III/1990, M.C.H. Mamede, I. Cordeiro & L. Rossi n° 231 (INPA). **Napeanthus primulifolius* (Raddi) Sandwith: BRASIL. São Paulo: Caraguatatuba, Parque Estadual da Serra do Mar, 22/X/2000, M.C.H. Mamede, M..R.F. Melo, R.J. Oliveira & F. Marques n° 350545 (SP). *Napeanthus primulifolius* (Raddi) Sandwith: BRASIL. Bahia: Camacan, 14/X/2014, G.E. Ferreira, A. Chautems, M. Perret & M. Peixoto n° 304 (INPA). **Napeanthus reitzii* (L.B. Sm.) B.L. Burt ex Leeuwenb. BRASIL. Paraná: Morretes, Morro 7, 17/X/1964 G. Hatschbach s/ n° (MBM). *Napeanthus reitzii* (L.B. Sm.) B.L. Burt ex Leeuwenb. Sem local, 23/I/1999, C. Kozera M & V.A. de O. Dittrich n° 910 (INPA). **Tylopsacas cuneatum* (Gleason) Leeuwenb.: BRASIL. Amazonas, Cerro de la neblina, Rio Yatua, 02/X/1957, B. Maguire, J. J. Wurdack & C. K. Maguire n° 272066 (INPA). *Tylopsacas cuneatum* (Gleason) Leeuwenb.: BRASIL, Rio Negro, Rio Cauaburi, Rio Matuacá, 13/01/1966, N. T. Silva & U. Bragão n° 272075 (INPA).

2.2.1. Métodos

Para a análise da morfologia polínica foram utilizadas pelo menos duas flores com anteras férteis, próximas à ântese, para a obtenção de uma amostra significativa. Para cada espécie analisada, foi adotado um espécime padrão que foi utilizado para a obtenção de medições e descrições. O espécime padrão está destacado com asterisco na lista de material coletado e analisado. Para material de comparação, quando possível, foi utilizado no mínimo um espécime para a confirmação dos dados.

2.2.2. Microscopia óptica (MO): acetólise e medidas

A observação sob microscopia óptica requer uma preparação anterior para que os grãos de pólen possam ser melhor visualizados. Assim, eles foram preparados pelo Método de Erdtman (1960), chamado acetólise, que torna a exina mais resistente às oxidações, ao mesmo tempo em que destrói o protoplasma, tornando os grãos de pólen vazio e transparente, seguindo as modificações propostas por Melhem et al (2003). Foram encontradas dificuldades no método tradicional da acetólise (ERDTMAN, 1960, com modificações de MELHEM et al. 2003), pois a maioria dos grãos de pólen acetolisados ficavam estourados e/ou amassados e, conseqüentemente, algumas etapas descritas a seguir foram adaptadas para os grãos de pólen das espécies aqui estudadas, e estão marcadas com um asterisco.

As etapas do método de acetólise são descritas a seguir:

1. As flores, por serem muito pequenas e estarem secas, *foram hidratadas com água e quatro gotas de glicerina aquecidos para facilitar a retirada das anteras. A seguir, sob microscópio estereoscópico, retirou-se as anteras das flores do material herborizado, com auxílio de pinças esterilizadas ao rubro, colocando-os em tubo de ensaio numerado, o que facilitou a posterior identificação do material polínico nele contido;
2. Acrescentou-se ao tubo de ensaio cerca de 5 mL de ácido acético glacial; com o auxílio de um bastão de vidro limpo, forçou-se as anteras ou botões contra parede do frasco, fazendo pressão para liberar os grãos de pólen para o meio líquido;
3. O material polínico permaneceu no ácido acético glacial, pôr no *máximo 24 horas. A passagem pelo ácido acético glacial, além de permitir melhores resultados na acetólise, tem a vantagem de fornecer lâminas limpas, sem resíduos, facilitando o trabalho e a obtenção de fotomicrografias de boa qualidade;
4. Antes da acetólise propriamente dita, eliminou-se o ácido acético glacial por centrifugação em uma rotação de 2000 rpm (rotações por minuto), por 5 minutos. Ao

decantar, descartou-se o ácido acético glacial e os restos florais, deixando no fundo do tubo de ensaio apenas os grãos de pólen que iriam ser submetidos à acetólise;

5. Juntou-se ao material polínico 5mL da mistura de acetólise, formada por uma mistura de anidrido acético (9 mL) e ácido sulfúrico (1mL). O tubo foi levado com a mistura de acetólise quente ao banho-maria a ± 80 °C até a fervura. O tempo em banho-maria foi adaptado para cada espécie ao longo do trabalho, variando de 1'20'' para *Besleria flavo-virens*, 1'35'' para *Anetanthus gracilis*, *Besleria iara*, *Besleria selloana* e 1'30'' para as demais espécies. Durante o aquecimento, misturou-se o conteúdo do tubo com um bastão de vidro limpo. A temperatura e o tempo de aquecimento variaram de acordo com a maior ou menor facilidade de penetração e reação da mistura de acetólise nos grãos de pólen e, em especial, da resistência da exina à deformação após este procedimento químico. Esse procedimento foi feito em capela de exaustão para evitar contato físico e inalação dos ácidos.
6. Centrifugou-se e descartou-se o sobrenadante, em um frasco de vidro.
7. O material contido no tubo foi lavado com cerca de 10 mL de água destilada, acrescida de 1 ou 2 gotas de álcool etílico.
8. Foi centrifugado, decantado e preparado os grãos de pólen para montagem, acrescentando ao tubo cerca de 10 mL de uma mistura de água destilada e glicerina. O material permaneceu nesta solução por 24 horas.
9. Centrifugou-se e decantou-se a mistura, mantendo o tubo de ensaio com a boca para baixo, colocando sobre papel filtro.
10. Montou-se as lâminas com auxílio de um estilete esterilizado, introduzindo-o no tubo de ensaio com um glóbulo de gelatina glicerizada, passando-a no fundo do tubo para a retirada dos grãos de pólen contidos no sedimento do tubo. Posteriormente, transferiu-se a gelatina com os grãos de pólen para a lâmina, repicando a gelatina e distribuindo-as em 4 lâminas para o material padrão e 2 lâminas para o material de comparação, todas etiquetadas com os dados da amostra. Após isso, aqueceu-se a lâmina ligeiramente sobre uma placa aquecedora a 50°C com a finalidade de derreter a gelatina e assim homogeneizá-la com os grãos de pólen e posteriormente foram inseridas as lamínulas em cima da gelatina derretida. Finalmente lutou-se as lâminas com parafina e depois retirar seu excesso, foi feita a limpeza da lâmina.

Essa técnica foi desempenhada no Laboratório de Morfologia Vegetal e Palinologia do Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária da Faculdade de Ciências Agrárias e

Veterinárias de Jaboticabal (FCAV – UNESP) e as lâminas obtidas foram incorporadas na Palinoteca desta instituição.

Para as medições, os grãos de pólen medidos foram escolhidos aleatoriamente por meio de uma varredura da lâmina sob microscópio óptico. As medidas dos diâmetros em vista polar e equatorial foram obtidas no microscópio de luz Olympus CX22LED no período de uma semana, com n= 25 (MELHEM; MATOS, 1972, SALGADO-LABOURIAU, 1973). Também foram realizadas medidas no Bel Photonics (cujo microscópio possui uma câmera acoplada e é conectado a um computador) das seguintes características: exina total, sexina, nexina, teto, comprimento e largura do colpo, margem do colpo (quando presente), comprimento e largura da endoabertura e comprimento do apocolpo, n=10.

2.2.3. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Com a finalidade de observar com detalhes a ornamentação da exina, e em alguns casos, a forma das aberturas dos grãos de pólen, foi utilizada a microscopia eletrônica de varredura. A partir da disponibilidade do material, e buscando analisar os principais tipos de ornamentação, treze espécies foram analisadas: *Besleria aggregata*, *B. barclayi*, *B. brevicalyx*, *B. gibbosa*, *B. grandifolia*, *B. laxiflora*, *B. meridionalis*, *B. parviflora*, *B. selloana*, *B. solanoidea*, *Napeanthus jelskii*, *N. macrostoma*, e *N. primulifolius*. Para a observação ao microscópio eletrônico, as preparações seguiram o protocolo para grãos de pólen não acetolisados (MELHEM et al. 2003):

1. Retirou-se de flores ou botões florais, três ou quatro anteras, com o auxílio de pinça esterilizada e lupa.
2. Recobriu-se o Stub, previamente numerado, com fita adesiva de carbono, dupla face.
3. Com auxílio de pinça e estilete esterilizados, as anteras foram rompidas, liberando assim os grãos de pólen sobre a fita adesiva que foi previamente colada ao Stub.
4. Metalizou-se o material em ouro puro, por 120 segundos.

A técnica foi executada e analisada no Laboratório de Microscopia Eletrônica da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (FCAV – UNESP). O microscópio eletrônico de varredura utilizado foi o JEOL JSM5410.

2.2.4. Microscopia eletrônica de transmissão (MET)

A análise de microscopia eletrônica de transmissão, foi realizada nas espécies *Besleria grandifolia*, *B.a longimucronata* e *B. selloana*, com o objetivo de observar e descrever detalhadamente a ultraestrutura das camadas da exina dos grãos de pólen. A preparação dos materiais seguiu o seguinte protocolo:

1. As amostras (anteras) foram fixadas com Karnousky diluído em solução tampão cacodilato de sódio (0,1M) em pequenos tubos de ensaio por 24 horas;
2. Posteriormente, as amostras foram banhadas em solução tampão cacodilato (0,1M) por três vezes durante 30 minutos;
3. Os materiais foram pós-fixados em tetróxido de ósmio (1%) durante duas horas; as amostras permaneceram na geladeira durante esse processo;
4. As amostras foram novamente banhadas em solução tampão cacodilato (0,1M) por três vezes durante 30 minutos;
5. As amostras foram contrastadas com acetato de uranila (1%) por 12 horas;
6. Em seguida, os materiais passaram por desidratação em série crescente de acetona (50%, 70%, 90% e 100%), por 10 minutos em cada etapa;
7. As amostras foram banhadas duas vezes com óxido de propileno por 20 minutos;
8. As amostras sofreram infiltração em resina *Spurr* durante 6 horas e posteriormente foram emblocadas em resina pura por 72 horas à 70°C.
9. Os blocos com as amostras foram seccionados em ultra micrótomo e depositados sobre grades de cobre previamente recobertos com formar, contrastadas com acetato de uranila (2,5%) e citrato de chumbo, segundo Reynolds (1963).

A técnica descrita acima foi realizada no Laboratório de Morfologia Vegetal e Palinologia do Departamento de Biologia Aplicada à Agropecuária da Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal (FCAV – UNESP). A análise das grades foi feita na Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto (USP), no microscópio eletrônico de transmissão JEOL JEM – 100CXII.

2.2.5. Análise estatística

Dos dados quantitativos obtidos na mensuração dos grãos de pólen, a partir das análises realizadas no material padrão, foram calculados a média aritmética (\bar{x}), o desvio padrão da média (sx), o desvio padrão da amostra (s), o coeficiente de variabilidade (CV) e o intervalo de confiança a 95% (IC). As comparações das médias entre cada espécie estudada foram realizadas através da análise do intervalo de confiança, cujos dados foram apresentados

em gráficos usando o pacote estatístico MINITAB 10.3 for Windows (VIEIRA, 1981, ZAR, 1996).

Com o auxílio do programa Fitopac (SHEPHERD, 1996), foi realizado a transformação das medidas métricas dos grãos de pólen pelo logaritmo natural $[\log(x+1)]$, e posteriormente, do programa PC-ORD versão 5,15 (McCUNE, MEFFORD, 2011), foi realizada uma ordenação pela análise de componentes principais (ACP) a partir da matriz de covariância, cujo objetivo de avaliar a influência dos dados quantitativos dos grãos de pólen na ordenação das espécies.

Para esta análise (ACP), foram utilizadas 11 variáveis métricas dos grãos de pólen, sendo elas: diâmetro equatorial em vista polar (DEVP), diâmetro polar em vista equatorial (DPVE) e equatorial em vista equatorial (DEVE), forma (FORMA), comprimento e largura do colpo (CCOM, CLAR), exina total (EXIN), sexina (SEXI), nexina (NEXI), teto (TETO) e índice de área polar (IAP). Posteriormente, foi construído um dendograma por meio da análise de cluster (AC) com base na Distância Euclidiana dos dados quantitativos, também realizada no programa PC-ORD versão 5,15 (McCUNE; MEFFORD, 2011).

2.2.6. Ilustrações

As fotomicrografias dos grãos de pólen em microscopia óptica foram realizadas com o auxílio de um microscópio óptico e uma câmera de vídeo (Leica IM50), acoplada a um computador. A partir das fotomicrografias e eletromicrografias foram elaboradas pranchas para ilustração dos grãos de pólen analisados no programa Adobe Photoshop CS5 Extended.

2.2.7. Terminologia e descrições polínicas

As descrições polínicas e a terminologia dos grãos de pólen, foram baseadas respectivamente nos glossários de Barth e Melhem (1988) e Punt et al. (2007). A classificação quanto ao tamanho e a forma seguiram a proposta de Erdtman (1952) e o índice de largura do colpo (ILC) foi descrito de acordo com Gasparino; Cruz-barros; Chautems (2013). O ILC é dado pela divisão da média do diâmetro equatorial em vista equatorial (DEVE) pela largura do colpo (CLAR) ($ILC = \bar{x} \text{ DEVE} / \bar{x} \text{ largura do colpo}$). Assim, para os resultados <5 o índice refere-se à colpos muito largos; o intervalo entre 5-7, colpos largos e os valores >7 o índice refere-se a colpos estreitos (GASPARINO; CRUZ-BARROS; CHAUTEMS, 2013). A espessura da exina, foi descrita conforme o trabalho de Faegri e Iversen (1950), na qual é calculada pela divisão do valor da média da exina total pelo valor da média do diâmetro equatorial em vista equatorial ($Ex/E = \bar{x} \text{ exina total} / \bar{x} \text{ DEVE}$). E o índice da área polar, foi

calculado pela divisão do valor da média do apocolpo pelo valor da média do diâmetro equatorial em vista polar ($IAP = \bar{x} \text{ apocolpo} / \bar{x} \text{ DEVP}$), seguindo o trabalho de Faegri e Iversen (1966). As descrições seguiram uma sequência de características: tipo polínico, polaridade, tamanho, forma, âmbito, abertura, endoabertura (quando presente) e ornamentação.

2.2.8. Reconstrução ancestral das características morfológicas dos grãos de pólen

A fim de se reconstruir os estados dos caracteres ancestrais, foram selecionadas oito características morfológicas dos grãos de pólen para as espécies do gênero *Besleria* Plum. ex L. descritas neste trabalho, sendo cinco binárias e três multiestados (T. 1). O critério para a escolha das características foi a importância do caráter para a caracterização morfológica dos grãos de pólen do gênero. Uma matriz de caracteres foi construída usando o programa Mesquite V. 2.7.5 (MADDISON; MADISSON, 2011). As árvores mais parcimoniosas foram feitas usando a opção de pesquisa heurística, e todas as características foram tratadas como não ordenadas e com peso igual. Como grupo externo foi escolhida a espécie *Napeanthus macrostoma* Leeuwenb., seguindo as características morfológicas dos grãos de pólen também descrita aqui. Foi utilizada uma filogenia molecular proposta para *Besleria* (Ferreira, 2018 – dados não publicados) para a discussão das características do pólen descritas para o gênero.

Tabela 1 – Lista de caracteres morfológicos e estados de caráter dos grãos de pólen das espécies de *Besleria* usados na reconstrução ancestral.

1. Endoabertura: (0) ausência, (1) presença.
2. Tipo de endoabertura: (0) lolongada, (1) circular.
3. Comprimento do colpo: (0) muito curto, (1) curto, (2), longo.
4. Constrição: (0) ausência, (1) presença.
5. Extremidade do colpo: (0) afilada, (1) arredondada.
6. Margem: (0) ausência, (1) presença.
7. Largura da exina: (0) muito fina, (1) fina, (2) espessa.
8. Ornamentação: (0) microrreticulada, (1) microrreticulada-rugulada, (2) rugulada, (3) rugulada-perfurada, (4) microrreticulada-fossulada, (5) fossulada.

Fonte: A autora.

3. RESULTADOS

3.1. Descrição morfológica

Os grãos de pólen das espécies brasileiras das tribos Beslerieae e Napeantheae apresentam-se em mônades; isopolares; de tamanho pequeno; com grande variação de forma, podendo ser, oblatos, suboblatos, oblatos-esferoidais, prolatos-esferoidais, subprolatos ou prolatos; âmbitos circulares, circulares-lobados, subcirculares a subtriangulares. As aberturas são 3-colpadas, 3-(4)colpadas ou 3-colporadas; colpos longos, curtos ou muito curtos; estreitos a largos; extremidades afiladas ou arredondadas, algumas vezes possuindo colpo constricto margem ou membrana ornamentada; endoabertura predominantemente lolongada, as vezes circulares. Ornamentação da exina fossulada, microrreticulada, microrreticulada-rugulada, microrreticulada-fossulada, rugulada, rugulada-perfurada. Exina variando de muito fina, fina a espessa, sexina sempre mais espessa que a nexina (Figs. 2-10 e T. 2-4).

Unidade polínica, tamanho, âmbito e forma

Todos os grãos de pólen das espécies analisadas são mônades e de tamanho pequeno. As médias dos tamanhos do diâmetro polar em vista equatorial variam no mínimo de 13,50 μm em *Besleria flavo-virens* a no máximo 23,30 μm em *B. neblinae*. Para o diâmetro equatorial em vista equatorial, as médias variam entre 14,00 μm (*B. flavo-virens*) a 23,50 μm (*B. macahensis*) (T. 2)

Os âmbitos dos grãos de pólen variaram de circulares, circulares-lobados, subcirculares a subtriangulares. Houve uma variação de âmbito dentro de uma mesma amostra para quase todas as espécies, sendo exclusivamente circular apenas em *Anetanthus gracilis* (Fig. 2A), *Besleria parviflora* (Fig. 6A), *B. selloana* (Fig. 6E), e *Tylopsacas cuneatum* (Fig. 6L, 6M) e exclusivamente subtriangular em *B. iara* (Fig. 4E), *Napeanthus jelskii* (Fig. 7A) e *N. macrostoma* (Fig. 7D) (T. 3).

Quanto à forma (relação P/E), os grãos de pólen estão, predominantemente, dentro da classe dos oblatos, variando entre suboblatos (*Besleria barclayi* (Fig. 2J), *B. solanoides* (Fig. 6J), *Napeanthus jelskii* (Fig. 7B) e *N. macrostoma* (Fig. 7E) ou oblatos-esferoidais (maioria das espécies). Dentro da classe dos prolatos, verificou-se grãos prolatos-esferoidais (*Anetanthus gracilis* (Fig. 2B), *B. iara* (Fig. 4F), *B. melancholica* (Fig. 5F) e *B. selloana* (Fig. 6F), subprolatos (*B. diabolica* (Fig. 3C) e *B. meridionalis* (Fig. 5J) ou prolatos (*B. neblinae* (Fig. 5N). É importante destacar que também houve uma variação quanto à forma dentro da amostra para todas as espécies estudadas, e que em *B. iara* e *B. melancholica* a forma polínica

predominante foi subprolata, mesmo que a média em relação a P/E tenha sido de grãos prolatos-esferoidais. (T. 3).

Abertura e ornamentação

3-colpadas

Grãos de pólen colpados foram observados nas espécies *Besleria aggregata* (Fig. 2E-H), *B. barclayi* (Fig. 2I-L), *B. diabolica* (Fig. 3A-E'), *B. iara* (Fig. 4E-G) e *B. solanoides* (Fig. 6I-K). Os colpos são muito curtos e estreitos em *B. barclayi* e *B. iara*; curtos e estreitos em *B. aggregata* e *B. solanoides*; e colpos longos e estreitos, apresentando uma leve constrição em *B. diabolica* (Fig. 3D). Vale ressaltar que foram observados cerca de 12% de grãos de pólen 4 colpados em *B. diabolica* (Fig. 3B) (T. 3,4).

Para as espécies com grãos de pólen colpados foram observadas as ornamentações rugulada (*B. aggregata* - Fig. 2H, 8A e *B. barclayi* - Fig. 2L, 8B), rugulada-perfurada (*B. solanoides* - Fig. 6K, 9J) e microrreticulada (*B. iara* - Fig. 4G).

3-colporadas

As demais espécies estudadas apresentam abertura colporada nos seus grãos de pólen, e foram subdivididas quanto ao comprimento e largura da ectoabertura.

Colpo muito curto e estreito

Espécie: *Napeanthus macrostoma* (Fig. 7D-F).

Extremidades dos colpos arredondadas (Fig. 7D), e endoaberturas alongadas (T. 3,4).

Colpo curto e estreito

Espécies: *Anetanthus gracilis* (Fig. 2A-D), *Besleria brevicalyx* (Fig. 2M-O'), *B. flavo-virens* (Fig. 3F-I), *B. gibbosa* (Fig. 3M-O), *B. laxiflora* (Fig. 4H-J), *B. melancholica* (Fig. 5E-G), *B. selloana* (Fig. 6E-H'), *Napeanthus jelskii* (Fig. 7A-C'), *N. reitzii* (Fig. 7K-L).

As extremidades dos colpos são arredondadas em *A. gracilis* (Fig. 2A), *B. gibbosa* (Fig. 3M), *B. laxiflora* (Fig. 4H), *N. jelskii* (Fig. 7A) e *N. reitzii* (Fig. 7K). Afiladas em *B. brevicalyx* (Fig. 2M), *B. flavo-virens* (Fig. 3F), *B. melancholica* (Fig. 5E) e *B. selloana* (Fig. 6E, 9F).

Margens nos colpos foram observadas em *B. melancholica* (Fig. 5F-G) e *B. selloana* (Fig. 6G, 9G). Quando comparadas as espessuras das margens, *B. melancholica* tem a margem mais espessa (1,15 μm) em relação a *B. selloana* (0,94 μm) (T. 4).

As espécies *B. laxiflora* (Fig. 4J), *B. gibbosa* (Fig. 3N) e *B. selloana* (Fig. 6G) possuem constrição nos colpos.

Apenas *A. gracilis* (Fig. 2C) possui membrana ornamentada no colpo.

Endoaberturas lolongadas estão presentes em *A. gracilis* (Fig. 2C), *B. brevicalyx* (Fig. 2N), *B. laxiflora* (Fig. 4J), *B. melancholica* (Fig. 5F-G), *B. selloana* (Fig. 6G) e *N. reitzii* (Fig. 7L), e circulares em *B. flavo-virens* (Fig. 3H), *B. gibbosa* (Fig. 3N) e *N. jelskii* (T. 3,4).

Colpo longo e estreito

Espécies: *Besleria fluminensis* (Fig. 3J-L'), *B. longimucronata* (Fig. 4K-O'), *B. macahensis* (Fig. 5A-D), *B. meridionalis* (Fig. 5H-K), *B. neblinae* (Fig. 5L-O), *B. parviflora* (Fig. 6A-D), *Tylopsacas cuneatum* (Fig. 6L-O'), *Napeanthus primulifolius* (Fig. 7G-J').

Extremidades dos colpos arredondadas estão presente em *B. fluminensis* (Fig. 3J), *B. meridionalis* (Fig. 5H-I), e extremidades afiladas em *B. longimucronata* (Fig. 4K), *B. macahensis* (Fig. 5A), *B. neblinae* (Fig. 5L), *B. parviflora* (Fig. 6A-B), *T. cuneatum* (Fig. 6L-M). *N. primulifolius* (Fig. 7H).

O colpo é constricto em *B. macahensis* (Fig. 5C), *B. meridionalis* (Fig. 5K), *B. neblinae* (Fig. 5O).

A membrana ornamentada no colpo é presente em *B. meridionalis* (Fig. 5K, 9B-C), *B. parviflora* (Fig. 6D).

As espécies que apresentam endoabertura lolongada são *B. fluminensis* (Fig. 3K), *B. macahensis* (Fig. 5C), *B. meridionalis* (Fig. 5K), *B. neblinae* e *B. parviflora* (Fig. 6D). A endoabertura circular está presente em *B. longimucronata*, *T. cuneatum*, *N. primulifolius* (Fig. 7I) (T, 3,4).

Em *Besleria longimucronata* muitas vezes, os colpos longos se encontram e formam sincólporos (Fig. 4L).

Colpo longo e largo

Espécie: *B. grandifolia* (Fig. 4A-D, 8I-L)

Colpo com extremidade afilada (Fig. 4B, 8I), levemente constricto (Fig. 4C-D), com membrana ornamentada no colpo (Fig. 4D, 8K) e endoabertura lolongada (Fig 4D) (T, 3,4).

Quanto à ornamentação, a maioria das espécies com grãos de pólen colporados são microrreticuladas (*Anethanthus gracilis*- Fig. 2D, *Besleria brevicalyx*- Fig. 2O-O', 8C-E, *B. flavo-virens*- Fig. 3I-I', *B. fluminensis*- Fig. 3L-L', *B. grandifolia*- Fig. 8I-L, *B. macahensis*- Fig. 5D, *B. neblinae*- Fig. 5M, *B. parviflora*- Fig. 9-D-E, *B. selloana* Fig. 6H-H', 9F-H e

Tylopsacas cuneatum Fig. 6O-O'). Foi observada ornamentação da exina microrreticulada-rugulada em *B. melancholica* (Fig. 5E-G) fossulada em *B. meridionalis* (Fig. 9A-C), e rugulada em *B. laxiflora* (Fig. 8M-O), *B. gibbosa* (Fig. 3O, 8F-H) e *B. longimucronata* (Fig. 4M, O-O'). Sob MEV foi possível observar perfurações na exina de *B. gibbosa* (Fig. 8H) e por meio de microscopia ótica perfurações em *B. longimucronata* (Fig. 4O-O'), sendo assim, classificadas como ruguladas-perfuradas. Para *B. parviflora* a ornamentação da exina foi caracterizada como microrreticulada em microscopia ótica, entretanto foi observada uma superfície irregular em seus grãos de pólen em microscopia eletrônica de varredura, lembrando rúgulas (Fig. 9E). Os muros dos microrretículos das espécies de *Napeanthus* formam aglomerados onde a ornamentação da exina se apresenta com aspecto fossulado, sendo classificada como microrreticulada-fossulada (Fig. 7C-C', F-F', J-J'; 10A-H).

No geral, todas as espécies apresentam exina fina, exceto em *Besleria aggregata* e *B. barclayi* onde a exina é muito fina e *B. neblinae* e *Napeanthus primulifolius* onde ela se caracteriza por ser espessa. A camada da sexina foi sempre mais espessa que a camada da nexina, sendo em *N. macrostoma* a camada menos espessa (0,84 μm) e em *N. jelskii* (1,35 μm) a camada mais espessa de sexina. (T. 4).

A análise da estrutura da exina sob microscopia eletrônica de transmissão mostra que em *Besleria grandifolia* (Fig. 9 K-L) o teto é espesso e ondulado, as columelas são mal definidas e intina é grossa. Em *Besleria longimucronata* (Fig. 9M) o teto é contínuo, não muito espesso e as columelas são longas. Nas duas espécies a nexina 2 é mais espessa que a nexina 1, e há a presença de um material denso entre as columelas, que provavelmente venha ser pólen kit (indicada pela seta). Na parede da exina de *Besleria selloana* (Fig. 9N) pode-se observar a nexina 1 mais espessa que a nexina 2, e a ausência da sexina na área de abertura (indicada pela seta).

Tabela 2 – Dados quantitativos dos grãos de pólen das espécies brasileiras das Tribos Beslerieae Bartl. e Napeantheae Wiehler com base nas medidas dos diâmetros equatoriais e diâmetros polares (n=25).

Espécies	(Xmim – Xmax) $x \pm sx$	S	IC	CV%
	Diâmetro equatorial em vista polar			
<i>Anethanthus gracilis</i>	(15,00 – 22,50) 16,80 \pm 0,42	2,11	(15,93 – 17,67)	12,54
<i>Besleria aggregata</i>	(20,00 – 25,00) 22,00 \pm 0,35	1,77	(21,27 – 22,73)	8,04
<i>Besleria barclayi</i>	(15,00 – 22,50) 19,10 \pm 0,35	1,75	(18,38 – 19,82)	9,16
<i>Besleria brevicalyx</i>	(17,50 – 22,50) 20,10 \pm 0,27	1,35	(19,54 – 20,66)	6,70
<i>Besleria diabolica</i>	(17,50 – 22,50) 19,70 \pm 0,33	1,66	(19,01 – 20,39)	8,45
<i>Besleria flavo-virens</i>	(12,50 – 15,00) 13,40 \pm 0,24	1,22	(12,89 – 13,91)	9,14
<i>Besleria fluminensis</i>	(17,50 – 20,00) 18,90 \pm 0,25	1,27	(18,38 – 19,42)	6,70
<i>Besleria gibbosa</i>	(17,50 – 22,50) 20,60 \pm 0,30	1,49	(19,98 – 21,22)	7,25
<i>Besleria grandifolia</i>	(15,00 – 20,00) 17,90 \pm 0,24	1,18	(17,41 – 18,39)	6,60
<i>Besleria iara</i>	(15,00 – 20,00) 16,90 \pm 0,30	1,49	(16,28 – 17,52)	8,83
<i>Besleria laxiflora</i>	(15,00 – 20,00) 18,00 \pm 0,25	1,25	(17,48 – 18,52)	6,94
<i>Besleria longimucronata</i>	(17,50 – 20,00) 19,30 \pm 0,23	1,15	(18,83 – 19,77)	5,94
<i>Besleria macahensis</i>	(20,00 – 25,00) 23,20 \pm 0,27	1,35	(22,64 – 23,76)	5,84
<i>Besleria melancholica</i>	(15,00 – 22,50) 19,70 \pm 0,39	1,95	(18,89 – 20,51)	9,91
<i>Besleria meridionalis</i>	(17,50 – 20,00) 18,50 \pm 0,25	1,25	(17,98 – 19,02)	6,76
<i>Besleria neblinae</i>	(15,00 – 20,00) 18,40 \pm 0,32	1,59	(17,74 – 19,06)	8,66
<i>Besleria parviflora</i>	(15,00 – 17,50) 16,50 \pm 0,25	1,25	(15,98 – 17,02)	7,58
<i>Besleria seloana</i>	(17,50 – 22,50) 21,20 \pm 0,29	1,46	(20,60 – 21,80)	6,91
<i>Besleria solanoides</i>	(15,00 – 17,50) 16,20 \pm 0,25	1,27	(15,67 – 16,73)	7,87
<i>Tylopsacas cuneatum</i>	(17,50 – 22,50) 19,70 \pm 0,30	1,50	(19,08 – 20,32)	7,61
<i>Napeanthus jelskii</i>	(16,50 – 20,50) 18,60 \pm 0,25	1,24	(18,12 – 19,15)	6,68
<i>Napeanthus macrostoma</i>	(15,00 – 17,50) 17,20 \pm 0,17	0,83	(16,86 – 17,54)	4,82
<i>Napeanthus primulifolius</i>	(12,50 – 15,00) 14,70 \pm 0,17	0,83	(14,36 – 15,04)	5,64
<i>Napeanthus reitzii</i>	(17,50 – 20,00) 19,20 \pm 0,24	1,19	(18,71 – 19,69)	6,20

Xmin = menor valor observado (μm), Xmax = maior valor observado (μm), x = média aritmética (μm), sx = desvio padrão da média (μm), s = desvio padrão da amostra (μm), IC = intervalo de confiança a 95 % (μm), CV = coeficiente de variabilidade (%). Fonte: A autora.

Continua

Continuação

Espécies	(X _{mim} – X _{max}) $x \pm sx$	S	IC	CV%
	Diâmetro polar em vista equatorial			
<i>Anetanthus gracilis</i>	(15,00 – 22,50) 17,40 ± 0,42	2,10	(16,53 – 18,27)	12,08
<i>Besleria aggregate</i>	(17,50 – 25,00) 20,90 ± 0,45	2,27	(19,96 – 21,84)	10,85
<i>Besleria barclayi</i>	(15,00 – 20,00) 16,70 ± 0,28	1,39	(16,13 – 17,27)	8,33
<i>Besleria brevicalyx</i>	(17,50 – 25,00) 19,80 ± 0,29	1,43	(19,21 – 20,39)	7,22
<i>Besleria diabolica</i>	(17,50 – 25,00) 21,90 ± 0,36	1,81	(21,15 – 22,65)	8,26
<i>Besleria flavo-virens</i>	(12,50 – 15,00) 13,50 ± 0,25	1,25	(12,98 – 14,02)	9,26
<i>Besleria fluminensis</i>	(15,00 – 22,50) 18,30 ± 0,40	2,01	(17,47 – 19,13)	10,96
<i>Besleria gibbosa</i>	(17,50 – 22,50) 19,90 ± 0,27	1,35	(19,34 – 20,46)	6,77
<i>Besleria grandifolia</i>	(15,00 – 20,00) 16,90 ± 0,30	1,49	(16,28 – 17,52)	8,83
<i>Besleria iara</i>	(15,00 – 20,00) 17,40 ± 0,27	1,35	(16,84 – 17,96)	7,74
<i>Besleria laxiflora</i>	(15,00 – 22,50) 18,60 ± 0,36	1,78	(17,87 – 19,33)	9,57
<i>Besleria longimucronata</i>	(15,00 – 20,00) 17,30 ± 0,25	1,23	(16,79 – 17,81)	7,13
<i>Besleria macahensis</i>	(20,00 – 25,00) 22,30 ± 0,29	1,43	(21,71 – 22,89)	6,41
<i>Besleria melancholica</i>	(15,00 – 22,50) 19,90 ± 0,37	1,84	(19,14 – 20,66)	9,23
<i>Besleria meridionalis</i>	(17,50 – 22,50) 19,80 ± 0,29	1,43	(19,21 – 20,39)	7,22
<i>Besleria neblinae</i>	(22,50 – 25,00) 23,30 ± 0,24	1,19	(22,81 – 23,79)	5,11
<i>Besleria parviflora</i>	(12,50 – 20,00) 15,50 ± 0,29	1,44	(14,90 – 16,10)	9,31
<i>Besleria selloana</i>	(20,00 – 25,00) 22,00 ± 0,29	1,44	(21,40 – 22,60)	6,56
<i>Besleria solanoides</i>	(12,50 – 15,00) 13,60 ± 0,25	1,27	(13,08 – 14,12)	9,31
<i>Tylopsacas cuneatum</i>	(17,50 – 22,50) 19,10 ± 0,28	1,42	(18,51 – 19,69)	7,44
<i>Napeanthus jelskii</i>	(14,50 – 19,00) 16,70 ± 0,22	1,12	(16,69 – 16,69)	6,72
<i>Napeanthus macrostoma</i>	(12,50 – 17,50) 14,50 ± 0,29	1,44	(13,90 – 15,10)	9,95
<i>Napeanthus primulifolius</i>	(12,50 – 17,50) 13,90 ± 0,29	1,46	(13,30 – 14,50)	10,49
<i>Napeanthus reitzii</i>	(17,50 – 20,00) 18,40 ± 0,24	1,22	(17,89 – 18,91)	6,66

X_{min} = menor valor observado (µm), X_{max} = maior valor observado (µm), x = média aritmética (µm), sx = desvio padrão da média (µm), s = desvio padrão da amostra (µm), IC = intervalo de confiança a 95 % (µm), CV = coeficiente de variabilidade (%). Fonte: A autora.

Continua

Continuação

Espécies	(X _{mim} – X _{max}) $x \pm sx$	S	IC	CV%
	Diâmetro equatorial em vista equatorial			
<i>Anetanthus gracilis</i>	(12,50 – 20,00) 16,00 ± 0,38	1,91	(15,21 – 16,79)	11,93
<i>Besleria aggregate</i>	(20,00 – 25,00) 22,60 ± 0,31	1,53	(21,97 – 23,23)	6,76
<i>Besleria barclayi</i>	(17,50 – 22,50) 19,90 ± 0,23	1,14	(19,43 – 20,37)	5,71
<i>Besleria brevicalyx</i>	(15,00 – 20,00) 17,80 ± 0,36	1,81	(17,05 – 18,55)	10,19
<i>Besleria diabolica</i>	(15,00 – 22,50) 19,00 ± 0,35	1,77	(18,27 – 19,73)	9,30
<i>Besleria flavo-virens</i>	(12,50 – 17,50) 14,00 ± 0,29	1,44	(13,40 – 14,60)	10,31
<i>Besleria fluminensis</i>	(15,00 – 22,50) 19,10 ± 0,35	1,75	(18,38 – 19,82)	9,16
<i>Besleria gibbosa</i>	(17,50 – 25,00) 21,50 ± 0,32	1,61	(20,83 – 22,17)	7,51
<i>Besleria grandifolia</i>	(15,00 – 20,00) 17,50 ± 0,29	1,44	(16,90 – 18,10)	8,25
<i>Besleria iara</i>	(12,50 – 17,50) 15,70 ± 0,37	1,84	(14,94 – 16,46)	11,74
<i>Besleria laxiflora</i>	(15,00 – 22,50) 19,00 ± 0,38	1,91	(18,21 – 19,79)	10,05
<i>Besleria longimucronata</i>	(17,50 – 22,50) 19,30 ± 0,31	1,53	(18,67 – 19,93)	7,95
<i>Besleria macahensis</i>	(20,00 – 27,50) 23,50 ± 0,53	2,28	(22,56 – 24,44)	9,71
<i>Besleria melancholica</i>	(15,00 – 22,50) 17,80 ± 0,46	2,32	(16,84 – 18,76)	13,02
<i>Besleria meridionalis</i>	(15,00 – 20,00) 17,30 ± 0,32	1,60	(16,64 – 17,96)	9,25
<i>Besleria neblinae</i>	(12,50 – 17,50) 14,70 ± 0,30	1,50	(14,08 – 15,32)	10,20
<i>Besleria parviflora</i>	(12,50 – 20,00) 15,90 ± 0,32	1,59	(15,24 – 16,56)	10,03
<i>Besleria selloana</i>	(17,50 – 22,50) 20,60 ± 0,33	1,66	(19,92 – 21,28)	8,05
<i>Besleria solanoides</i>	(15,00 – 17,50) 17,10 ± 0,19	0,94	(16,71 – 17,49)	5,47
<i>Tylopsacas cuneatum</i>	(15,20 – 20,00) 19,30 ± 0,27	1,35	(18,74 – 19,86)	7,02
<i>Napeanthus jelskii</i>	(17,20 – 23,50) 20,41 ± 0,34	8,36	(19,71 – 20,41)	8,36
<i>Napeanthus macrostoma</i>	(15,00 – 17,50) 17,40 ± 0,10	0,50	(17,19 – 17,61)	2,87
<i>Napeanthus primulifolius</i>	(12,50 – 17,50) 14,20 ± 0,28	1,39	(13,63 – 14,77)	9,80
<i>Napeanthus reitzii</i>	(15,00 – 20,00) 18,40 ± 0,28	1,42	(17,81 – 18,99)	7,73

X_{min} = menor valor observado (µm), X_{max} = maior valor observado (µm), x = média aritmética (µm), sx = desvio padrão da média (µm), s = desvio padrão da amostra (µm), IC = intervalo de confiança a 95 % (µm), CV = coeficiente de variabilidade (%). Fonte: A autora.

Conclusão.

Tabela 3 - Caracterização morfológica dos grãos de pólen das espécies brasileiras das Tribos Beslerieae Bartl. e Napeantheae Wiehler.

Espécies	Âmbito	P/E	Forma (variação)	Aberturas	IAP	ILC	Endo	Exina
<i>Anethanthus gracilis</i>	Cir	1,09	PE* (SO, SP, P)	3-colporada	0,54	12,21	LO	MIC
<i>Besleria aggregata</i>	Cir, Subc, Subt	0,92	OE*(SO, PE SP)	3-colpada	0,69	18,58	-	RUG
<i>Besleria barclayi</i>	Subc, Subt	0,80	SO* (O, OE)	3-colpada	0,82	11,87	-	RUG
<i>Besleria brevicalyx</i>	Cir, Cir Lob, Subc	0,99	OE* (SO, PE, SP)	3-colporada	0,66	10,57	LO	MIC
<i>Besleria diabolica</i>	Cir, Cir Lob	1,15	SP* (SO, PE, P)	3-(4)colpada	0,45	9,99	-	MIC-RUG
<i>Besleria flavo-virens</i>	Cir, Subt	0,96	OE* (SO, SP)	3-colporada	0,71	9,40	CIR	MIC
<i>Besleria fluminensis</i>	Cir Lob, Subc	0,96	OE* (O, SO, SP, P)	3-colporada	0,44	10,04	LO	MIC
<i>Besleria gibbosa</i>	Cir, Subc	0,93	OE* (O, SO, PE, SP)	3-colporada	0,58	8,85	CIR	RUG-PER
<i>Besleria grandifolia</i>	Cir, Cir Lob	0,97	OE* (O, SO, SP, P)	3-colporada	0,37	6,13	LO	MIC
<i>Besleria iara</i>	Subt	1,11	PE (SO, SP*, P)	3-colpada	1,00	17,25	-	MIC
<i>Besleria laxiflora</i>	Cir, Subc, Subt	0,98	OE* (SO, SP)	3-colporada	0,53	12,72	LO	RUG
<i>Besleria longimucronata</i>	Subc, Subt	0,90	OE* (O, SP)	3-colporada	0,46	10,76	CIR	RUG-PER
<i>Besleria macahensis</i>	Cir, Subc, Subt	0,95	OE* (SO, PE, SP)	3-colporada	0,35	9,76	LO	MIC
<i>Besleria melancholica</i>	Cir, Subt	1,11	PE (SO, OE, SP*, P)	3-colporada	0,66	11,38	LO	MIC-RUG
<i>Besleria meridionalis</i>	Cir, Cir Lob	1,14	SP* (OE, PE, P)	3-colporada	0,50	10,97	LO	FOS
<i>Besleria neblinae</i>	Cir Lob, Subc	1,59	PR* (SP)	3-colporada	0,45	8,09	LO	MIC
<i>Besleria parviflora</i>	Cir	0,97	OE* (SO, SP)	3-colporada	0,40	9,62	LO	MIC
<i>Besleria selloana</i>	Cir	1,07	PE* (OE, SP)	3-colporada	0,67	10,34	CIR	MIC
<i>Besleria solanoides</i>	Subc, Subt	0,80	SO* (O)	3-colpada	0,84	15,70	-	RUG-PER
<i>Tylopsacas cuneatum</i>	Cir	0,99	OE* (SO, PE)	3-colporada	0,39	13,00	CIR	MIC
<i>Napeanthus jelskii</i>	Subt	0,82	SO* (O, OE)	3-colporada	0,70	9,40	CIR	MIC-FOSS
<i>Napeanthus macrostoma</i>	Subt	0,83	SO* (O, OE)	3-colporada	0,87	16,39	LO	MIC-FOSS
<i>Napeanthus primulifolius</i>	Cir, Subc, Subt	0,98	OE* (SO, SP)	3-colporada	0,45	9,30	CIR	MIC-FOSS
<i>Napeanthus reitzii</i>	Cir, Subc	1,00	OE* (SO, PE)	3-colporada	0,62	15,60	LO	MIC-FOSS

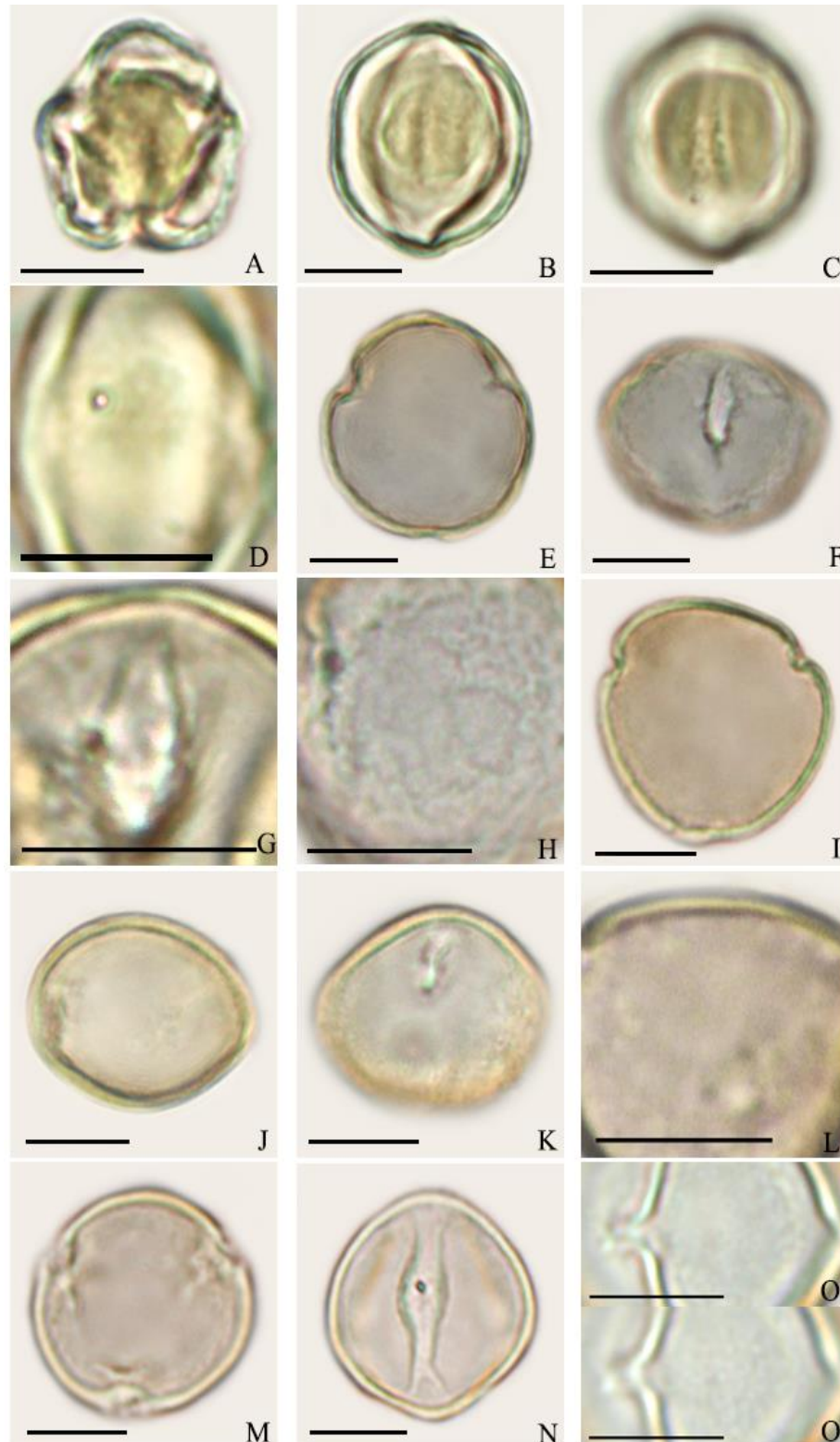
P/E = relação diâmetro polar/diâmetro equatorial, em vista equatorial, O = oblato, SO = suboblato, OE = oblato-esferoidal, PE = prolato-esferoidal, P=prolato, SP = subprolato, * = forma predominante, IAP = Índice de Área Polar, ILC = Índice de largura do colpo, Endo = endoabertura, MIC = microrreticulado, MIC-RUG= microrreticulado- rugulado, RUG = rugulado, RUG-PER = rugulado-perfurado, MIC-FOSS = microrreticulado-fossulado. Fonte: A autora.

Tabela 4 - Média aritmética, em μm , das medidas das aberturas e camadas da exina dos grãos de pólen das espécies brasileiras das Tribos Beslerieae Bartl. e Napeantheae Wiehler.

Espécie	Colpo		Endoabertura		Margem	Exina	Sexina	Nexina	Teto
	Larg.	Comp.	Larg.	Comp.					
<i>Anethanthus gracilis</i>	1,31	14,30	2,90	4,47	-	*1,40	*1,01	*0,38	*0,35
<i>Besleria aggregata</i>	1,22	4,58	-	-	-	1,35	1,02	0,33	0,32
<i>Besleria barclayi</i>	1,76	12,37	-	-	-	1,25	0,95	0,30	0,28
<i>Besleria brevicalyx</i>	1,88	16,91	3,42	4,20	-	1,33	1,00	0,33	0,34
<i>Besleria diabolica</i>	1,90	16,37	-	-	-	1,47	1,11	0,35	0,39
<i>Besleria flavo-virens</i>	1,49	9,47	3,24	3,74	-	1,15	0,90	0,25	0,29
<i>Besleria fluminensis</i>	1,91	16,31	2,74	4,44	-	1,54	1,19	0,35	0,37
<i>Besleria gibbosa</i>	1,90	17,62	3,15	3,74	-	1,73	1,34	0,39	0,36
<i>Besleria grandifolia</i>	2,85	14,58	4,20	5,34	-	1,62	1,27	0,35	0,35
<i>Besleria iara</i>	0,91	12,90	-	-	-	1,28	0,91	0,37	0,31
<i>Besleria laxiflora</i>	1,49	16,25	3,35	5,07	-	1,41	1,04	0,37	0,40
<i>Besleria longimucronata</i>	1,79	11,96	3,00	3,41	-	1,52	1,19	0,33	0,37
<i>Besleria macahensis</i>	2,41	17,39	3,56	4,26	-	1,70	1,33	0,37	0,42
<i>Besleria melancholica</i>	1,56	14,48	3,40	4,70	1,15	1,30	0,95	0,35	0,34
<i>Besleria meridionalis</i>	1,58	15,06	2,83	3,78	-	1,46	1,09	0,37	0,39
<i>Besleria neblinae</i>	1,82	16,59	2,70	3,60	-	1,55	1,18	0,37	0,35
<i>Besleria parviflora</i>	1,65	12,36	2,70	4,21	-	1,46	1,10	0,36	0,36
<i>Besleria selloana</i>	1,99	18,31	2,34	3,34	0,94	1,55	1,18	0,37	0,35
<i>Besleria solanoides</i>	1,09	3,93	-	-	-	1,28	0,99	0,29	0,31
<i>Tylopsacas cuneatum</i>	1,48	13,57	2,82	2,74	-	1,49	0,88	0,61	0,29
<i>Napeanthus jelskii</i>	2,71	11,80	3,59	3,82	-	1,94	1,35	0,59	0,51
<i>Napeanthus macrostoma</i>	1,06	6,11	1,10	3,93	-	1,26	0,84	0,43	0,25
<i>Napeanthus primulifolius</i>	1,53	10,86	3,39	3,94	-	1,86	1,29	0,57	0,48
<i>Napeanthus reitzii</i>	1,18	15,17	2,73	3,81	-	1,71	1,17	0,55	0,46

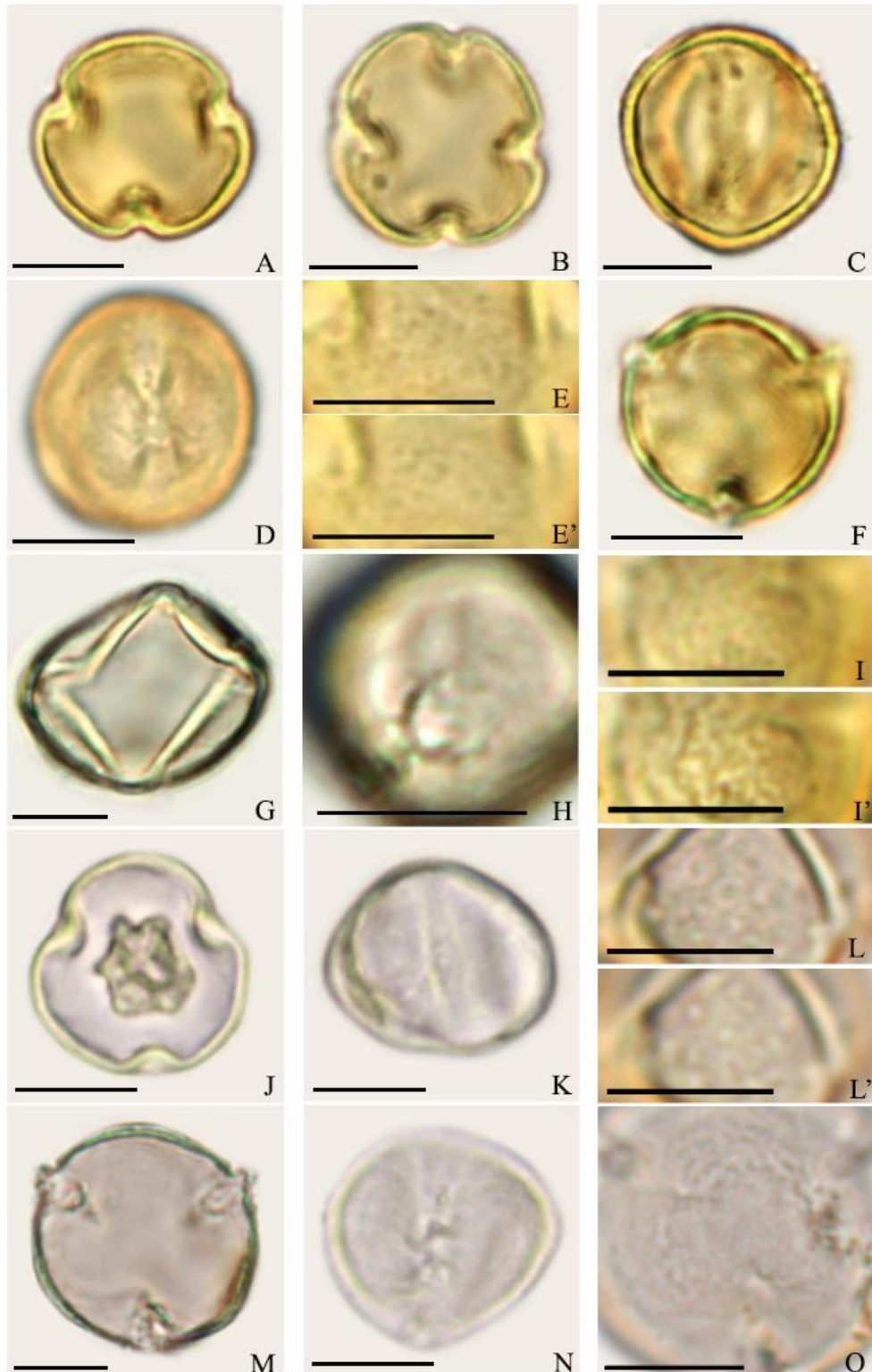
Larg. = largura, Comp. = comprimento, valor da Sexina = Sexina + Teto. *n<10. Fonte: A autora.

Figura 2- Fotomicrografias dos grãos de pólen das espécies brasileiras da Tribo Beslerieae Bartl.



A-D: *Anetanthus gracilis* Hiern. A- Vista polar. B- Vista equatorial. C- Vista equatorial evidenciando a abertura com membrana ornamentada. D- Ornamentação microrreticulada. E-H: *Besleria aggregata* (Mart.) Hanst. E- Vista polar. F- Vista equatorial. G. Detalhe do brevicolpo. H. Detalhe da ornamentação rugulada. I-L: *Besleria barclayi* L. E. Skog. I- Vista polar. J- Vista equatorial. – K- Vista equatorial. L- Detalhe da ornamentação rugulada. M-O': *Besleria brevicalyx* G.E.Ferreira & Chautems. M- Vista polar. N- Vista equatorial. O-O'- Ornamentação microrreticulada (Análise de LO). Escala = 10 μ m. Fonte: autora.

Figura 3- Fotomicrografias dos grãos de pólen das espécies brasileiras da Tribo Beslerieae Bartl.



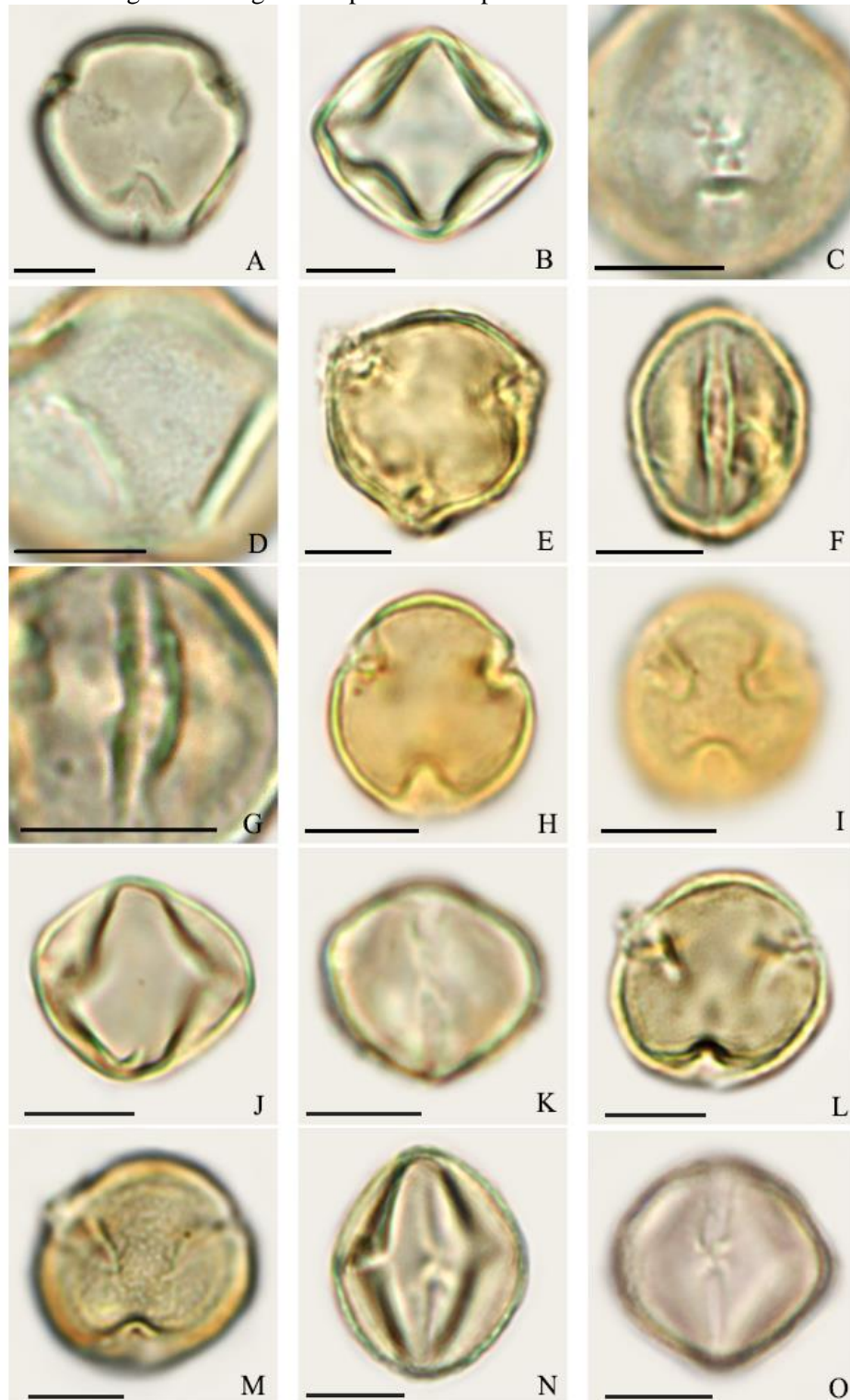
A-E': *Besleria diabolica* G.E. Ferreira & Chautems. A- Vista polar (3-colpado). B- Vista polar (4-colpado). C- Vista equatorial. D- Vista equatorial evidenciando o colpo com uma leve constrição. E-E': Ornamentação microrreticulada-rugulada (Análise de LO). F-I: *Besleria flavo-virens* Nees & Mart. F- Vista polar. G- Vista equatorial. H- Detalhe evidenciando a endoabertura circular. I-I'- Ornamentação microrreticulada (Análise de LO). J-L': *Besleria fluminensis* Brade. J- Vista polar. K- Vista equatorial. L-L': Ornamentação microrreticulada (Análise de LO). M-O: *Besleria gibbosa* (Poepp.) Hanst. M- Vista polar. N- Vista equatorial. O- Ornamentação rugulada-perfurada. Escala = 10µm. Fonte: A autora.

Figura 4- Fotomicrografias dos grãos de pólen das espécies brasileiras da Tribo Beslerieae Bartl.



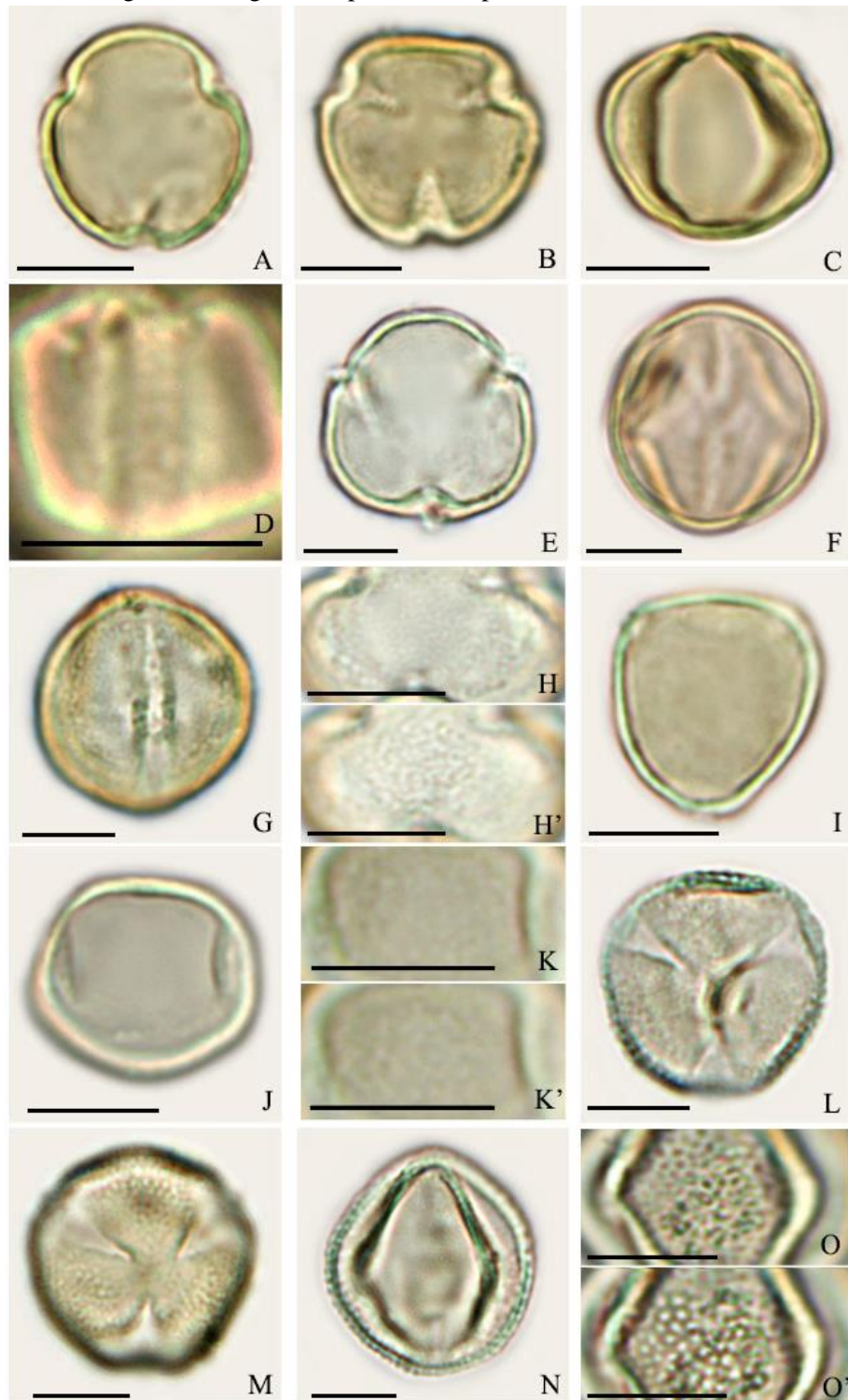
A-D: *Besleria grandifolia* Schott. A- Vista polar, contorno. B- Vista polar demonstrando a extremidade das aberturas. C- Vista equatorial. D- Detalhe do colpo com membrana ornamentada. E-G: *Besleria iara* G. E. Ferreira & M. J. G. Hopkins. E- Vista polar. F- Vista equatorial. G-G'- ornamentação microrreticulada. H-J: *Besleria laxiflora* Benth. H- Vista polar. I- Vista equatorial. J- Detalhe do colpo com constrição. K-O': *Besleria longimucronata* Hoehne. K- Vista polar contorno. L- Vista polar demonstrando o sincólporo. M- Vista polar demonstrando a extremidade das aberturas. N- Vista equatorial. O-O'- ornamentação rugulada-perfurada (Análise de LO). Escala = 10 μ m. Fonte: A autora.

Figura 5- Fotomicrografias dos grãos de pólen das espécies brasileiras da Tribo Beslerieae Bartl.



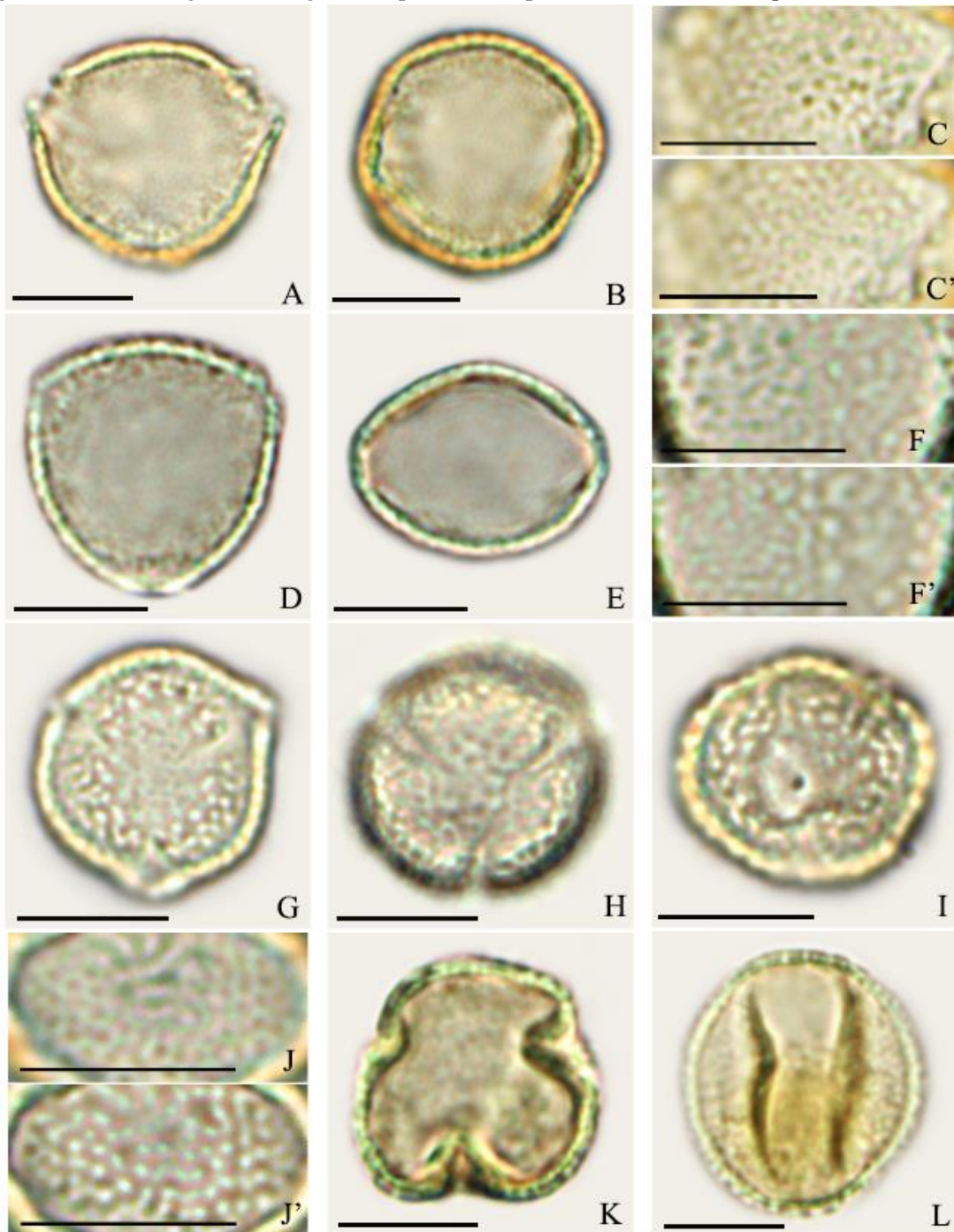
A-D: *Besleria macahensis* Brade. A- Vista polar evidenciando as extremidades das aberturas. B- Vista equatorial. C- Detalhe demonstrando o colpo constrito. D- Detalhe evidenciando a ornamentação microrreticulada. E-G- *Besleria melancholica* (Vell.) C.V.Morton. E- Vista polar. F- Vista equatorial. G- Detalhe do cólporo com margem. H-K: *Besleria meridionalis* C.V.Morton. H- Vista polar. I- Vista polar evidenciando as extremidades das aberturas. J- Vista equatorial. K- Vista equatorial evidenciando o colpo constrito. L-O: *Besleria neblinae* Feuillet. L- Vista polar, contorno. M- Vista polar evidenciando as extremidades das aberturas. N- Vista equatorial. O- Vista equatorial evidenciando o colpo constrito. Escala = 10 μ m. Fonte: A autora.

Figura 6- Fotomicrografias dos grãos de pólen das espécies brasileiras da Tribo Beslerieae Bartl.



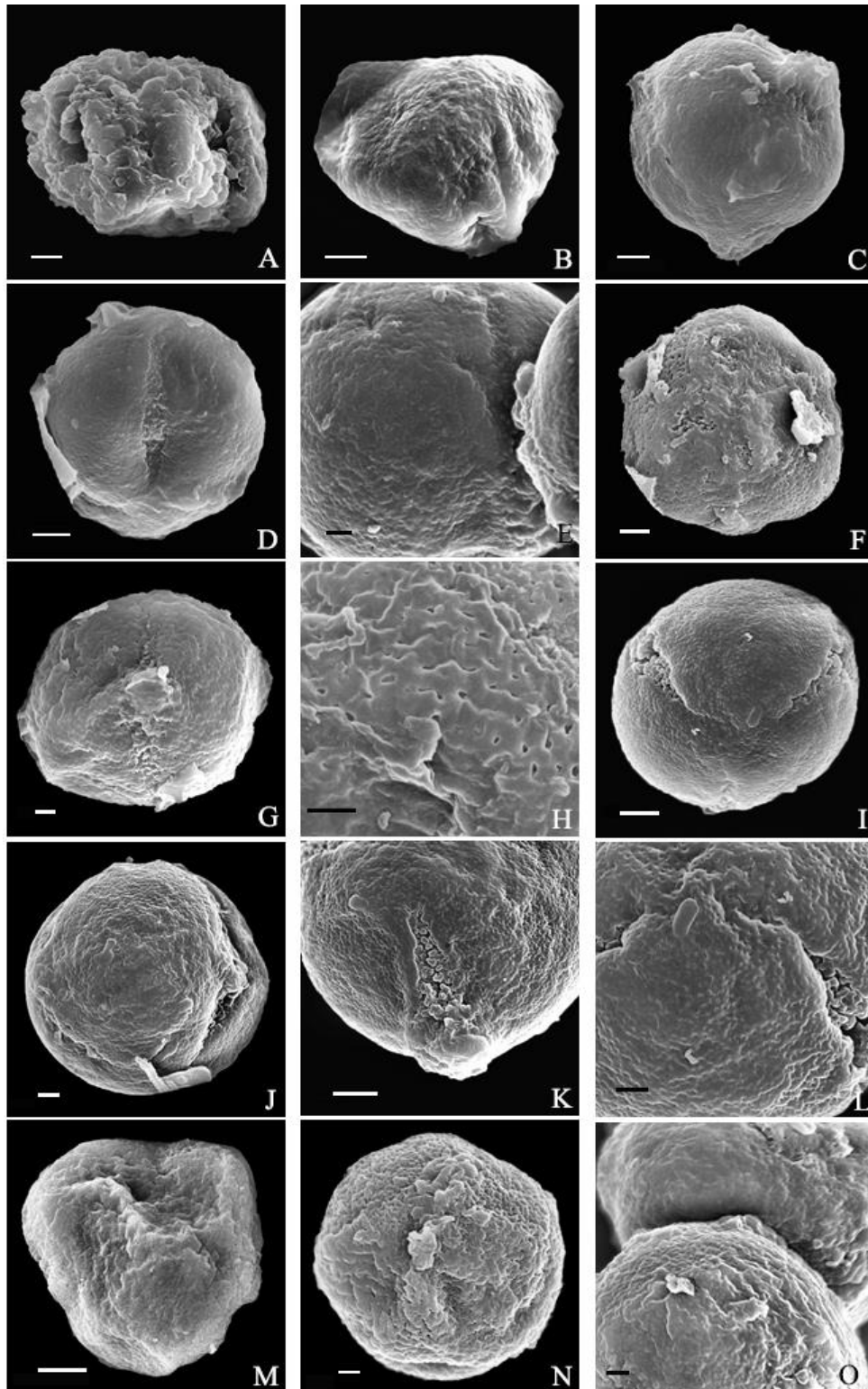
A-D: *Besleria parviflora* L.E.Skog & Steyerl. A- Vista polar, contorno. B- Vista polar evidenciando as extremidades das aberturas. C- Vista equatorial. D- Detalhe evidenciando a membrana ornamentada no colpo. E-H': *Besleria selloana* Klotzsch & Hanst. E- Vista polar, contorno. F- Vista equatorial. G- Vista equatorial evidenciando a margem no cólporo. H-H'- Ornamentação microrreticulada (Análise de LO). I-K: *Besleria solanoides* Kunth. I- Vista polar. J- Vista equatorial. K-K'- Ornamentação rugulada-perfurada. L-O': *Tylopsacas cuneatum* (Gleason) Leeuwenb. L- Vista polar. M- Vista polar evidenciando as extremidades das aberturas. N- Vista equatorial. O-O'- Detalhe da ornamentação microrreticulada (Análise de LO). Escala = 10 μ m. Fonte: A autora.

Figura 7- Fotomicrografias dos grãos de pólen das espécies brasileiras de *Napeanthus* Gardner.



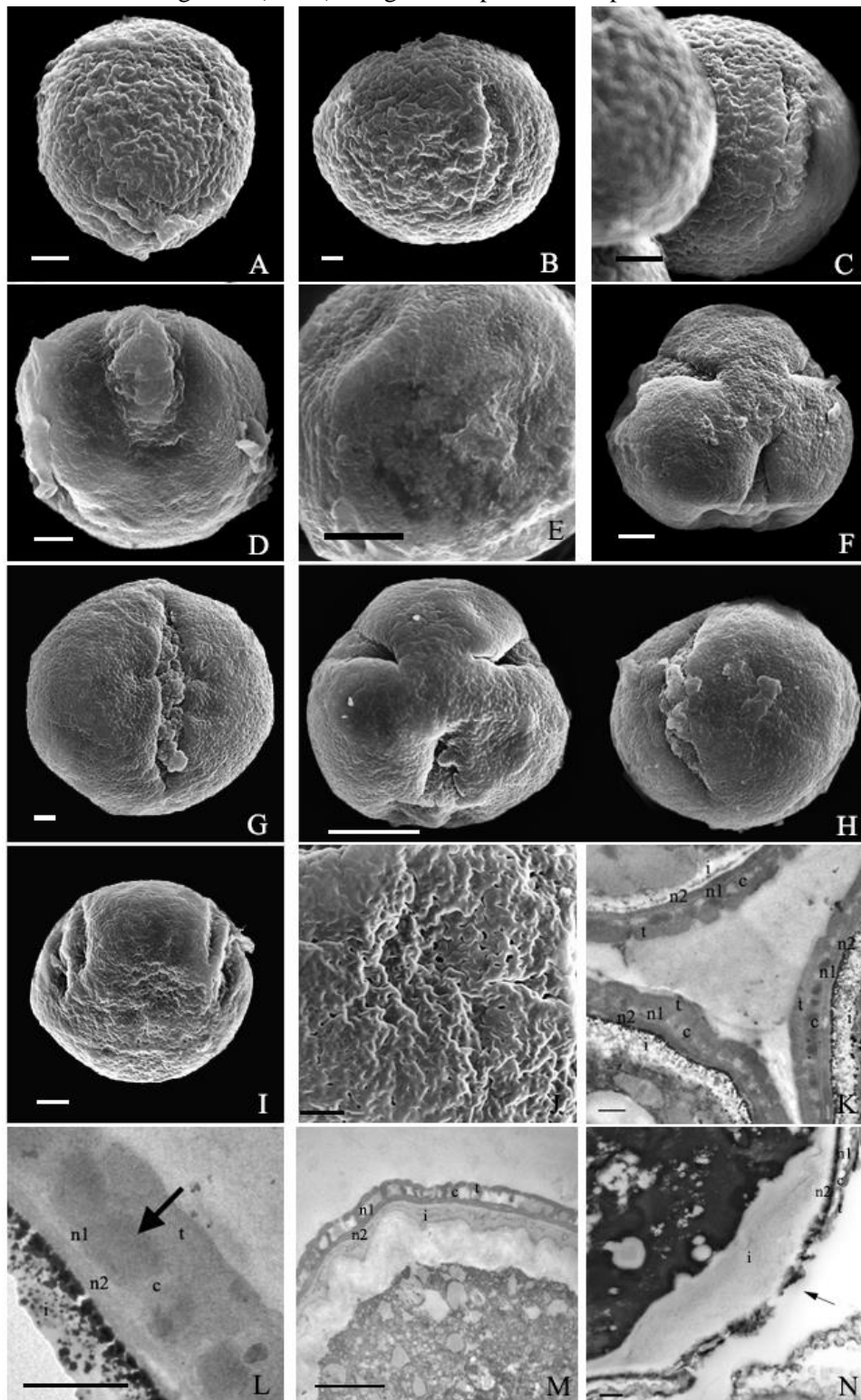
A-C': *Napeanthus jelskii* Fritsch. A- Vista polar, contorno. B- Vista equatorial. C-C'- Detalhe da ornamentação microrreticulada-fossulada (Análise de LO). D-F': *Napeanthus macrostoma* Leeuwenb. D- Vista polar, contorno. E- Vista equatorial. F-F'- Detalhe da ornamentação microrreticulada-fossulada (Análise de LO). G-J': *Napeanthus primulifolius* (Raddi) Sandwith. G – Vista polar. H- Vista polar evidenciando as extremidades das aberturas. I- Vista equatorial evidenciando a endoabertura circular. J-J'- Detalhe da ornamentação microrreticulada-fossulada (Análise de LO). K-L: *Napeanthus reitzii* (L.B. Sm.) B.L. Burt ex Leeuwenb. K- Vista polar. L- Vista equatorial. Escala = 10 μ m. Fonte: A autora.

Figura 8 – Eletromicrografias (MEV) dos grãos de pólen das espécies de *Besleria* Plum. ex L.



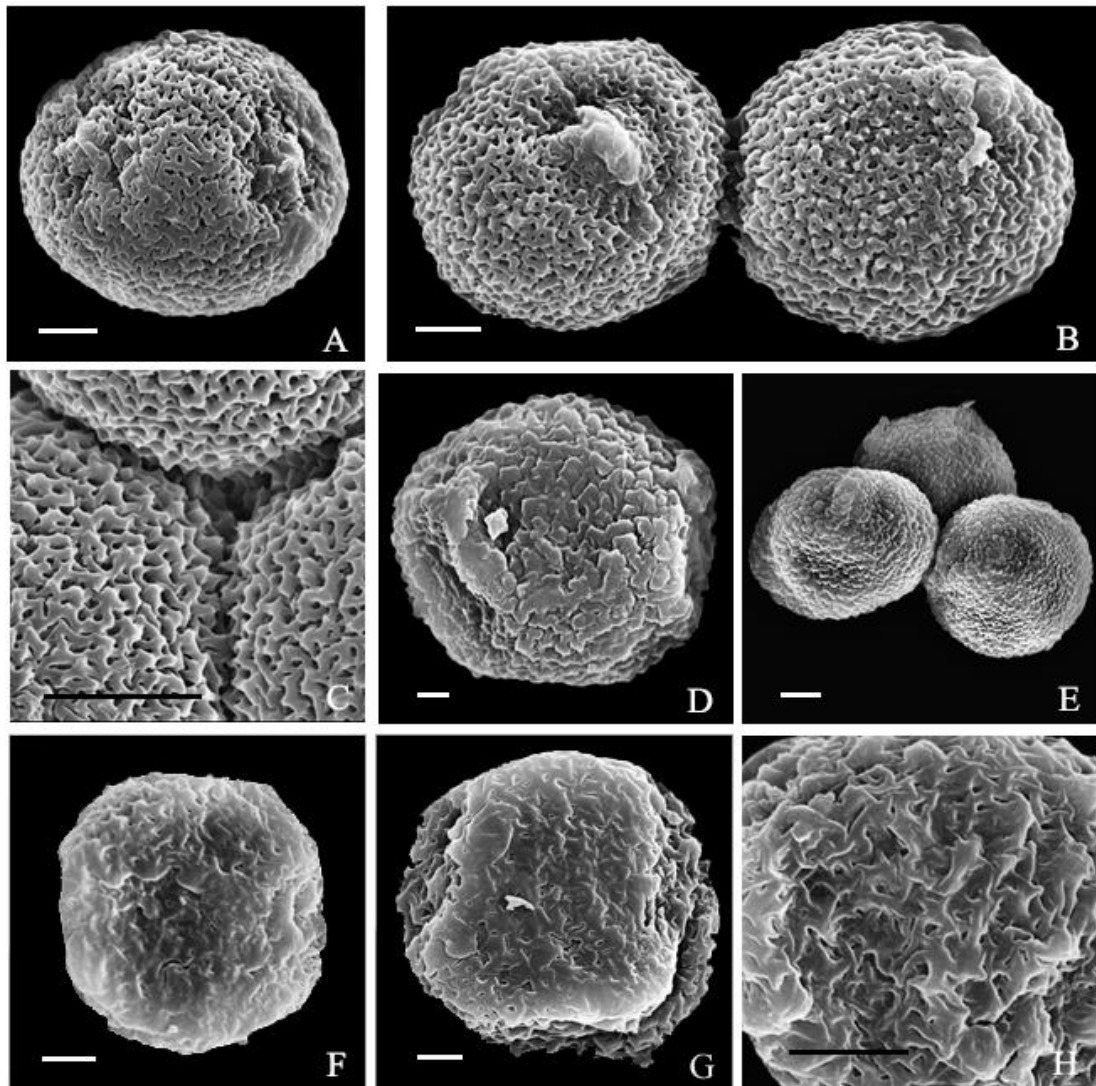
A- Vista equatorial de *Besleria aggregata* (Mart.) Hanst. B- *Besleria barclayi* L. E. Skog. C-E: *Besleria brevicalyx* G.E.Ferreira & Chautems. C- Vista polar. D- Vista equatorial. E- Detalhe da ornamentação. F-H: *Besleria gibbosa* (Poepp.) Hanst. F- Vista polar. G- Vista equatorial. H- Detalhe da ornamentação. I-L: *Besleria grandifolia* Schott. I- Vista polar. J- Vista equatorial. K- Detalhe evidenciando a membrana ornamentada no colpo. L- Detalhe da ornamentação. M-O: *Besleria laxiflora* Benth. M- Vista polar. N- Vista equatorial. O- Detalhe da ornamentação. Escala = 10 μ m. Fonte:A autora.

Figura 9 – Eletromicrografias (MEV) dos grãos de pólen das espécies de *Besleria* Plum. ex L.



A-C: *Besleria meridionalis* C.V.Morton. A- Vista polar. B- Vista equatorial. C- Vista equatorial. D-E: *Besleria parviflora* L.E.Skog & Steyerm. D- Vista equatorial. E- Detalhe da ornamentação. F-H: *Besleria selloana* Klotzsch & Hanst. F- Vista polar. G- Vista equatorial, note a membrana ornamentada. H- Vista polar e vista equatorial. I-J: *Besleria solanoides* Kunth. K-L: Detalhes da estrutura da parede de *Besleria grandifolia* Schott. M- Detalhes da estrutura da parede de *Besleria longimucronata* Hoehne. N- Detalhes da estrutura da parede de *Besleria selloana* Klotzsch & Hanst. (t = teto, c = columela, n1 = nexina 1, n2 = nexina 2, i = intina) Escala = 10 µm. Fonte: A autora.

Figura 10 – Eletromicrografias (MEV) dos grãos de pólen das espécies de *Napeanthus* Gardner



A-C: *Napeanthus jelskii* Fritsch. A- Vista polar. B- Vistas equatoriais. C- Detalhe da ornamentação. D-E: *Napeanthus macrostoma* Leeuwenb. F-H: *Napeanthus primulifolius* (Raddi) Sandwith. F- Vista polar. G- Vista equatorial. H- Detalhe da ornamentação. Escala = 10 μm . Fonte: A autora.

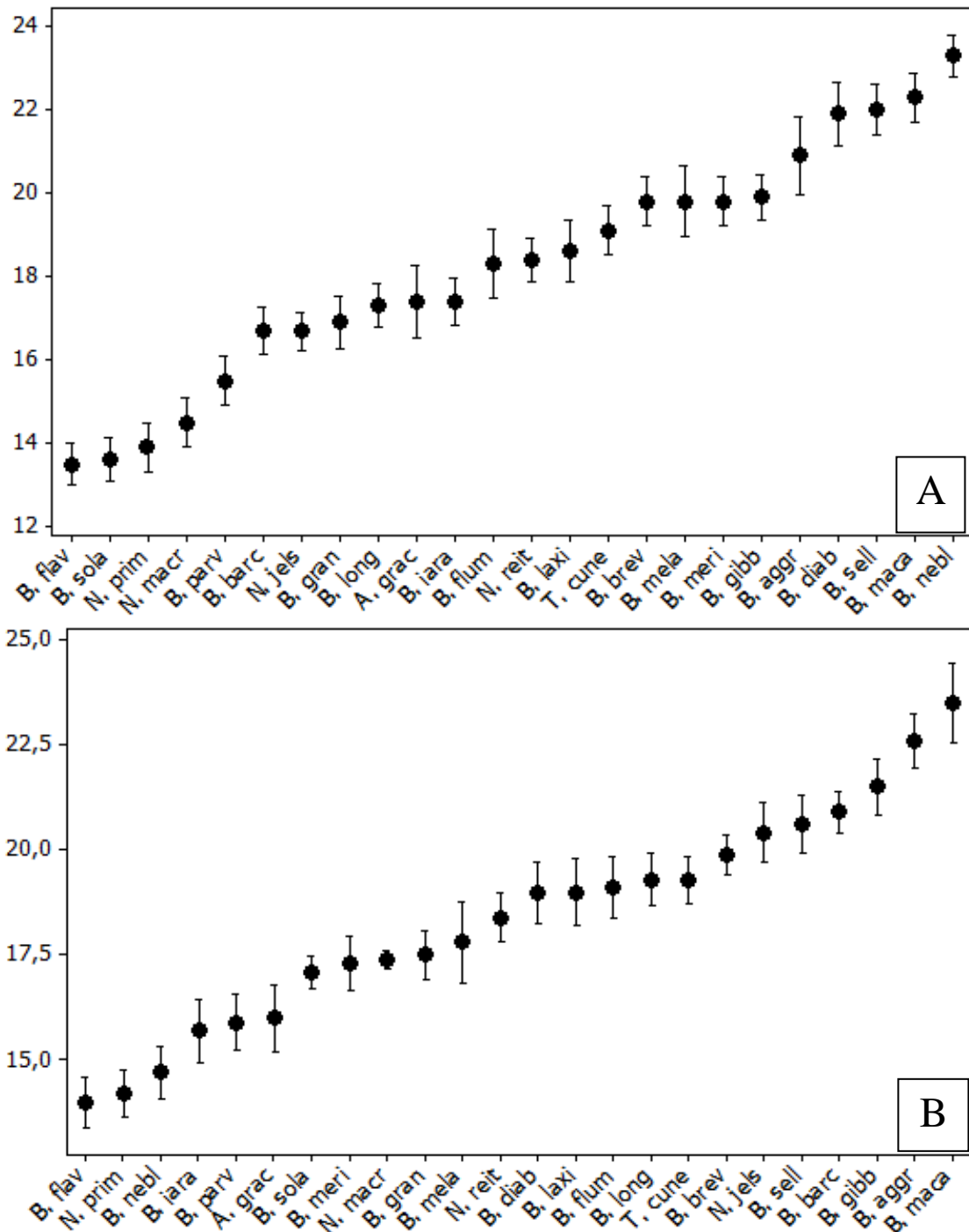
3.2. Análises quantitativas

3.2.1. Medidas de diâmetro: Análise gráfica de Intervalo de confiança da média a 95%

Para a análise das medidas dos diâmetros, foram considerados os diâmetros polares e equatoriais em vista equatorial (DPVE e DEVE) para todas as espécies estudadas. Desta forma, comparando as médias e os intervalos de confiança das médias a 95% (Fig. 11), constata-se que:

- a) Em relação ao DPVE, observamos que os valores de medidas formam um contínuo, onde se destaca três grandes grupos: o primeiro, formado pelos menores valores de média dos grãos de pólen de *Besleria flavo-virens*, *B. solanoides*, *Napeanthus primulifolius*, *N. macrostoma* e *B. parviflora*. No outro extremo observa-se *B. neblinae* com as maiores médias para esse diâmetro (23,30 μm), e entre estes dois grupos aparece um grupo intermediário representado pelas medidas de diâmetro dos grãos de pólen das demais espécies. Quanto ao intervalo de confiança, *N. jelskii* apresenta a menor variação nas medidas de DPVE para seus grãos de pólen, e *B. aggregata* a espécie com maior variação para essa medida (Figura 11A).
- b) Para os valores de DEVE, *Besleria flavo-virens* e *Napeanthus primulifolius* são as espécies que apresentam as menores médias, seguido de *B. neblinae*. As maiores médias são observadas em *B. aggregata* e *B. macahensis*. A variação do intervalo de confiança foi menor em *N. macrostoma* e *B. solanoides* e maior em *B. solanoides* (Fig. 11B).
- c) Foi possível notar que *Besleria neblinae* possui a maior média de DPVE e a menor média de DEVE, pois é a única espécie analisada que apresenta forma predominantemente prolata (T. 3, Fig 11A-B).
- d) Quando consideramos apenas o gênero *Napeanthus*, em ordem crescente da média dos valores de diâmetros, observamos em DPVE, as espécies: *N. primulifolius*, *N. macrostoma*, *N. jelskii* e *N. reitzii* (Fig. 11A). Já em DEVE as espécies *N. primulifolius* e *N. macrostoma* permanecem apresentando grãos de pólen com menores médias, e *N. jelskii* traz as médias de maior valor, seguido de *N. reitzii* (Fig. 11B).
- e) As espécies *Anetanthus gracilis* e *Tylopsacas cuneatum* apresentaram valores intermediários entre as espécies analisadas tanto em DPVE (Fig.11A) e DEVE (Fig. 11B).

Figura 11 - Representação gráfica da média e dos intervalos de confiança da média a 95% das medidas dos grãos de pólen das espécies brasileiras das Tribos Beslerieae Bartl. e Napeantheae Wiehler.



A: Diâmetro polar em vista equatorial. B: Diâmetro equatorial em vista equatorial. Os limites superiores e inferiores representam o intervalo de confiança, os círculos medianos representam a média aritmética. Os valores estão em µm. A. grac = *Anetanthus gracilis*, B. aggr = *Besleria aggregata*, B. barc = *Besleria barclayi*, B. brev = *Besleria brevicealyx*, B. diab = *Besleria diabolica*, B. flav = *Besleria flavo-virens*, B. flum = *Besleria fluminensis*, B. gibb = *Besleria gibbosa*, B. gran = *Besleria grandifolia*, B. laxi = *Besleria laxiflora*, B. long = *Besleria longimucronata*, B. maca = *Besleria macahensis*, B. mela = *Besleria melancholica*, B. meri = *Besleria meridionalis*, B. nebl = *Besleria neblinae*, B. parv = *Besleria parviflora*, B. sell = *Besleria selloana*, B. sola = *Besleria solanoides*, T. cune = *Tylopsacas cuneatum*. N. jels = *Napeanthus jelskii*, N. macro = *Napeanthus macrostoma*, N. prim = *Napeanthus primulifolius*, N. reit = *Napeanthus reitzii*. Fonte: A autora.

Quanto aos materiais de comparação, foram analisados espécimes para os gêneros *Besleria* e *Napeanthus*. Diante disso, observamos que a maioria das médias dos diâmetros dos espécimes de comparação está fora do IC ou da FV do respectivo espécime padrão e que, de maneira geral, a forma dos grãos de pólen também apresenta variação quando comparados com o material padrão (apenas os espécimes *Besleria aggregata*- AM/ G.T. Prance, P.J.M. Maos, D.B. Woolcott, O.P. Monteiro & J.F. Ramos s/nº, *Besleria flavo-virens* RO/ G.T. Prance, T.R. Ramos & L.G. Farias nº27211, *Besleria selloana* SP/ G.E. Ferreira, A. Chautems, M. Perret & M. Peixoto nº 268-3 e *Napeanthus primulifolius* SP/ M.C.H. Mamede, I. Cordeiro & L. Rossi nº 231, apresentaram a forma correspondente ao do espécime padrão). Assim, podemos concluir, que as medidas quantitativas de tamanho e forma não são significativas para caracterizar os grãos de pólen de *Besleria* e *Napeanthus*, uma vez que podem variar entre os espécimes analisados (T.5).

Tabela 5- Média aritmética (em µm) dos diâmetros equatoriais e diâmetros polares, da relação P/E e forma dos grãos de pólen de *Besleria* Plum. ex *L.e Napeanthus* Gardner, com base nos materiais de comparação (n = 10).

Espécie/Identificação	DEVP	DPVE	DEVE	P/E	Forma
<i>Besleria aggregata</i>					
AM/ G.T. Prance, P.J.M. Maos, D.B. Woolcott, O.P. Monteiro & J.F. Ramos s/n	18,75▲	17,25▲	18,00▲	0,96	OE*
AM/G. E. Ferreira nº 354-2	16,50▲	17,50◆	16,25▲	1,08	PE
<i>Besleria barclayi</i>					
Amazônia Colombiana/E. Forero & R. Jaramillo nº2654	20,00◆	17,75◆	19,50■	0,91	OE
<i>Besleria brevicalyx</i>					
MG/ G.E. Ferreira, A. Chautems, M. Perret & M. Peixoto nº 292	18,25◆	18,25◆	16,75◆	1,09	PE
<i>Besleria diabolica</i>					
SP/ G.E. Ferreira, A. Chautems, A.O. Araújo & M. Peixoto nº 271-2	18,50◆	18,50◆	17,75◆	1,04	PE
<i>Besleria flavo-virens</i>					
RO/ G.T. Prance, T.R. Ramos & L.G. Farias nº 27211	13,50■	12,50◆	13,75■	0,91	OE*
<i>Besleria fluminensis</i>					
RJ/ G.E. Ferreria, A. Chautems, M. Perret & M. Peixoto nº 276-1	22,00▲	22,25◆	17,00◆	1,31	SP
<i>Besleria gibbosa</i>					
Amazonia venezuelana/ P.J.M. Maas, D.W. Steverson, W.A. Rodrigues & J. Ramos s/ nº	18,00◆	20,00■	17,75◆	1,13	PE
<i>Besleria grandifolia</i>					
RJ/ G.E. Ferreria, A. Chautems, M. Perret & M. Peixoto nº 279-5	20,50▲	20,00◆	19,25◆	1,04	PE
<i>Besleria iara</i>					
AM/G. E. Ferreira nº 355-2	18,50◆	19,00◆	16,75◆	1,13	PE
<i>Besleria laxiflora</i>					
BA/G.E. Ferreira, A. Chautems, M. Perret & M. Peixoto nº 303	18,00■	19,25■	15,50◆	1,24	SP

Continua

Continuação

Espécie/Identificação	DEVP	DPVE	DEVE	P/E	Forma
<i>Besleria longimucronata</i> RJ/ M. Kirizawa & E. Ieda nº1892	21,00▲	18,00◆	21,50◆	0,84	SO
<i>Besleria macahensis</i> RJ/ A. Oliveira, L.S. Silvestre, C.M. Mynssen, P.H. Laliok & V.M. Barbosa nº 181	22,75■	26,00▲	19,00▲	1,37	P
<i>Besleria meridionalis</i> MG/ P.C.L. Faria, P.C. Zampa, F. Magalhães, P.O. Costa, L.F. Fazza, L.D. Meireles & S.M. Verardo nº 31061	18,00■	18,00◆	17,75■	1,01	PE
<i>Besleria parviflora</i> RR/ G.T. Prance, J.R. Steward, J.F. Ramos & L.G. Farias s/nº	16,00■	16,00■	14,75◆	1,08	PE
<i>Besleria selloana</i> SP/ G.E. Ferreira, A. Chautems, M. Perret & M. Peixoto nº 268-3	19,50◆	20,50◆	18,00◆	1,14	PE*
<i>Besleria solanoides</i> Panamá/ Thomas B. Croat nº 66242	17,75▲	16,25▲	17,75▲	0,92	OE
<i>Napeanthus primulifolius</i> SP/ M.C.H. Mamede, I. Cordeiro & L. Rossi nº 231	18,25▲	17,50◆	18,75▲	0,93	OE*
<i>Napeanthus reitzii</i> Sem local/C. Kozera M & V.A. de O. Dittrich nº 910	18,50◆	19,25◆	17,75◆	1,08	PE

■ = valor dentro do IC (Intervalo de Confiança) do espécime padrão; ◆ = valor fora do IC, mas dentro da FV (Faixa de Variação) do espécime padrão; ▲ = valor fora do IC e da FV. DEVP = Diâmetro equatorial em vista polar, DPVE = Diâmetro polar em vista equatorial, DEVE= Diâmetro equatorial em vista equatorial. *forma correspondente ao espécime padrão. Fonte: A autora.

Conclusão.

3.2.2. Análise multivariada: Análise de componentes principais das Tribos *Beslerieae* Bartl. *Napeantheae* Wiehler. (ACP).

Para a análise de componentes principais (ACP) foram utilizadas 11 variáveis métricas dos grãos de pólen das espécies analisadas (T. 6). As variáveis endoabertura e margem foram retiradas da análise, pois alguns grãos de pólen são colpados e apenas algumas espécies possuem margem em seus colpos, portanto, ausência destas variáveis iria interferir na análise. Para a variável forma, em virtude da ampla variação dentro de uma mesma espécie, foram utilizadas as médias aritméticas dos valores desta variável. A análise de componentes principais representa uma análise exploratória dos dados quantitativos e em seus dois primeiros eixos (Fig. 12) resumiu 78,98% da variabilidade total dos dados, e de um modo geral, ordenou as espécies em função do comprimento de colpo (CCOM), da largura do colpo (CLAR) e dos diâmetros em vista polar e equatorial (T. 6).

O eixo 1 representou sozinho 64,20% da variação total dos dados, sendo primeiramente o comprimento do colpo (CCOM) a variável mais representativa, seguido da largura do colpo (CLAR) e diâmetro polar em vista equatorial. As espécies com menores valores de comprimento de colpo estão representadas no lado positivo deste primeiro eixo e as de maior tamanho, do lado negativo. Observamos também que a espécie *Napeanthus jelskii* está posicionada do lado negativo do eixo 1 provavelmente devido os valores de CLAR. Esta variável ordenou as espécies de menor valor do lado positivo e as de maior valor do lado negativo, como por exemplo *Besleria grandifolia* que é a única a apresentar o colpo largo (Fig. 12).

O eixo 2 da ACP, explicou apenas 14,78% da variabilidade das medidas analisadas associadas principalmente pelo diâmetro equatoriais em vista equatorial (DEVE), em vista polar (DEVP) e pela largura do colpo (CLAR). As espécies com menores medidas de DEVE e DEVP, como por exemplo *Besleria flavo-vires*, *Napeanthus primulifolius* ficaram posicionadas do lado negativo do eixo, já as de maior valor, como *B. aggregata*, *B. selloana* e *B. gibbosa*, ficaram do lado positivo (Fig. 12).

3.2.3. Análise de agrupamento: Análise de Cluster das Tribos Beslerieae Bartl. e Napeantheae Wiehler.

A análise de Cluster (AC) foi realizada com a finalidade de entender como as espécies estudadas estão relacionadas entre si em relação aos dados quantitativos avaliados em seus grãos de pólen. Essa análise produziu um dendograma de similaridade pelo cálculo da distância euclidiana com base nas mesmas 11 variáveis utilizadas na ACP (T. 6). Como resultado observamos dois grandes grupos principais (Fig. 13). Ficaram separadas das demais espécies, com nenhuma similaridade com estas, um grupo constituído pelas espécies de menor valor de comprimento de colpo (em ordem *Besleria solanoides*, *B. aggregata* e *Napeanthus macrostoma*), na qual *B. solanoides* e *N. macrostoma* se agruparam por possuírem valores de DEVE e DEVP bem menores quando comparados a *B. aggregata*, como podemos ver na análise gráfica de tamanhos (Fig. 11).

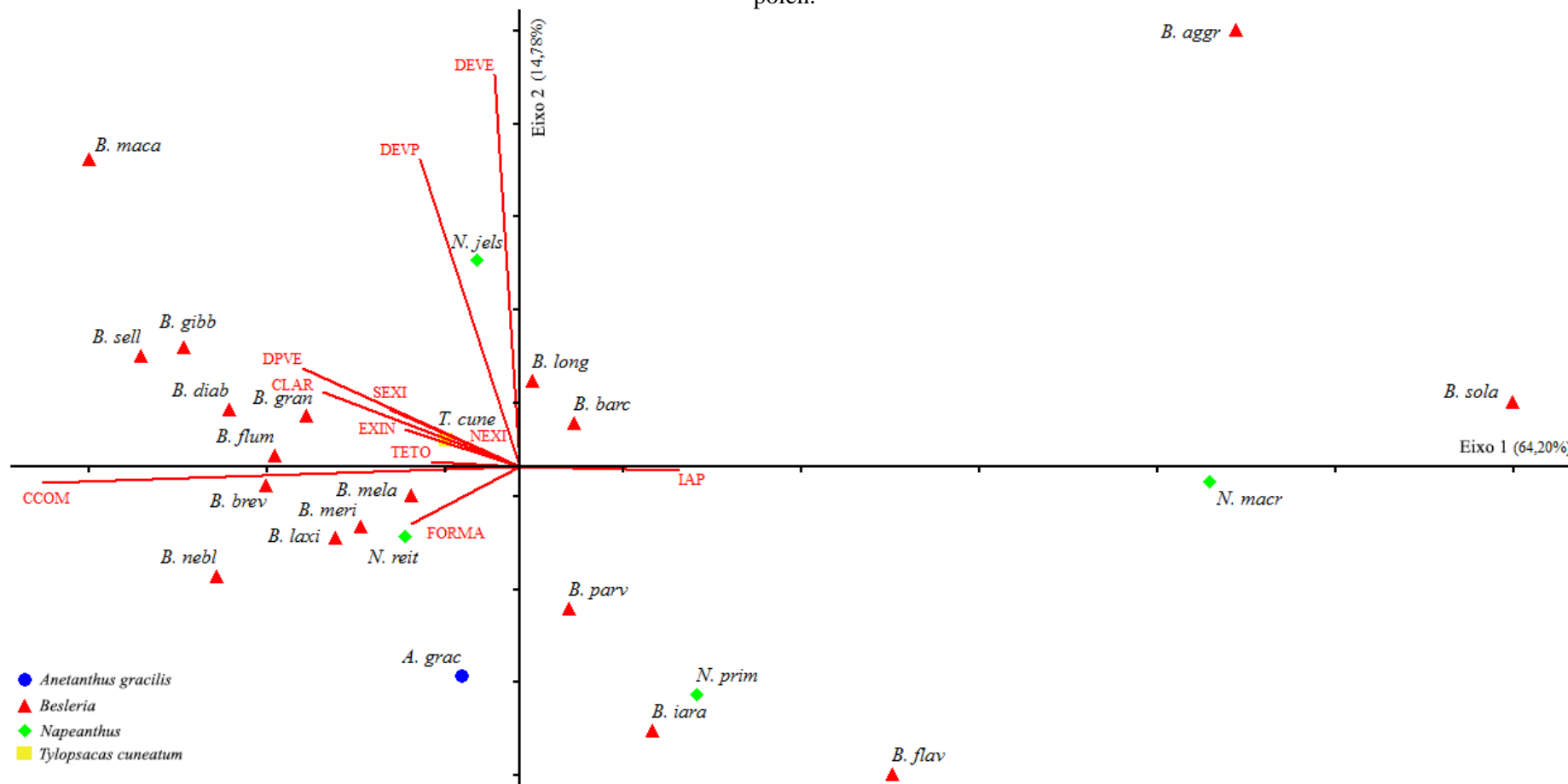
Entre as outras espécies analisadas podemos observar a formação de dois grupos: o primeiro com espécies de valores intermediários de DEVP, DEVE e de comprimento de colpo (CCOM) (*Besleria flavo-virens*, *Napeanthus primulifolius* e *B. iara*). No segundo e maior grupo, estão organizadas as espécies com os maiores valores destas variáveis e as espécies que possuem esses valores mais próximos. Por exemplo, *B. laxiflora* e *B. meridionalis*, obtiveram 100% da similaridade, pois a diferença dos valores de CCOM, CLAR é muito pequena quando comparada as outras espécies (*B. laxiflora* CCOM = 16,25µm, CLAR = 1,49µm; *B. meridionalis* CCOM = 15,06 µm, CLAR = 1,58 µm) (Fig. 11).

Tabela 6. Coeficientes de correlação de Pearson e Kendall entre as variáveis métricas dos grãos de pólen e os dois primeiros eixos da ordenação pela ACP para as espécies brasileiras das Tribos Beslerieae Bartl. e Napeantheae Wiehler com 11 variáveis.

Variáveis		Componentes principais	
		Eixo 1	Eixo 2
DEVP	(Diâmetro equatorial em vista polar)	-0.1290	0.4755
DPVE	(Diâmetro polar em vista equatorial)	-0.2449	0.3466
DEVE	(Diâmetro equatorial em vista equatorial)	-0.0726	0.5996
CCOM	(Comprimento do colpo)	-0.8900	-0.3445
CLAR	(Largura do colpo)	-0.2728	0.3522
EXIN	(Exina)	-0.0949	0.1133
SEXI	(Sexina)	-0.0938	0.1308
NEXI	(Nexina)	-0.0245	0.0025
TETO	(Teto)	-0.0479	0.0248
FORMA	(Forma dos grãos de pólen)	-0.0881	-0.1340
IAP	(Índice de área polar)	0.1522	-0.0547

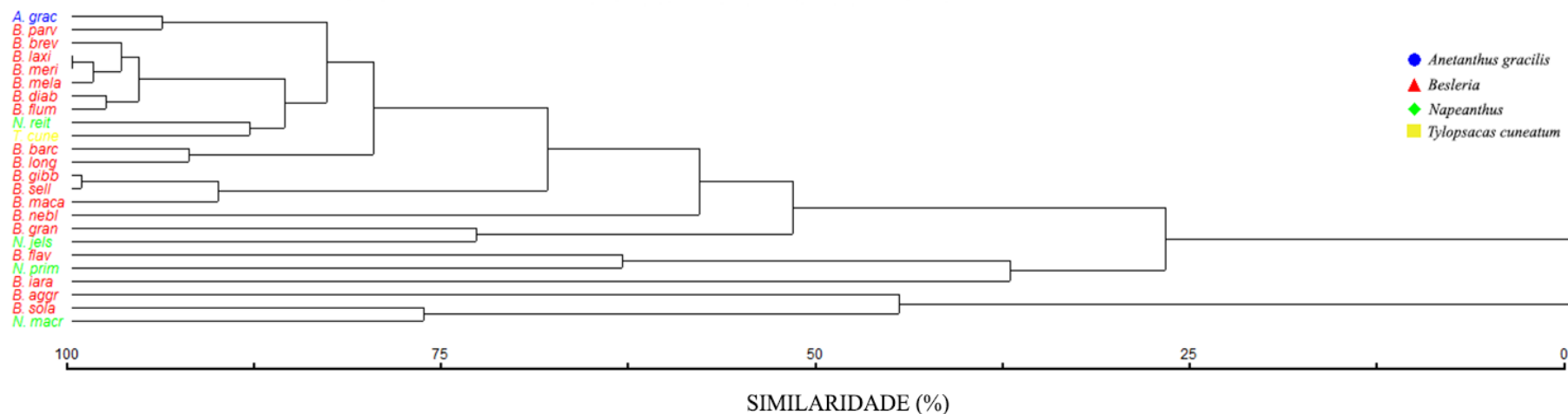
Fonte: A autora.

Figura 12 - Ordenação pela Análise de Componentes Principais das espécies brasileiras das Tribos Beslerieae Bartl. e Napeantheae Wiehler em função das variáveis métricas dos grãos de pólen.



A.grac = *Anetanthus gracilis*, *B. aggr* = *Besleria aggregata*, *B. barc* = *Besleria barclayi*, *B. brev* = *Besleria brevicalyx*, *B. diab* = *Besleria diabolica*, *B. flav* = *Besleria flavo-virens*, *B. flum* = *Besleria fluminensis*, *B. gibb* = *Besleria gibbosa*, *B. gran* = *Besleria grandifolia*, *B. laxi* = *Besleria laxiflora*, *B. long* = *Besleria longimucronata*, *B. maca* = *Besleria macahensis*, *B. mela* = *Besleria melancholica*, *B. meri* = *Besleria meridionalis*, *B. nebl* = *Besleria neblinae*, *B. parv* = *Besleria parviflora*, *B. sell* = *Besleria selloana*, *B. sola* = *Besleria solanoides*, *T. cune* = *Tylopsacas cuneatum*, *N. jels* = *Napeanthus jelskii*, *N. macro* = *Napeanthus macrostoma*, *N. prim* = *Napeanthus primulifolius*, *N. reit* = *Napeanthus reitzii*. Fonte: A autora.

Figura 13 – Dendograma produzido a partir da análise de cluster (Distância Euclidiana) para as espécies das Tribos Beslerieae Bartl. e Napeantheae Wiehler.



A.gr
ac = *Anetanthus gracilis*, *B. aggr* = *Besleria aggregata*, *B. barc* = *Besleria barclayi*, *B. brev* = *Besleria brevicalyx*, *B. diab* = *Besleria diabolica*, *B. flav* = *Besleria flavo-virens*, *B. flum* = *Besleria fluminensis*, *B. gibb* = *Besleria gibbosa*, *B. gran* = *Besleria grandifolia*, *B. laxi* = *Besleria laxiflora*, *B. long* = *Besleria longimucronata*, *B. maca* = *Besleria macahensis*, *B. mela* = *Besleria melancholica*, *B. meri* = *Besleria meridionalis*, *B. nebl* = *Besleria neblinae*, *B. parv* = *Besleria parviflora*, *B. sell* = *Besleria selloana*, *B. sola* = *Besleria solanoides*, *T. cune* = *Tylopsacas cuneatum*, *N. jels* = *Napeanthus jelskii*, *N. macro* = *Napeanthus macrostoma*, *N. prim* = *Napeanthus primulifolius*, *N. reit* = *Napeanthus reitzii*. Fonte: A autora.

3.3. Análise multivariada: Análise de componentes principais para as espécies de *Besleria Plum ex. L.* (ACP)

Uma segunda ACP foi realizada apenas com as espécies do gênero *Besleria*, com o objetivo de identificar agrupamentos com a análise multivariada dos dados quantitativos dos seus grãos de pólen. Foram utilizadas novamente, as mesmas 11 variáveis descritas anteriormente (T. 7), porém, as espécies do gênero foram destacadas de acordo com a sua distribuição geográfica (Azul: ampla distribuição; vermelho: atlântica; verde: extra atlântica). Como resultado, em seus dois primeiros eixos, a ACP (Fig. 14) resumiu 84,14% da variabilidade total dos dados, e semelhantemente a primeira ACP, ordenou as espécies em função do comprimento de colpo (CCOM), largura do colpo (CLAR) e do diâmetro equatorial em vista equatorial e polar (DEVE, DEVP) (T. 7).

O eixo 1 apresentou 68,75% da variação, onde o comprimento do colpo (CCOM) e a largura do colpo (CLAR), igualmente a primeira ACP, aparecem como as variáveis mais significativas no eixo 1. As espécies com menores valores de CCOM e CLAR foram organizadas do lado positivo do eixo e as de maior valor do lado negativo (Fig. 14).

Comparativamente o eixo 2, que explicou 15,39% da variabilidade das espécies, apresenta como as variáveis mais importantes o diâmetro equatorial em vista equatorial (DEVE), e diâmetro equatorial em vista polar (DEVP) (Fig 14).

Portanto houve a formação de três grandes grupos nas duas ACPs realizadas (Figs. 12 e 14), onde as espécies de menor valor de CCOM, CLAR e maior valor de IAP ficaram localizadas no lado positivo do eixo 1 (*Besleria aggregata* e *Besleria solanooides*), as espécies de valores intermediários, agrupadas também no lado positivo do eixo 1 (*B. flavo-virens*, *B. iara*, *B. parviflora*, *B. barclayi* e *B. longimucronata*), e as espécies de maiores valores do lado negativo do eixo 1 (demais espécies).

3.3.1. Análise de agrupamento: Análise de Cluster das espécies do gênero *Besleria Plum. ex L.*

Também foi efetuada uma segunda análise de Cluster, excluindo as espécies dos outros gêneros e destacando as espécies de *Besleria* acordo com a sua distribuição geográfica (Azul: ampla distribuição; vermelho: atlântica; verde: extra atlântica).

O dendograma produzido (Fig. 15) foi similar ao primeiro (Fig. 13), onde a maioria dos agrupamentos de espécies foi mantida, reforçando assim as similaridades entre elas pelos dados quantitativos mesmo sem a presença das espécies dos outros gêneros. Por exemplo, foram mantidas as espécies com alta similaridade (*Besleria selloana* e *B. gibbosa*; *B. laxiflora*

e *B. meridionalis*). Contrariamente, novos agrupamentos surgiram: *B. aggregata* e *B. solanoides* (com um pouco mais de 50% de similaridade); *B. longimucronata* e *B. parviflora* (por volta de 97% de similaridade); *B. flavo-virens* e *B. iara* (quase 60% de similaridade) (Fig. 15). Estas espécies, dos novos agrupamentos, ficaram mais próximas das espécies de outros gêneros no dendograma anterior (Fig. 13).

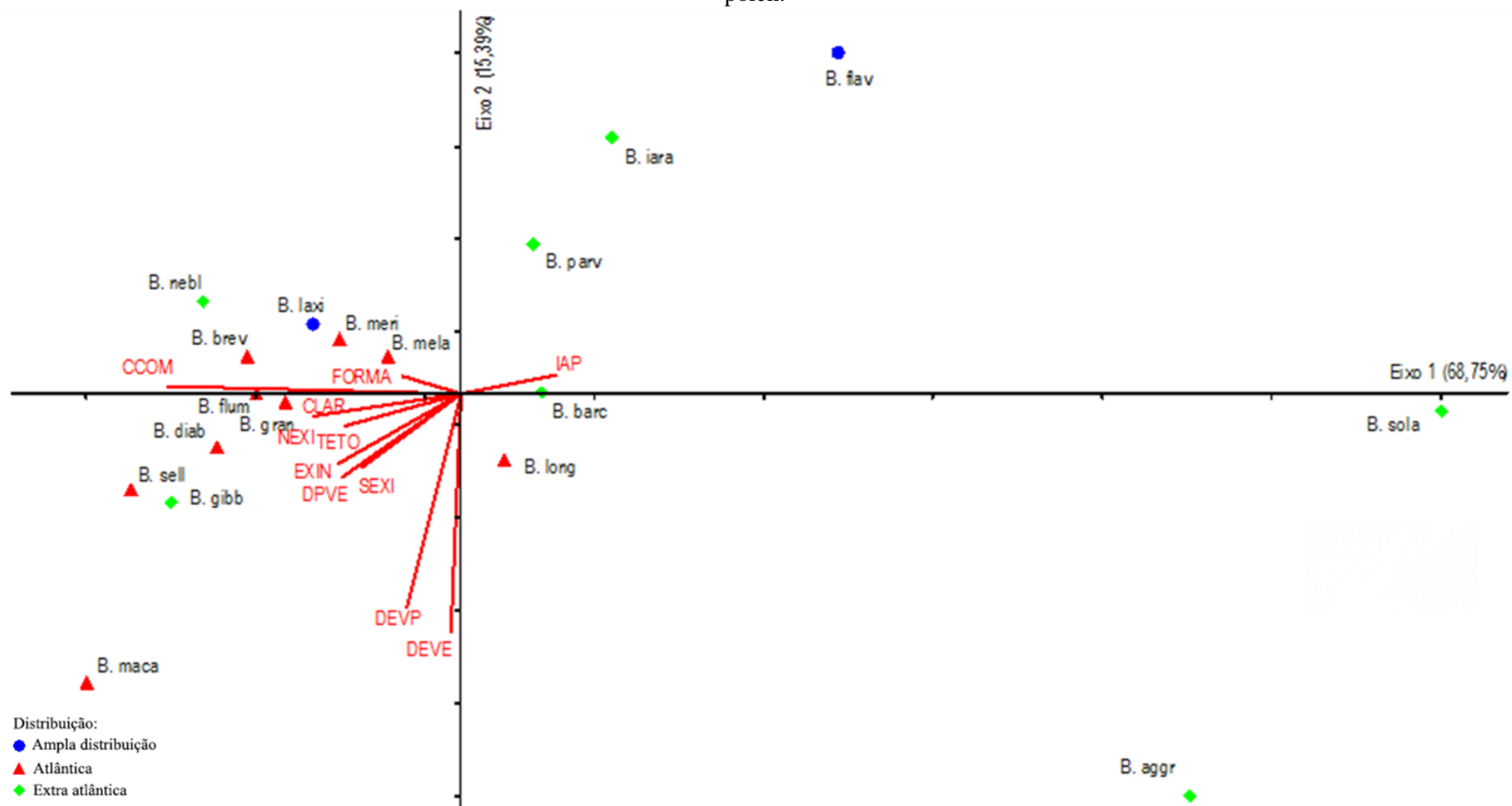
Em relação ao padrão de distribuição, as espécies de ampla distribuição ficaram distantes entre si, e apenas algumas espécies de distribuição atlântica e extra atlântica ficaram mais próximas, o que parece não ter relação com os dados quantitativos.

Tabela 7. Coeficientes de correlação de Pearson e Kendall entre as variáveis métricas dos grãos de pólen e os dois primeiros eixos da ordenação pela ACP para as espécies de *Besleria* Plum ex. L. com 11 variáveis.

Variáveis		Componentes principais	
		Eixo 1	Eixo 2
DEVP	(Diâmetro equatorial em vista polar)	-0.1193	-0,5036
DPVE	(Diâmetro polar em vista equatorial)	-0.2227	-0.3970
DEVE	(Diâmetro equatorial em vista equatorial)	-0.0576	-0.5908
CCOM	(Comprimento do colpo)	-0.9005	0.3212
CLAR	(Largura do colpo)	-0.2697	-0.2288
EXIN	(Exina)	-0.0986	-0.1583
SEXI	(Sexina)	-0.0876	-0.1617
NEXI	(Nexina)	-0.0411	0.0340
TETO	(Teto)	-0.0410	-0.0462
FORMA	(Forma dos grãos de pólen)	-0.0843	0.1007
IAP	(Índice de área polar)	0.1463	0.1400

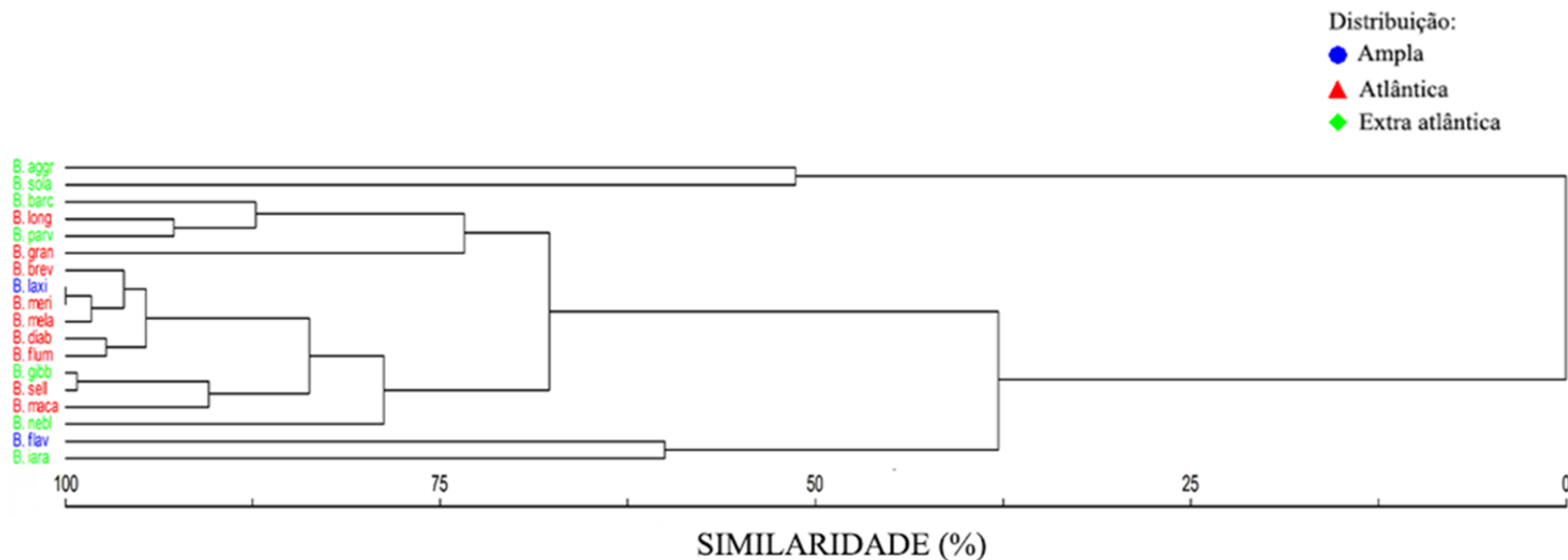
Fonte: A autora.

Figura 14 - Ordenação pela Análise de Componentes Principais das espécies do gênero *Besleria* Plum. ex L. em função das variáveis métricas dos grãos de pólen.



B. aggr = *Besleria aggregata*, *B. barc* = *Besleria barclayi*, *B. brev* = *Besleria brevicalyx*, *B. diab* = *Besleria diabolica*, *B. flav* = *Besleria flavo-virens*, *B. flum* = *Besleria fluminensis*, *B. gibb* = *Besleria gibbosa*, *B. gran* = *Besleria grandifolia*, *B. laxi* = *Besleria laxiflora*, *B. long* = *Besleria longimucronata*, *B. maca* = *Besleria macahensis*, *B. mela* = *Besleria melancholica*, *B. meri* = *Besleria meridionalis*, *B. nebl* = *Besleria neblinae*, *B. parv* = *Besleria parviflora*, *B. sell* = *Besleria selloana*, *B. sola* = *Besleria solanoides*. Fonte: A autora.

Figura 15 – Dendograma produzido a partir da análise de cluster (Distância Euclidiana) para as espécies do gênero *Besleria* Plum ex L.



B. aggr = *Besleria aggregata*, *B. barc* = *Besleria barclayi*, *B. brev* = *Besleria brevicalyx*, *B. diab* = *Besleria diabolica*, *B. flav* = *Besleria flavo-virens*, *B. flum* = *Besleria fluminensis*, *B. gibb* = *Besleria gibbosa*, *B. gran* = *Besleria grandifolia*, *B. laxi* = *Besleria laxiflora*, *B. long* = *Besleria longimucronata*, *B. maca* = *Besleria macahensis*, *B. mela* = *Besleria melancholica*, *B. meri* = *Besleria meridionalis*, *B. nebl* = *Besleria neblinae*, *B. parv* = *Besleria parviflora*, *B. sell* = *Besleria selloana*, *B. sola* = *Besleria solanooides*. Fonte: A autora.

3.4. Reconstrução ancestral das características morfológicas do pólen

A árvore de consenso gerada a partir da análise de máxima parcimônia e busca heurística (Figs.16-17) possui um índice de consistência (IC) de 0,51 e um índice de retenção (RI) de 0,63. As variações na abertura e as ornamentações da exina foram as principais características qualitativas de distinção das espécies estudadas.

Inicialmente, o caráter endoabertura, foi o responsável por dividir a árvore em dois grandes grupos (Fig. 16A). Houve a junção, em um único clado, das espécies que são colpadas (*Besleria iara*, *B. solanoides*, *B. aggregata* e *B. barclayi*), das colporadas (demais espécies). Apenas *B. diabolica*, que é colpada, ficou separada formando um grupo com *B. neblinae*. Já para o tipo de endoabertura, o estado de caráter “lalongada” sustenta a árvore em si, aparecendo para a maioria das espécies. A endoabertura circular aparece presente apenas em *B. gibbosa*, *B. longimucronata* e *B. flavo-virens*. (Fig. 16B).

O comprimento do colpo, que apresenta três estados de caráter (Fig 16C), demonstra que o estado “muito curto”, está presente nas espécies mais basais da árvore (*Besleria iara* e *B. barclayi*) e no grupo externo (*Napeanthus macrostoma*). O estado “longo” sustenta o clado das espécies que estão no centro da árvore e o “curto” sustenta o clado das espécies mais derivadas (*B. flavo-virens*, *B. brevicalyx*, *B. melancholica*, *B. selloana*), mas também está presente nas espécies mais basais (*B. solanoides*, *B. aggregata*, *B. gibbosa* e *B. laxiflora*).

A ausência de constrição é o estado de caráter mais ancestral e observado nos grãos de pólen da maioria das espécies de *Besleria* (Fig. 16D). A presença de constrição sustenta dois cladogramas centrais, um mais basal formado por *B. meridionalis*, *B. gibbosa* e *B. laxiflora* e outro mais derivado formado por *B. grandifolia*, *B. macahensis*, *B. diabolica* e *B. neblinae*.

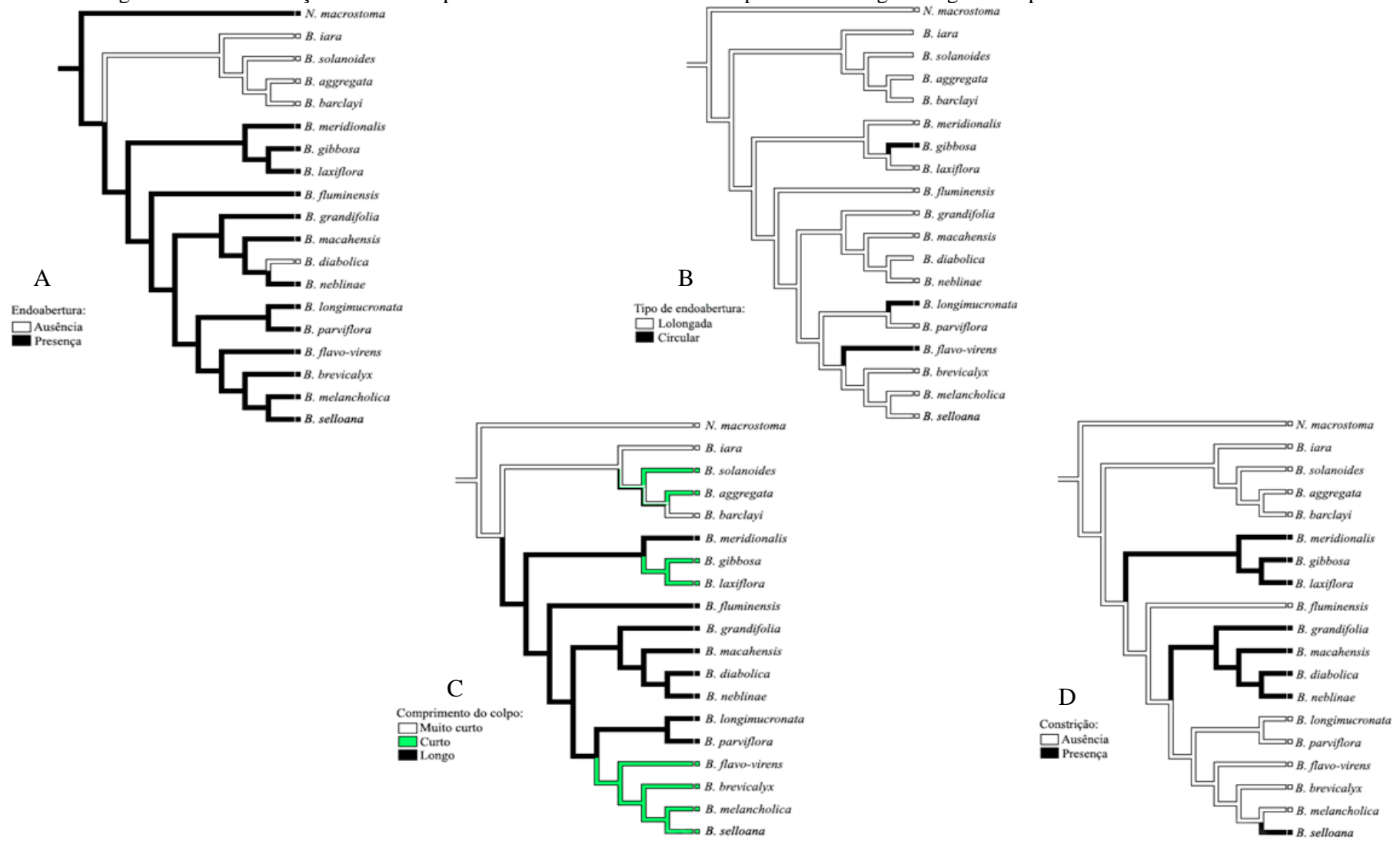
A extremidade do colpo arredondada aparece nas espécies mais basais da árvore e a extremidade afilada nos grupos mais derivados (Figura 17E). A ausência da margem é um estado de caráter presente na maioria das espécies da árvore, sendo assim uma característica plesiomórfica e a presença da margem um estado de caráter autopomórfico, presente apenas no clado de *B. melancholica* e *B. selloana* (Fig. 17F).

Para a característica “largura da exina” (Fig, 17G), o estado de caráter “fina” está presente na maioria das espécies, o estado “muito fina” sustenta o clado de *Besleria aggregata* e *B. barclayi* e “espessa” aparece como um estado de caráter autapomórfico, exclusivo para *B. neblinae*.

Em relação à ornamentação (Fig. 17H) dois cladogramas são definidos: os mais basais com ornamentação microrreticulada (*B. iara*), rugulada-perfurada (*B. solanoides*, *B. gibbosa*), rugulada (*B. aggregata* e *B. barclayi*, *B. laxiflora*) ou fossulada (apenas em *B. meridionalis*).

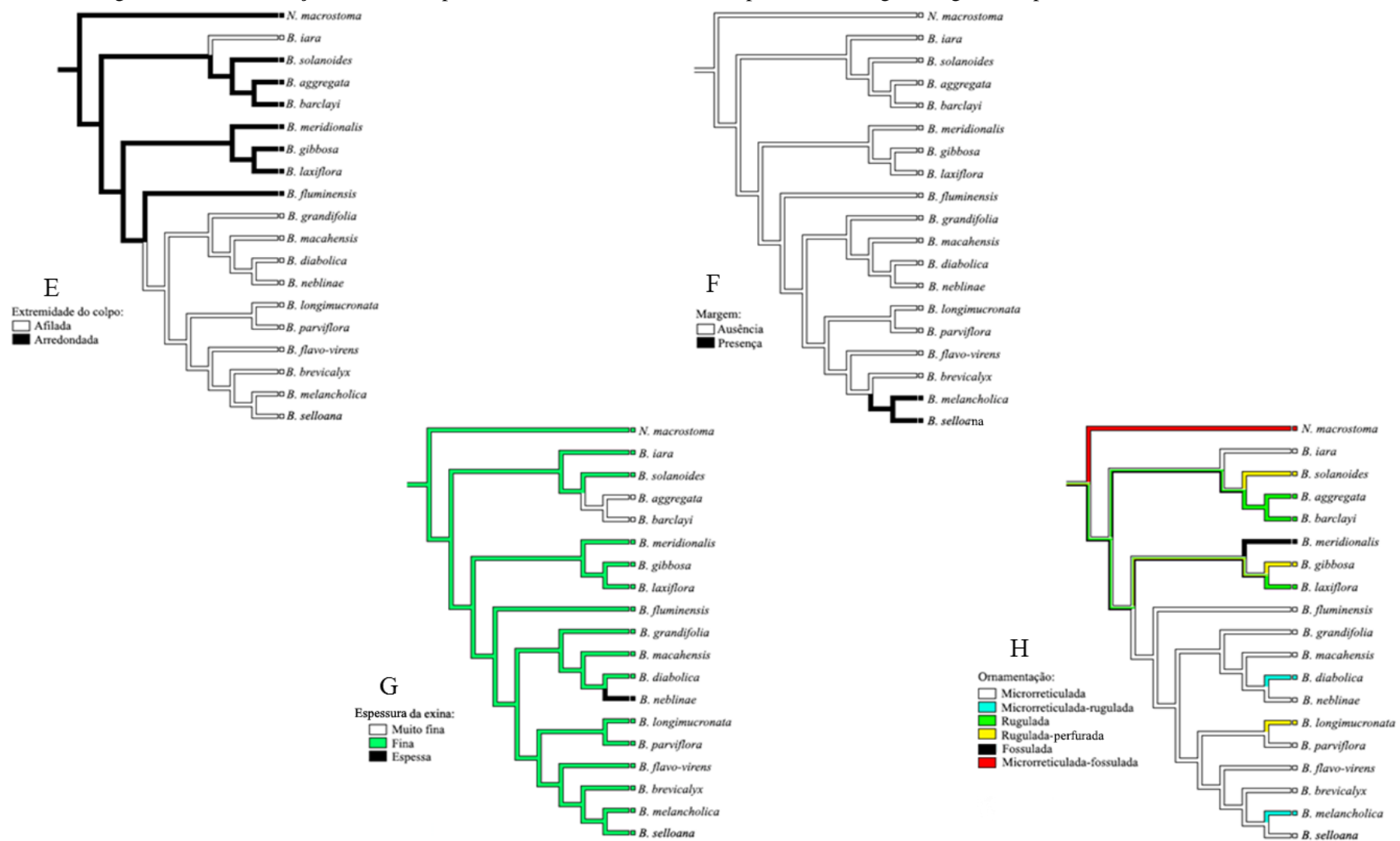
No segundo clado, a maioria das espécies são microrreticuladas, com exceção de *B. diabolica* e *B. melancholica*, cuja ornamentação da exina é microrreticulada-rugulada e *B. longimucronata*, rugulada-perfurada.

Figura 16 – Reconstrução de máxima parcimônia de estados ancestrais para a morfologia dos grãos de pólen de *Besleria* Plum. ex L.



Fonte: Árvores elaboradas pela autora utilizando o software Mesquite 2.7.5

Figura 17 – Reconstrução de máxima parcimônia de estados ancestrais para a morfologia dos grãos de pólen de *Besleria* Plum. ex L.



Fonte: Árvores elaboradas pela autora utilizando o software Mesquite 2.7.5

4. DISCUSSÃO

4.1. Morfologia polínica

Alguns trabalhos sobre a morfologia polínica de Gesneriaceae foram publicados até o momento, porém, poucos apresentam dados morfopolínicos de espécies brasileiras de Beslerieae e Napeantheae. Portanto, o presente estudo traz dados mais recentes, para as espécies já estudadas, e novos dados, explorados em detalhes, sobre a morfologia polínica e estados de caráter ancestrais para as espécies brasileiras destas tribos.

Apenas alguns autores estudaram os gêneros aqui analisados, são eles: Howard (1975), Roubik; Moreno (1991), Fourny et al. (2010) e Gasparino et al. (2011).

Howard (1975) ao estudar cinco espécies do gênero *Anetanthus*, descreveu *A. gracilis* com grãos de pólen esferoidais ou prolatos, tricolpados, colpo longo e afilado, membrana do colpo com estruturas verrugosas, ornamentação da exina foveolada a reticulada e a espessura da exina com 1,0 μm . Comparando com os dados apresentados aqui, encontramos uma divergência na descrição. A espécie foi descrita como 3-colporada, com colpo curto de extremidade arredondada, sem membrana ornamentada, exina microrreticulada e a exina de com 1,40 μm . Apenas a forma está dentro da classe dos grãos prolatos. A diferença na descrição morfopolínica para a espécie ocorreu provavelmente pelos seguintes motivos: o trabalho foi publicado no ano de 1975 e sabemos que os microscópios não tinham boa definição para a visualização dos grãos de pólen; a espécie apresenta grãos de pólen muito sensíveis a acetólise, o que gera grande amassamento dos grãos de pólen, dificultando a visualização das aberturas; o autor apresentou apenas uma eletromicrografia da espécie e nenhuma foto de microscopia ótica, sendo difícil a visualização e comparação das aberturas.

Roubik & Moreno (1991) analisaram 10 espécies da família Gesneriaceae da Ilha de Barro Colorado no Panamá, onde apenas uma espécie de *Besleria* foi descrita (*B. laxiflora*). Os grãos de pólen de *B. laxiflora* foram caracterizados pequenos, tricolpados, subprolotos a esferoidais, membrana granular persistente no colpo e ornamentação da exina psilada. No presente estudo, os grãos de pólen também foram classificados como pequenos e a forma também varia dentro da classe dos oblatos e prolatos. Porém, não foi observado membrana no colpo e a ornamentação da exina aqui encontrada, sob microscopia de luz e MEV, é claramente rugulada. Os autores não trazem no trabalho nenhuma foto da espécie, apenas sua descrição, o que dificulta a discussão.

Em 2010, Fourny e colaboradores, estudaram as espécies de Gesneriaceae presentes no Estado do Rio de Janeiro, na qual *Besleria longimucronata*, *B. macahensis*, *B. melancholica*

B. umbrosa (hoje, sinonimizada como *B. grandifolia*) foram analisadas e descritas. Ao se comparar o trabalho com o aqui apresentado, houve diferenças nas descrições principalmente quanto a ornamentação da exina, o número de aberturas e variações da mesma. Para *B. macahensis*, os grãos de pólen caracterizados como médios, prolatos, 3-colpados, colpo curto, apresentando margem e ornamentação escabrada com perfurações, o que diferida descrição aqui apresentada (grãos de pólen pequenos oblatos-esferoidais, 3-colporados, colpo longo sem margem e ornamentação microrreticulada). Em relação às demais espécies, as diferenças estão nas seguintes características: abertura 3-colpada em *B. longimucronata* e *B. melancholica* (aqui 3-colporadas); colpos curtos em *B. umbrosa* (aqui, longos); todas as espécies com margem (no presente estudo, destas espécies, apenas em *B. melancholica* foi observado margem); as espécies *B. longimucronata* e *B. melancholica* foram descritas como sincolpadas, sendo que apenas em *B. longimucronata* foi visualizado o encontro dos colpos, formando um sincólporo. Quanto às ornamentações foi descrita a mesma ornamentação para *B. melancholica* (rugulada-perfurada); para *B. longimucronata* nos dois trabalhos foram observadas perfurações na exina, porém aqui também observamos rúgulas.

Mais recentemente, em seus estudos Gasparino et al. (2011), analisaram os dados morfológicos de espécies de Gesneriaceae ocorrentes no Estado de São Paulo. Foram apresentados então, resultados polínicos de três espécies de *Besleria*: *B. longimucronata*, *B. selloana*, e *B. umbrosa* (hoje, sinonimizada como *Besleria grandifolia*) e duas espécies de *Napeanthus*: *N. primulifolius* e *N. reitzii*. Os grãos de pólen foram descritos como pequenos, pequenas-médios (para *B. selloana*, sendo aqui classificada apenas com grãos de pólen pequenos); isopolares; oblatos-esferoidais (os autores não relataram variações na forma, como descrita aqui); 3-colporados. Houve diferenças quanto às características das aberturas: os colpos foram descritos como longos e estreitos para *B. longimucronata*, *B. umbrosa* (aqui os colpos foram caracterizados como longos e largos), *N. primulifolius* e *N. reitzii* (aqui descritos como curtos e estreitos); largos e estreitos para *B. selloana* (aqui curtos e estreitos); endoabertura lolongada para *B. longimucronata* (aqui descrita como circular), endoabertura circular para *B. umbrosa* (aqui descrita como lolongada) ou de difícil visualização para *Napeanthus* (no presente estudo, *N. primulifolius* foi descrita com endoabertura circular e *N. reitzii* endoabertura lolongada); extremidades do colpo afiladas em *B. longimucronata*, *N. primulifolius* e *N. reitzii* (aqui, as duas espécies foram especificados com extremidades do colpo arredondadas) ou arredondada em *B. selloana* e *B. grandifolia* (descritas aqui como afiladas). A ornamentação da exina psilada-perfurada para *B. longimucronata* (aqui, rugulada-

perfurada), rugulada para *B. umbrosa* (aqui, microrreticulada) ou microrreticulada para *B. selloana*, *N. primulifolius* e *N. reitzii* (aqui descritas como microrreticuladas-fossuladas).

As duas espécies, *Besleria iara* e *B. aggregata*, ocorrem no sub-bosque da floresta úmida, perto de córregos, e são arbustos completamente cobertos por indumento, compartilhando da mesma área geográfica e possuem caracteres vegetativos parecidos. Apenas pequenas características da flor e folhas são capazes de distingui-las. (Ferreira et al. 2017). Entretanto, os grãos de pólen destas espécies apresentam diferenciação significativa nas características, mesmo as duas sendo 3-colpadas: *B. aggregata* é rugulada, colpo curto e extremidade arredondada e *B. iara* apresenta exina microrreticulada, colpo muito curto e extremidade afilada. Outra característica de distinção entre as espécies é a espessura da exina, muito fina em *B. aggregata* e fina em *B. iara*.

O presente estudo descreve pela primeira vez a morfologia polínica de *Tylopsacas cuneatum* e das demais espécies de *Besleria* e *Napeanthus*.

4.2. Dados qualitativos e quantitativos dos grãos de pólen e distribuição fitogeográfica do gênero *Besleria* Plum ex L.

Foi observada uma grande variação qualitativa para os grãos de pólen das espécies do gênero *Besleria*, inclusive dentro das espécies de uma mesma distribuição geográfica. Ao se analisar os dados quantitativos também não foi encontrado um padrão de medidas para as espécies de mesma distribuição. Tanto na ACP quanto no dendograma, as espécies de ampla distribuição (em azul) ficaram separadas entre si, e as de distribuição extra atlântica (verde) e atlântica (vermelha), demonstraram um pequeno padrão de similaridade, mas também tiveram algumas espécies separadas entre si.

Quando ponderamos as análises quantitativas (ACP, Fig. 14; dendograma – Fig. 15) e as análises qualitativas (Árvores de reconstrução dos caracteres ancestrais – Figs. 16-17), consideramos que os dados quantitativos e qualitativos se confirmam em separar as espécies com presença e ausência de endoabertura (*Besleria aggregata* e *B. solanoides*), constrição, espessura da exina (por exemplo, a espécie *B. neblinae*, é a única que possui exina espessa, ficando separada nos dois casos).

4.3. Evolução dos tipos de abertura e ornamentação dentro do gênero *Besleria* Plum ex L.

A palinologia é de grande importância para os estudos filogenéticos das Angiospermas, pois em nenhuma outra área da Botânica é possível obter uma quantidade tão grande de informações de tão pouco material em pouco tempo (WALKER; DOYLE, 1975). As características dos grãos de pólen consideradas mais importantes para uma discussão a nível taxonômico e que são filogeneticamente úteis são as aberturas e a parede da exina. Primeiramente porque o aumento da quantidade de aberturas dos grãos de pólen ofereceu uma vantagem adaptativa para as Angiospermas mais derivadas, sendo o grão de pólen tricolpado indicado como uma característica responsável para a rápida e bem-sucedida radiação das mesmas (FURNESS; RUDDAL, 2004). Concomitantemente existem na literatura muitos trabalhos que correlacionam a ornamentação dos grãos de pólen e seus polinizadores, comprovando muitas vezes a co-evolução entre planta-polinizador tão importante para as angiospermas (FERGUSON; SKVARLA, 1982; HEMSLEY; FERGUSON, 1985; FERGUSON; PEARCE, 1986; FERGUSON, 1990; OSBORN; TAYLOR; SCHNEIDER, 1991; GRAYUM, 1992; HESSE, 2000; TANAKA; UCHARA; MURATA, 2004; BANKS; RUDALL, 2016). Demonstrando assim a grande importância das variedades de tipos de ornamentação dos grãos de pólen para as Angiospermas como fonte de informação filogenética de grande importância.

Ao se comparar os resultados da reconstrução de caracteres morfológicos ancestrais de *Besleria* (Figs 16-17) com a filogenia com base em análises moleculares (Ferreira 2018, Figs. 18-19) verificamos que os dados de comprimento do colpo, tipo de endoabertura, ornamentação e largura da exina não sustentam os clados obtidos na filogenia. Assim, a variação das características morfológicas observadas nos grãos de pólen provavelmente seguiu diferentes caminhos de modificação, o que pode ser utilizado em nível taxonômico específico.

Com base nisso, foram formuladas hipóteses sobre a evolução do comprimento do colpo, tipo de endoabertura e tipo de ornamentação para as espécies de *Besleria* (Figs. 20-21).

Em relação às aberturas (Fig. 20), o colpo longo com endoabertura circular (*Napeanthus primulifolius*) é provavelmente um estado de caráter ancestral e pleisiomórfico, que se diversificou primeiramente com a alteração da forma da endoabertura, ou seja, colpo longo e endoabertura lolongada (*N. reitzii*, *Besleria macahensis*, *B. fluminensis*, *B. grandifolia*, Fig.20;1), ou com redução do tamanho de colpo (colpo curto) e com endoabertura lolongada (*A. gracilis*, *B. laxiflora*, *B. selloana*, *B. melancholica* e *B. brevicalyx*, Fig.20;2).

Este padrão de abertura ancestral, também pode ter dado origem aos tipos: colpo curto e endoabertura circular (*B. flavo-virens*, Fig.20;3) e colpo longo sem endoabertura (*B. diabólica*, Fig.20;4).

Observa-se em *Besleria aggregata* e *B. solanoides* a presença de grãos de pólen com colpos curtos sem endoabertura, este padrão pode ter se originado daqueles grãos de pólen com colpos curtos que perderam a endoabertura (Fig.20;5) ou pela diminuição do comprimento de colpos em grãos de pólen colpados (Fig.20;6). Seguindo esse mesmo caminho, espécies colpadas com colpos curtos, podem ter sofrido uma nova redução de comprimento de colpo, como observamos em *B. barclayi* (Fig.20;7). Portanto sugere-se uma tendência a diminuição do tamanho do colpo e perda da endoabertura em *Besleria*.

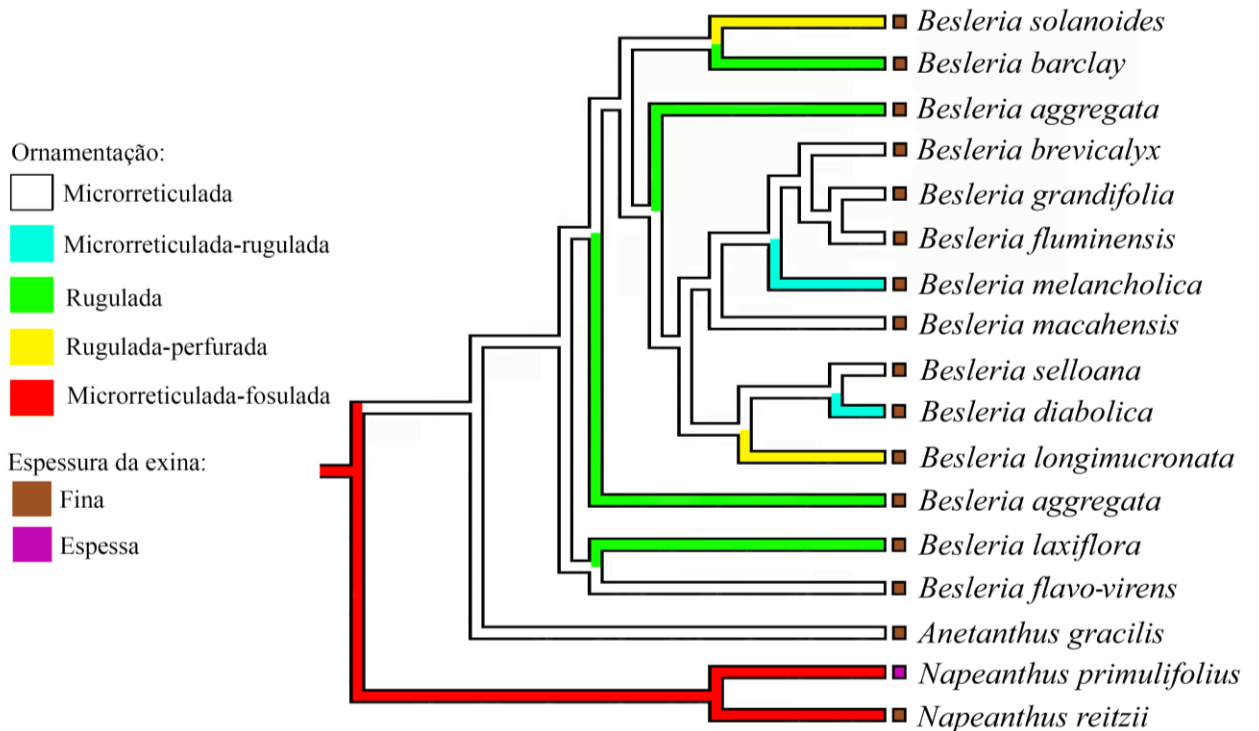
Em relação à ornamentação (Fig. 21), o tipo microrreticulada-fossulada (*Napeanthus primulifolius* e *N. retzii*) aparece como uma plesiomorfia que deu origem primeiramente a ornamentação microrreticulada (que se apresenta na maioria das espécies, Fig.21;1), a qual pode ter se diversificado para as ornamentações rugulada (*Besleria laxiflora*, *B. aggregata* e *B. barclayi*, Fig.21;2), rugulada-perfurada (*B. longimucronata*, *B. solanoides*, Fig.21;3) e microrreticulada-rugulada (*B. diabólica* e *B. melancholica*, Fig.21;4). Porém, o inverso também pode ter ocorrido, onde a ornamentação rugulada pode ter dado origem a microrreticulada, rugulada-perfurada e microrreticulada-rugulada (Fig.21;5), seguindo a proposta de Walker e Doyle (1975) onde grãos de pólen com ornamentação tectado-imperfurada aparecem com ancestrais de grãos de pólen tectado-perfurada.

Fig. 18- Otimização da endoabertura e comprimento do colpo dos grãos de pólen das espécies de *Besleria* Plum ex. L. a partir de análises moleculares obtidas e modificadas de Ferreira, 2018.



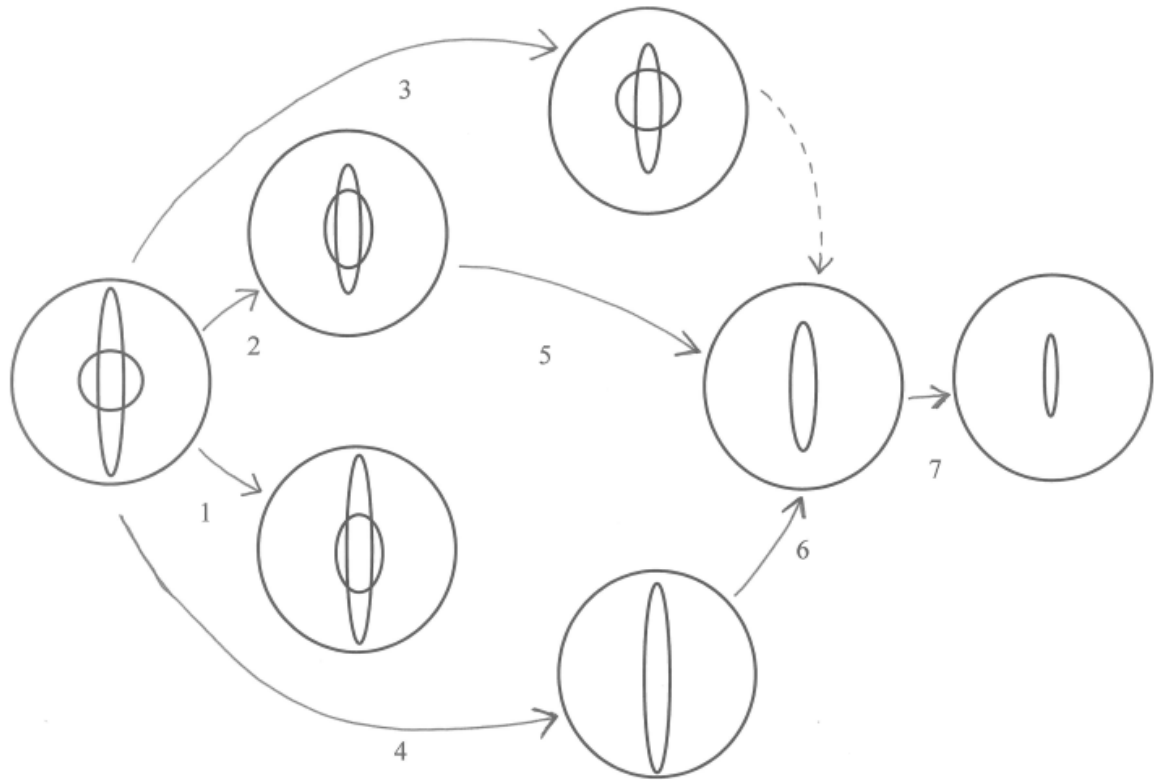
Fonte: A autora.

Fig. 19- Otimização da ornamentação e espessura da exina dos grãos de pólen das espécies de *Besleria* Plum ex. L. a partir de análises moleculares obtidas e modificadas de Ferreira, 2018.



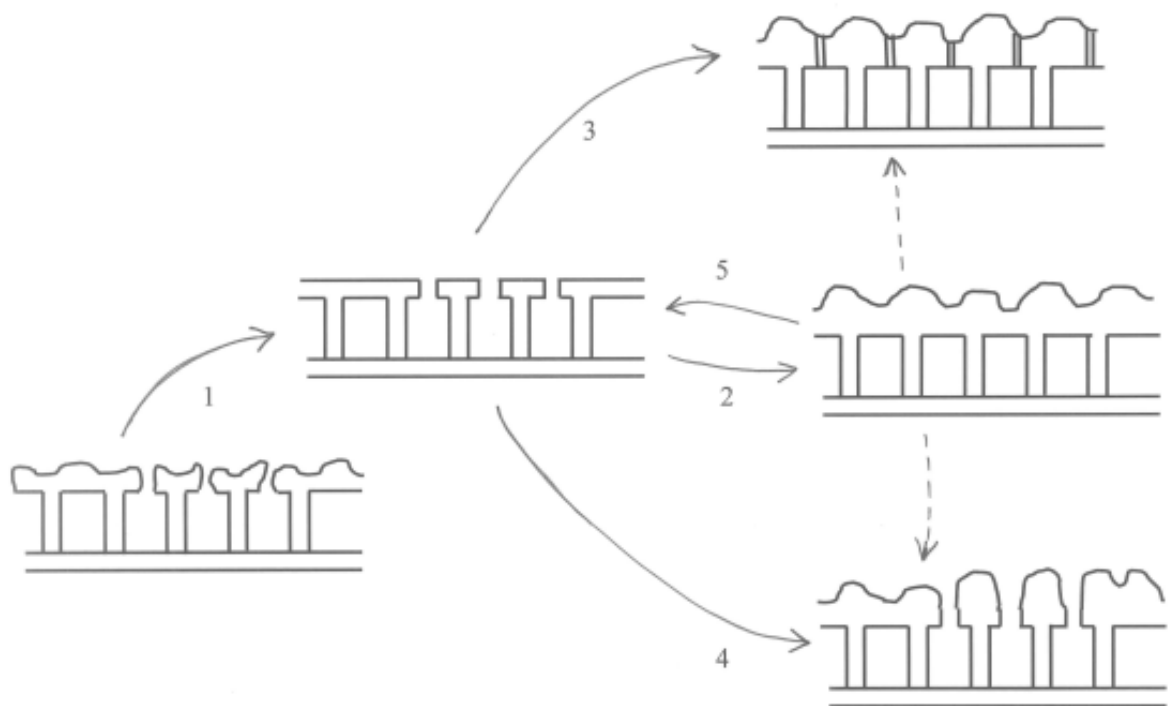
Fonte: A autora.

Fig. 20- Hipóteses da evolução das aberturas para *Besleria* Plum. ex L.



Fonte: A autora.

Fig. 21- Hipóteses da evolução da ornamentação da exina em *Besleria* Plum. ex L.



Fonte: A autora.

5. CONCLUSÃO

A grande variabilidade polínica encontrada no presente estudo confirma a diversidade polínica para a Gesneriaceae. Os caracteres que mais contribuíram para distinção entre as espécies dentro de um mesmo gênero, mesma tribo ou entre gêneros diferentes foram: presença de endoabertura (presença de espécies colpadas e colporadas), características das aberturas (comprimento, largura do colpo, extremidade dos colpos, presença ou ausência margem e constrição) e a ornamentação dos grãos de pólen. Características quantitativas de tamanho, forma e qualitativa de âmbito, não são significativas para a caracterização das espécies aqui analisadas, pois estas apresentam grande variação destas características e demonstraram que seus grãos de pólen são muito sensíveis as alterações do ambiente. Portanto, as espécies Brasileiras de Beslerieae. e Napeantheae são euripolínicas.

Informações sobre a morfologia dos grãos de pólen de *Tylopsacas cuneatum* e para as demais espécies dos gêneros *Besleria* e *Napeanthus*, verificamos que não existem na literatura trabalhos publicados, demonstrando a importância das descrições realizadas no presente estudo.

Os dados obtidos no presente estudo não permitem relacionar os caracteres polínicos com a distribuição geográfica do gênero *Besleria*.

REFERÊNCIAS

APG IV. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants. The Linnean Society of London, **Botanical Journal of the Linnean Society**, 2016.

ARAÚJO, A.O. **Estudos taxonômicos em *Gloxinia* L'Hér. *sensu lato* (Gesneriaceae)**. Tese de Doutorado, Universidade de São Paulo, São Paulo, 2007.

ARAÚJO, A.O.; CHAUTEEMS, A.; FERREIRA, G.E. **Gesneriaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro**. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB119>>. Acesso em 30 abr. 2017.

BANKS, H.; L. RICO. Pollen morphology and phylogenetic analysis of *Eperua* Aublet (Detarieae: Caesalpinioideae: Leguminosae). **Grana**, v. 38, p. 261-276, 1999.

BARROSO, G.M.; PEIXOTO, A.L.; ICHASO, C.L.; COSTA, C.G., GUIMARÃES, E.F.; LIMA, H.C. **Sistemática de angiospermas do Brasil**, v. 3, Universidade Federal de Viçosa, Imprensa Universitária, Viçosa, 1986.

BARTH, O.M.; MELHEM, T.S. **Glossário Ilustrado de Palinologia**. Editora da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1988.

BEAUFORT-MURPHY, H.T. The seed-surface morphology of the Gesneriaceae, utilizing the scanning electric microscope and a new system for diagnosing seed morphology. **Selbyana**, v. 6, p. 220-422, 1983.

BENTHAM, G. Gesneriaceae. *In*: G. Bentham & W.J. Hooker (ed.). **Genera Plantarum**, v. 2, p. 990-1025, 1876.

BURTT, B.L. Studies in the Gesneriaceae of the Old World XXIV: Tentative keys to the tribes and genera. **Notes from the Royal Botanic Garden Edinburgh**, v. 24, p. 205-220, 1962.

BURTT, B.L. Classification above genus, as exemplified by Gesneriaceae, with parallels from other groups. **Plant Systematic and Evolution**, v. 1, p. 97-109, 1977.

BURTT, B.L.; WIEHLER, H. Classification of the family Gesneriaceae. **Gesneriana**, v. 1, p. 1-4, 1995.

CAMPOS, S.M. Pollen grains of plants of the Cerrado. **IV Revista Brasileira da Biologia**, v. 22, p. 307-315, 1962.

CHAUTEEMS, A. Révision taxonomique et possibilités d' hybridations de *Nematanthus* Schrader (Gesneriaceae), genre endémique de la forêt côtière brésilienne. **Dissertationes Botanicae**, v. 112, p. 1-226, 1988.

CHAUTEEMS, A. A família Gesneriaceae na região cacauera da Bahia, Brasil. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 14, p. 51-59, 1991.

CHAUTEMS, A.; WEBER, A. Shoot and inflorescence architecture in the neotropical genus *Sinningia* (Gesneriaceae). *In*: M. Kurmann & A. Hemsley (eds.). The evolution of plant architecture. **Royal Botanic Gardens**, Kew, p. 305-322, 1999.

CHAUTEMS, A. Gesneriaceae. *In*: Flora do Distrito Federal (T.B. Cavalcanti & A.E. Ramos, coords.). **Embrapa**. Brasília, v. 3, p. 185-197, 2003.

CHAUTEMS, A.; MATSUOKA, C.Y.K. Gesneriaceae. *In*: M.G.L. Wanderley, G.J. Shepherd, A.M. Giulietti & T.S. Melhem, (coords.). **Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo**. Fapesp: Rima, São Paulo, v. 3, p. 75-103, 2003.

CHUNG, K.S.; ELISENS, W. J.; SKVARLA, J. J. Pollen morphology and its phylogenetic significance in tribe Sanguisorbeae (Rosaceae). **Plant Systematic and Evolution**, v. 285, p. 139–148, 2010.

CLARK, J.L.; HERENDEEN, P.S.; SKOG, L.E.; ZIMMER, E.A. Phylogenetic relationships and generic boundaries in the Episcieae (Gesneriaceae) inferred from nuclear, chloroplast and morphological data. **Taxon**, v. 55, p. 313-336, 2006.

CLARK, J.L.; NEILL, D.A.; GRUHN, J.A.; WEBER, A.; KATAN, T. *Shuaria* (Gesneriaceae) an arborescent new genus from the Cordillera del Córdor and Amazonian Ecuador. **Systematics Botany**, v. 38, p. 662-674, 2010

CLARK, J.L.; FUNKE, M. M.; DUFFY, A. M.; SMITH, J. F. Phylogeny of a Neotropical clade in the Gesneriaceae more tales of convergent evolution. **International Journal of Plant Sciences**, v. 173, p. 894-916, 2012.

CITERNE, H.L.; MOLLER, M.; CRONK, Q.C.B. Diversity of cycloidea-like genes in Gesneriaceae in relation to floral symmetry. **Annals of Botany**, v. 86, p. 167-176. 2000.

CORTÉS-CEBALLOS, O.L; GIRALDO-RODRIGUEZ, A.; TORRES-GONZALEZ, A.M. Two new species of *Besleria* (Gesneriaceae) from the department of Valle del Cauca, Colombia. **Phytotaxa**, v. 332.2, p. 181-188, 2017.

COSTA, L.P., 2003. The historical bridge between the Amazon and the Atlantic Forest of Brazil: a study of molecular phylogeography with small mammals. **J. Biogeogr**, v. 30, p. 71–86, 2003.

DOYLE, J.A. Early evolution of angiosperm pollen as inferred from molecular and morphological phylogenetic analyses. **Grana**, v. 44, p. 227-251, 2005.

DU, Y.P.; WEI, C.; WANG, Z.X.; LI ,S.; HE, H.B.; JIA, G.X. *Lilium* spp. pollen in China (Liliaceae): Taxonomic and Phylogenetic Implications and Pollen Evolution Related to Environmental Conditions. **PLOS ONE**, v. 9, 2014.

DUTRA, F.V. **Palinotaxonomia de espécies brasileiras de *Sinningia* Nees (Gesneriaceae) – Evolução da Morfologia Polínica e Síndromes de Polinização**. Dissertação (Ciências) – Universidade de São Paulo, Ribeirão Preto, 2018.

ERDTMAN, G. **Pollen morphology and plant taxonomy – Angiosperms**. Almqvist & Wiksell, Stockholm, 1952.

ERDTMAN, G. The acetolysis method: A revised description. **Svensk Botanisk Tidskrift**, v. 54, p; 561-564, 1960.

FAEGRI K.; IVERSEN J. **Textobook of Modernd Pollen Analysis**. Copenhagen: Einar Munksgaard, 1950.

FAEGRI, G.; IVERSEN, J. **Textbook of modern pollen analysis**. 2^aed., Scandinavian University Books, Copenhagen, Denmark: Einar Munksgaard, 1966.

FELICE, M.A.C.; SANCHIS, A.M.; VILLAR, L.M. Granos de pólen de las Gesneriaceae de la Argentina. **Comunicaciones del Museo Argentino de Ciencias Naturales “Bernardino Rivadavia”**, v. 2, p. 77-89, 1981.

FERGUSON, I.K.; SKYARLA, J.J. Pollen morphology in relation to pollinators in Papilionoideae (Leguminosae). **Bot. J. Linn. Soc.**, v. 84, p. 183 193, 1982.

FERGUSON, I.K.; PEARCE, K.J. Observations on the pollen morphology of the genus *Bauhinia* L. (Leguminosae: Caesalpiniaceae) in the neotropics. In: Blackmore S., Ferguson I. K. (eds.) Pollen and Spores. Form and Function. **Linnean Society Symposium Series**, v. 12, p. 283-296, 1986.

FERGUSON, I.K. The significance of some pollen morphological characters of the tribe Amorpheae and the genus *Mucuna* (tribe Phaseoleae) in the biology and systematics of subfamily Papilionoideae (Leguminosae). **Rev Palaeobot Palynol**, v. 64, p. 129–136, 1990.

FERREIRA, G.E.; CHAUTEMS, A.; HOPKINS, M.J.G.; PERRET, M. Independent evolution of pouched flowers in the Amazon is supported by the discovery of a new species of *Lesia* (Gesneriaceae) from Serra do Aracá tepui in Brazil. **Plant Systematic and Evolution**, v. 302, p. 1109–1119. 2016a.

FERREIRA, G.E.; COSTA, I.G.; ARAUJO, A.O.; HOPKINS, M.J.G.; CHAUTEMS, A. Three new species of *Besleria* (Gesneriaceae) from the southeastern Brazilian Atlantic rainforest. **Phytotaxa**, v. 263 p. 270–278, 2016b.

FERREIRA, G.E.; ARAÚJO, A.O.; HOPKINS, M.J.G.; CHAUTEMS, A. A new species of *Besleria* (Gesneriaceae) from the western Amazon rainforest. **Brittonia**, v. 69, p. 241–245, 2017.

FERREIRA, G.E. **Phylogeny and historical biogeography of the Neotropical genus *Besleria* (Gesneriaceae)**. Tese (Ciências Biológicas, Botânica) – Instituto Nacional de Pesquisas da Amazônia, Manaus, 2018.

FEUILLET, C.; SKOG, L.E. Novae Gesneriaceae Neotropicarum XII. New species of Gesneriaceae from the Guianas. **Brittonia**, v. 54, p. 353-361, 2002.

Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: < <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> >. Acesso em: 21 Ago. 2018.

FOURNY, A.C.S.; MENDONÇA, C.B.F.; LOPES, T.C.C; GONÇALVES-ESTEVEES, V. Palinologia de espécies de Gesneriaceae Rich. & Juss. ocorrentes no estado do Rio de Janeiro, Brasil. **Acta Botanica Brasilica**, v. 24, p. 812-824, 2010.

FOUQUET, A.; LOEBMANN, D.; CASTROVIEJO-FISHER, S.; PADIAL, J.M.; ORRICO, V.G.D.; LYRA, M.L.; ROBERTO, I.J. KOK, P.J.R.; HADDAD, C.F.B.; RODRIGUES, M.T. From Amazonia to the Atlantic forest: Molecular phylogeny of Phyzelaphryninae frogs reveals unexpected diversity and a striking biogeographic pattern emphasizing conservation challenges. **Molecular Phylogenetic Evolution**, v. 65, p. 547–561, 2012.

FRITSCH, K. Gesneriaceae. In: A. Engler & K. Prantl. (eds.). **Die natürlichen Pflanzenfamilien**, v. 4, p. 133-144, 1893.

FRITZE, K.J.; WILLIAMS, N.H. The taxonomy significance of pollen morphology in the *Columnea* alliance (Gesneriaceae: Gesnerioideae). **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 75, p. 168-191, 1988.

FURNESS, C.A.; RUDALL, P. J. Pollen aperture evolution—a crucial factor for eudicot success?. **Trends in plant science**, v. 9, n. 3, p. 154-158, 2004.

GASPARINO E.C.; CRUZ-BARROS M.A.V. **Palinologia. Curso de Capacitação de monitores e educadores**. Programa de Pós-Graduação em Biodiversidade Vegetal e Meio Ambiente. Instituto de Botânica – Ibt. São Paulo, 2006.

GASPARINO, E.C. **Palinotaxonomia de espécies brasileiras de Gesneriaceae, com ênfase nas ocorrentes no Estado de São Paulo**. Tese de Doutorado, Instituto de Botânica, São Paulo, 2008.

GASPARINO, E.C.; CRUZ-BARROS, M.A.A.V.; CHAUTEMS, A.; GALLETI, S.R. Palinotaxonomia de *Besleria* L. e *Napeanthus* Gardn. (Beslerieae/Napeantheae – Gesneriaceae) com ênfase nas espécies ocorrentes no Estado de São Paulo. **Revista Brasileira de Botânica**, v. 34, p. 321-333, 2011.

GASPARINO, E.C.; CRUZ-BARROS, M.A.V.; CHAUTEMS, A. Pollen morphology in Brazilian species of *Codonanthe* (Mart.) Hanst and *Nematanthus* Schrader (Gesneriaceae). **Grana**, v. 52, n. 4, p. 258-274, 2013.

GRAYUM, M. H. Comparative external pollen ultrastructure of the Araceae and putatively related taxa. **Missouri Botanical Garden**, St. Louis, Missouri, 1992.

KAUR, R. **Outros jeitos de se usar a boca**. São Paulo: Planeta, 2017. p. 194.

HAYAT, M.Q.; ASHRAF, M.; KHAN, M.A.; YASMIN, G.; SHAHEEN, N.; JABEEN, S. Phylogenetic analysis of *Artemisia* L. (Asteraceae) based on micromorphological traits of pollen grains. **African Journal of Biotechnology**, v. 823, p. 6561-6568, 2009.

HEMSLEY, A.J.; FERGUSON, I.K. Pollen morphology of the genus *Erythrina* (Leguminosae: Papilionoideae) in relation to floral structure and pollinators. **Ann. Missouri Bot. Garden**, v. 72, p. 570-590, 1985.

HESSE, M. Pollen wall stratification and pollination. *In*: A. Dafni, M. Hesse & E. Pacini (eds.). **Pollen and Pollination – Special Edition of *Plants Systematics and Evolution***, v. 222, n. 1- 4., Springer Wien New York, 2000.

HESSE, M.; HALBRITTER, H.; ZETTER, R.; WEBER, M.; BUCHNER, R.; FROSCHRADIVO, A.; ULRICH, S. **Pollen Terminology an illustrated Handbook**. New York: Springer Wien, 2009.

HOWARD, R.A. The genus *Anetanthus* (Gesneriaceae). **Journal of Arnold Arboretum**, v. 56, p. 364-368, 1975.

KRAHL, A.H.; KRAHL, D.R.P.; VALSKO, J.J.; HOLANDA, A.S.S.; ENTRINGER-JR, H.; NASCIMENTO, J.W. Biologia reprodutiva e polinização das Gesneriaceae do Brasil: uma revisão de literatura. **Natureza online**, v .12, p. 45-47, 2014.

KVIST, L.P. Gesneriads and snake bite. **Gloxinian**, v. 36, p. 8-13, 1986.

KVIST, L.P. Popular names and medicinal uses of *Columnnea* (Gesneriaceae). **Gloxinian**, v. 39: p. 21-25, 1989.

KVIST, L.P.; HOLM-NIELSEN, L.B. Ethnobotanical aspects of lowland Ecuador. **Opera Botanica**, v. 92, p. 83-107, 1987.

KVIST, L.P.; SKOG, E.L.; AMAYA-MÁRQUEZ, M. Los géneros de gesneriáceas de Colombia. **Caldasia**, p. 12-28, 1998.

LANDI, L.A.D.C. **Palinotaxonomia em espécies brasileiras do complexo *Codonanthe-Codonanthesis* (Gesneriaceae) e gêneros relacionados**. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, Jaboticabal, 2017.

LOPES, T.C.C.; ANDREATA, R.H.P.; CHAUTEMS, A. Diversidade florística das Gesneriaceae na reserva rio das Pedras, Mangaratiba, Rio de Janeiro, Brasil. **Pesquisas Botânica**, v. 56, p. 75-102, 2005.

LOPES, T.C.C.; ANDREATA, R.H.P.; CHAUTEMS, A. Distribuição e conservação do gênero *Besleria* L. (Gesneriaceae) no Brasil: dados preliminares. **Revista Brasileira de Biociências**, v.5, p. 876-878, 2007.

LORENZI, H.; SOUZA, H.M. **Plantas ornamentais no Brasil: arbustivas, herbáceas e trepadeiras**. 2 ed. Instituto Plantarum, Nova Odessa, 1999.

LUEGMAYR, E. Pollen of Hawaiian *Cyrtandra* (Gesneriaceae) including notes on Southeast Asian taxa. **Blumea**, v. 38, p. 25-38, 1993a.

LUEGMAYR, E. Pollen characters of Old World Gesneriaceae (Cyrtandroideae). **Grana**, v. 32, p. 221-232, 1993b.

MADDISON, W. P.; MADDISON, D. R. **Mesquite: A modular system for evolutionary analysis, version 2.7.5**. Disponível em: <<http://mesquiteproject.org/mesquite/mesquite.html>>. Acesso em: 27 agosto de 2018.

MCCUNE, B.; MEFFORD, M.J. **PC-ORD: Multivariate analysis of ecological data**. MjM Software Desing, Oregon, 2011.

MELHEM, T.S.; MATOS, M.E.R. Variabilidade de forma dos grãos de pólen de *Eriope crassipes* Benth – Labiatae. **Hoehnea**, v. 2, p. 1-10, 1972.

MELHEM, T.S.; MAURO, C. Pollen morphology studies in Gesneriaceae. **Hoehnea**, v. 3, p. 13-27, 1973.

MELHEM, T.S. Palinologia suas aplicações e perspectivas no Brasil. **Coleção Museu Paulista**, Série ensaios, v. 2, p. 325-368, 1978.

MELHEM, T.S.; CRUZ-BARROS, M.A.V.; CORRÊA, A.M.S.; MAKINO-WATANABE, H.; SILVESTRE-CAPELATO, M.S.F.; GONÇALVES-ESTEVEES, V.L. **Variabilidade polínica em plantas de Campos do Jordão (São Paulo, Brasil)**. Boletim do Instituto de Botânica de São Paulo, v. 16, p. 1-104, 2003.

MOLLER, M.; CLARK, J.L. The state of molecular studies in the family Gesneriaceae: a review. **Selbyana**, v. 31, p. 95-125, 2013.

NOWICKE, J. W. Two new species of *Besleria* (Gesneriaceae) from Panama. **Brittonia**, v. 26, p. 37-41, 1974.

OSBORN, J.M.; TAYLOR, T.N.; SCHNEIDER, E.L. Pollen morphology and ultrastructure of the Cabombaceae: correlation with pollination biology. **American Journal of Botany**, v. 78, p. 1367–1378, 1991.

PALEE, P.; SAMPSON, F.B.; ANUSARNSUNTHORN, V. Pollen morphology of some Thai Gesneriaceae. **The Natural History Bulletin of Siam Society**, v. 51, p. 225-240, 2003.

PERRET, M.; CHAUTEEMS, A.; SPICHIGER, R.; KITE, G.; SAVOLAINEN, V. Systematic and evolution of tribe Sinningieae (Gesneriaceae) evidence from phylogenetic analyses of six plastid DNA regions and nuclear *ncpGS*. **American Journal of Botany**, v. 90, p. 445-460, 2003.

PERRET, M.; CHAUTEEMS, A.; ARAUJO, A.O.; SALAMIN, N. Temporal and spatial origin of the Gesneriaceae in the New World inferred from plastid DNA sequences. **Botanical Journal of the Linnean Society**, v. 171, p. 61-79, 2013.

PLÁ-JUNIOR, M.A.; CÔRREA, M.; MACEDO, R.; CANCELLI, R.; BAUERMANN, S. **Grãos de pólen: usos e aplicações**. XVII Jornada acadêmica da Biologia. Canoas: ULBRA: 2006.

PUNT, W.; HOEN, P.P.; BLACKMORE, S.; NILSSON, S.; LE THOMAS, A. **Glossary of pollen and spore terminology**. Review of Paleobotany and Palynology, v. 143, p. 1-81, 2007.

ROALSON, E.H.; BOGGAN, J.K.; SKOG, L.E.; ZIMMER, E.A. Untangling Gloxinieae (Gesneriaceae). Phylogenetic patterns and generic boundaries inferred from nuclear, chloroplast and morphological cladistic datasets. **Taxon**, v. 54, p. 389-410, 2005a.

ROALSON, E.H.; BOGGAN, J.K.; SKOG, L.E. Reorganization of tribal and generic boundaries in the Gloxinieae (Gesneriaceae: Gesnerioideae) and the description of the new tribe in the Gesnerioideae, Sphaerorrhizeae. **Selbyana**, v. 25, p. 225-238, 2005b.

ROUBIK, D.W.; MORENO, P.J.E. Pollen and spores of Barro Colorado Island. Monograph in Systematic Botany, **Missouri Botanical Garden**, v. 36, p. 1-268, 1991.

SABA, M.D. Morfologia Polínica de Malvaceae: Implicações Taxonômicas e Filogenéticas. (Doutorado em Botânica) - Universidade Estadual de Feira de Santana, Feira de Santana, Bahia. 2007.

SANMARTIN-GAJARDO, I.; FREITAS, L. Hummingbird pollination in *Besleria longimucronata* Hoehne (Gesneriaceae) in southeastern Brazil. **Biociências**, v.7, p.13- 24, 1999.

SALGADO-LABOURIAU, M.L. **Contribuição à Palinologia dos Cerrados**. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro, 1973.

SAFFORD, H.D.; MARTINELLI, G. **Southeast Brazil**. In: S. Porembski & W. Barthlott, (eds.). Inselbergs: biotic diversity of isolated rock outcrops in tropical and temperate regions, Springer-Verlag, Berlin, pp. 339-389, 2000.

SCHLAG-EDLER, B.; KIEHN, M. Palynology of South Pacific *Cyrtandra* (Gesneriaceae) with notes on some Hawaiian taxa. **Grana**, v. 40, p. 192-196, 2001.

SHEPERD, G.J. **Fitopac 1: Manual do Usuário**. Departamento de Botânica, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 1996.

SKOG, L.E. A study of the tribe Gesneriaceae, with a revision of *Gesneria* (Gesneriaceae: Gesnerioideae). **Smithsonian Contributions to Botany**, v. 29, p. 1-182, 1976.

SKOG, L.E.; BOGGAN, J.K. **World Checklist of Gesneriaceae**. Washington, DC: Depto. Of Botany, Smithsonian Institution. <<http://persoon.si.edu/Gesneriaceae/Checklist>.> 2007.

SMITH, J.F. Tribal relationships within Gesneriaceae: a cladistic analysis of morphological data. **Systematic Botany**, v.21, p. 497-513, 1996.

SMITH, J.F.; WOLFRAM, J.C.; BROWN, K.D.; CARROL, C.L.; DENTON, D.S. Tribal relationships in the Gesneriaceae: Evidence from DNA sequences of the Chloroplast gene *ndhF*. **Annals of the Missouri Botanical Garden**, v. 84, p. 50-66, 1997.

SMITH, J.F. Phylogenetic resolution within the tribe Episcieae (Gesneriaceae): congruence of ITS and *ndhF* sequences from parsimony and maximum likelihood analyses. **American Journal of Botany**, v. 87, p. 883-897, 2000.

SPECIESLINK: Sistema de Informação Distribuído para Coleções Biológicas. Disponível em <<http://splink.cria.org.br>> Acesso em: junho de 2018.

SOUZA, C.N. **Palinotaxonomia em espécies brasileiras de Gloxiniinae com ênfase no complexo *Mandirola-Goyazia***. Dissertação de Mestrado, Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias de Jaboticabal, Jaboticabal, 2017.

SOUZA, C. N.; ARAUJO, A. O.; CHAUTEMS, A.; DA CRUZ-BARROS, M. A. V.; GASPARINO, E. C. Pollen morphology in Brazilian species of Gloxiniinae (Gesneriaceae): variation in apertures and pattern of ornamentation. **Plant Systematics and Evolution**, v. 1, 2018.

SOUZA, V.C.; LORENZI, H. **Botânica Sistemática: guia ilustrado para identificação das famílias de fanerógamas nativas e exóticas no Brasil, baseado em APG III**. 3ªed. Instituto Plantarum, Nova Odessa, São Paulo, 768p., 2012.

TANAKA, N.; UEHARA, K.; MURATA, J. Correlation between pollen morphology and pollination mechanisms in the Hydrocharitaceae. **Journal Plant Research**, v. 117, p. 265-276, 2004.

VAN DER WEIDE, J.C.; VAN DER HAM, R.W.J.M. Pollen morphology and phylogeny of the tribe Tabernaemontaneae (Apocynaceae, subfamily Rauvolfioideae). **Taxon**, v.61, p.131-145, 2012.

VICKERS, W.T.; PLOWMAN, T. Useful plants of the Siona and Secoya Indians of Eastern Ecuador: Gesneriaceae. **Fieldiana**, v. 15, p. 1-4, 1984.

VIEIRA, S. **Introdução a Bioestatística**. 4ªed., São Paulo: Campus Elsevier, 2008.

WALKER, J.W.; DOYLE, J. A. The bases of Angiosperm phylogeny: Palynology. **Ann. Missouri Bot. Gard**, v. 62, p. 664-723, 1975.

WEBER, A. Gesneriaceae. The families and genera of vascular plants. *In*: K. Kubitzki & J. W. Kadereit (eds.). **Springer Verlag**, v. 7, p.63-158, 2004a.

WEBER, A.; CLARK, J.L.; MOLLER, M. A new formal classification of Gesneriaceae. **Selbyana**, v. 31, n. 2, p. 68-94, 2013.

WEIGEND, M.; T.J. EDWARDS. The palynology of Streptocarpus and the other African and Malagasy Gesneriaceae and its systematical implications. **Bot. Jahrb. Syst**, v.118, p.59-80, 1996.

WERNECK, F.P.; GAMBLE, T.; COLLI, G.R.; RODRIGUES, M.T.; SITES, J.W. Deep diversification and long-term persistence in the south american “dry diagonal”: Integrating continent-wide phylogeography and distribution modeling of geckos. **Evolution (N. Y)**, v. 66, p. 3014-3034, 2012.

WIEHLER, H. A report on the classification of Achimenes, Eucodonia, Gloxinia, Goyazia, and Anetanthus (Gesneriaceae). **Selbyana**, v. 1, p. 374-404, 1976.

WIEHLER, H. A synopsis of the neotropical Gesneriaceae. **Selbyana** – The journal of the Marie Selby Botanical Gardens, v. 6, n. 1-4, p. 1-129, 1983.

WIEHLER, H. Medicinal gesneriads: 122 species of the rain forest plant family Gesneriaceae used medicinally in the Neotropics. **Gesneriana**, v.1, n.1, p. 98-120, 1995.

WILLIAMS, N.H. Pollen structure and the systematics of the neotropical Gesneriaceae. **Selbyana**, v. 2, p. 310-322, 1978.

WINDSOR, D.M.; JOLIVET P. Aspects of the morphology and ecology of two Panamanian ant-plants, *Hoffmannia vesiculifera* (Rubiaceae) and *Besleria formicaria* (Gesneriaceae). **Journal of tropical ecology**, v.12, p. 835-842, 1996.

WOODS, P. **Pollen morphology in Gesneriaceae**. In: 10th International Botanical Congress, 1964.

Xi Ti-Zhen. Pollen morphology of *Opithandra Burtii* (Gesneriaceae). **Bull. Bot. Res**, v. 7, p. 17-26, 1987,

XIFREDA, C.C. Citas nuevas para la flora Argentina II: *Gloxinia gymnostoma* y *G. nematanthodes* (Gesneriaceae). **Darwiniana**, v. 34, p. 383-388, 1996.

YAN ZHI-JIAN, LI ZHEN-YU; WANG FU-HSIUNG. Pollen morphology of tribe Klugieae (Gesneriaceae) in China. **Cathaya**, v.7, p.99-104, 1995.

YAN ZHI-JIAN, LI ZHEN-YU; WANG FU-HSIUNG. Pollen morphology of tribe Trichosporeae (Gesneriaceae) in China and its systematic significance. **Harvard Papers of Botany**, v.10, p.113-120, 1997.

ZAR, J.H. **Biostatistical Analysis**. 3^aed. Upper Saddle River: Prentice Hall, 1996.

ZIMMER, E.A.; ROALSON, E.H.; SKOG, L.E.; BOGGAN, J.K.; IDNURM, A. Phylogenetic relationships in the Gesnerioideae (Gesneriaceae) based on nrDNA ITS and cpDNA *trnL-F* and *trnE-T* spacer region sequences. **American Journal of Botany**, v. 89, p. 296-311, 2002.