

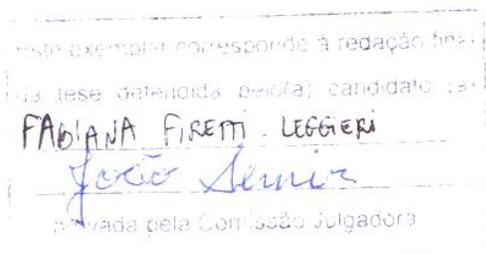
UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE BIOLOGIA



FABIANA FIRETTI-LEGGIERI

“BIOSSISTEMÁTICA DAS ESPÉCIES DO COMPLEXO  
*ANEMOPAEGMA ARVENSE* (VELL.) STELLF. EX DE SOUZA  
(BIGNONIACEAE, BIGNONIEAE): ASPECTOS ANATÔMICOS,  
CITOLÓGICOS, MOLECULARES, MORFOLÓGICOS E  
REPRODUTIVOS”



Tese apresentada ao Instituto de Biologia para obtenção do Título de Doutor em Biologia Vegetal.

Orientador: Prof. Dr. João Semir (Depto. Botânica – UNICAMP)

Co-Orientadora: Profa. Dra. Lúcia G. Lohmann (Depto Botânica – USP)

Campinas, 2009

FICHA CATALOGRÁFICA ELABORADA PELA  
BIBLIOTECA DO INSTITUTO DE BIOLOGIA – UNICAMP

F514b

Firetti-Leggieri, Fabiana

Biosistemática das espécies do complexo  
*Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza  
(Bignoniaceae, Bignonieae): aspectos anatômicos,  
citológicos, moleculares, morfológicos e reprodutivos /  
Fabiana Firetti-Leggieri. – Campinas, SP: [s.n.], 2009.

Orientadores: João Semir, Lúcia Garcez Lohmann.  
Tese (doutorado) – Universidade Estadual de  
Campinas, Instituto de Biologia.

1. Anatomia vegetal. 2. Plantas – Reprodução. 3.  
Biologia - Classificação. 4. Poliploidia. 5. Poliembrião.  
I. Semir, João. II. Lohmann, Lucia Garcez. III.  
Universidade Estadual de Campinas. Instituto de Biologia.  
IV. Título.

**Título em inglês:** Biosystematics of the *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza complex (Bignoniaceae, Bignonieae): anatomical, cytological, morphological, molecular and reproductive aspects.

**Palavras-chave em inglês:** Plant anatomy; Plants - Reproduction; Biology - Classification; Polyploidy; Polyembryony.

**Área de concentração:** Biologia Vegetal.

**Titulação:** Doutora em Biologia Vegetal.

**Banca examinadora:** João Semir, Simone de Pádua Teixeira, Julie Henriette Antoinette Dutilh, Marco Antônio de Assis, Luiza Sumiko Kinoshita.

**Data da defesa:** 17/12/2009.

**Programa de Pós-Graduação:** Biologia Vegetal.

Campinas, 17 de dezembro de 2009

**BANCA EXAMINADORA**

Prof. Dr. João Semir (Orientador)

  
Assinatura

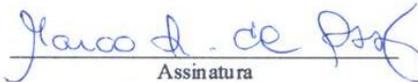
Profa. Dra. Simone de Pádua Teixeira

  
Assinatura

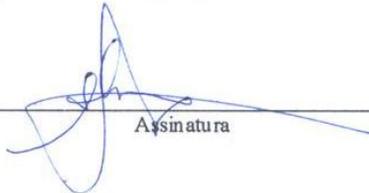
Dra. Julie Henriette Antoinette Dutilh

  
Assinatura

Prof. Dr. Marco Antônio de Assis

  
Assinatura

Profa. Dra. Luiza Sumiko Kinoshita

  
Assinatura

Profa. Dra. Roseli Buzanelli Torres

\_\_\_\_\_  
Assinatura

Profa. Dra. Marília de Moraes Castro

\_\_\_\_\_  
Assinatura

Dr. Itayguara Ribeiro da Costa

\_\_\_\_\_  
Assinatura

## DEDICATÓRIA

**Aos meus pais, Celina e Hélio, por  
todo amor e companheirismo.**

## AGRADECIMENTOS

A execução do presente trabalho só foi possível graças ao auxílio de muitas pessoas as quais quero agradecer.

Em primeiro, agradeço imensamente aos meus pais, Celina e Hélio, pelo apoio incondicional durante toda a minha trajetória. Durante o doutorado, eles foram companheiros constantes, não só financiando muitas vezes o trabalho, como me acompanhando nos trabalhos de campo. Agradeço muito minha mãe por sempre me acompanhar nas viagens de campo e nas demais fases do doutorado. Sem eles, este trabalho certamente não seria realizado.

Agradeço ao meu marido Wilson Leggieri pelo amor, apoio constante e principalmente, pela paciência demonstrada nas várias situações em que o deixei sozinho para trabalhar neste projeto.

Às minhas queridas irmãs, Carla e Valeria, eternas amigas e companheiras. Ao meu cunhado Ronaldo

Aos meus sobrinhos, Matheus e Ana Luisa, que são as alegrias da nossa família. Peço desculpas a eles pela minha ausência durante esses cinco anos.

Ao Prof. João Semir e à Profa. Lúcia G. Lohmann pela orientação e co-orientação, respectivamente, pela amizade e confiança atribuídas a mim e, especialmente, por terem me dado este projeto com as espécies de *Anemopaegma* que foi um verdadeiro presente e uma oportunidade única para o aprendizado de várias teorias e técnicas.

Aos membros da pré-banca Itayguara Ribeiro da Costa, Julie Henriette Antoinette Dutilh, Luiza Sumiko Kinoshita e Marco Antônio de Assis pela paciente leitura e correções que melhoraram muito este trabalho.

Aos membros da banca Itayguara Ribeiro da Costa, Julie Henriette Antoinette Dutilh, Luiza Sumiko Kinoshita, Marco Antônio de Assis, Marília de Moraes Castro, Roseli Buzanelli Torres e Simone de Pádua Teixeira por aceitarem contribuir com o trabalho.

Aos professores do departamento de Botânica da UNICAMP pelos ensinamentos, amizade e, disponibilidade constante (sempre de portas abertas, literalmente, para nos auxiliar). Meu especial agradecimento à Profa. Eliana R. Forni-Martins pela orientação no trabalho de números cromossômicos e pela amizade e paciência constantes; à Profa. Marlies Sazima pela amizade e por ter me dado muitas oportunidades de crescimento profissional; à Profa. Marília de Moraes Castro pela orientação no trabalho de anatomia foliolar, pelos ensinamentos em anatomia vegetal e pela paciência, amizade e dedicação à mim; à Profa. Sandra Carmello-Guerreiro que sempre foi uma “super-mãe” para todos os alunos, sempre pronta a nos ajudar.

Aos funcionários do departamento de Botânica que sempre me socorreram, especialmente à Iara Bressan, João Carlos (nosso querido Joãozinho), à Livia (Livinha), à Maria Lúcia, ao Sebastião Militão (Tião, sempre paciente) e Washington.

Aos funcionários da pós-graduação de Biologia Vegetal (SCPGBV) pela constante ajuda e paciência, especialmente à Maria Roseli, Regiana e Sílvia sempre dispostas a nos auxiliar.

Aos funcionários da Biblioteca do IB sempre disponíveis para nos ajudar.

Agradeço à Profa. Vera Nikasa Solferini por ter me acolhido em seu laboratório, proporcionando a execução de parte do trabalho de biologia molecular.

Agradeço ao Prof. Salatino (USP-SP) por ter me acolhido em seu laboratório e possibilitado a execução do trabalho com marcadores AFLP e à Cláudia Furlan (USP-SP) pelos ensinamentos sobre AFLP e pela paciência e amizade.

Agradeço ao Prof. Leonardo Galetto (Universidad Nacional de Córdoba, Argentina), pela amizade, ensinamentos, acolhida em seu laboratório e sugestões no projeto e no trabalho final.

Agradeço aos coordenadores de cada laboratório que utilizei na UNICAMP como Laboratório de Anatomia Vegetal, Laboratório de Biossistemática e Laboratório de Taxonomia.

Agradeço aos funcionários da Reserva Ecológica do IBGE (RECOR/IBGE, Brasília, DF) que permitiram a execução do trabalho de campo na Reserva e me deram todo o suporte necessário durante os quatro anos de trabalho de campo.

Agradeço aos meus queridos amigos Michela Borges, Ricardo Aureliano e Tatiana Campos que foram e são a minha família aqui em Campinas.

A execução deste trabalho em vários laboratórios me proporcionou conhecer pessoas de várias áreas e, conseqüentemente de fazer grandes amigos que permanecerão na minha vida. Do Laboratório de Anatomia Vegetal, agradeço a amizade e auxílio de: Nazareth, Carol Scatolin Rio, Polyanna, (Poly) Priscila Cortez e Sandra Obando. Do Laboratório de Biossistemática agradeço aos meus queridos amigos: Carla Fracasso, Christiano Verola, Itayguara Ribeiro da Costa, Juan Urdampilleta e Rubem Ávila. Do Laboratório de Taxonomia agradeço aos meus colegas de trabalho e amigos: Ana Paula Fortuna, Ana Paula Gonçalves (Ana Bambu), André O. Simões, Gustavo Shimizu (Gu), Karina Fidanza, Leonardo Meireles (Leozinho), Lidyanne Aona, Marcela (Morangueti), Marcelo Monge (Marcelinho), Marcos Silva, Mayara, Rodrigo, Rosana Singer, Rubens, Rosemary e Tânia.

Agradeço ao CNPq por ter financiado parte do projeto com recursos da taxa de bancada e do Edital Universal e por ter me concedido a bolsa de estudo.

À todas as pessoas e instituições meus sinceros agradecimentos.

Fabiana Firetti-Leggieri

Campinas, 2009

## ÍNDICE GERAL

<b>Resumo</b> .....	1
<b>Abstract</b> .....	3
<b>Introdução Geral</b> .....	5
<b>Objetivos</b> .....	10
<b>Organização geral da tese</b> .....	11
<b>Referências Bibliográficas</b> .....	14

<b>Capítulo 1 – Estudos morfológicos e morfométricos dos caracteres vegetativos e reprodutivos das espécies do complexo <i>Anemopaegma arvense</i> (Vell.) Stellf. ex de Souza (Bignoniaceae, Bignonieae)</b> .....	17
Resumo.....	18
Introdução.....	19
Material e Métodos.....	23
Resultados e Discussão.....	31
Referências Bibliográficas.....	58

<b>Capítulo 2 – Anatomia foliolar comparada das espécies do complexo <i>Anemopaegma arvense</i> (Vell.) Stellf. ex de Souza (Bignoniaceae, Bignonieae)</b> .....	92
Resumo.....	93
Introdução.....	95
Material e Métodos.....	100
Resultados.....	104
Discussão.....	129
Referências Bibliográficas.....	137

<b>Capítulo 3 – Chromosome studies in Bignonieae (Bignoniaceae): the first records of polyploidy in <i>Anemopaegma</i> Mart. ex Meisn.</b> .....	200
Abstract.....	201
Introduction.....	202

Material and Methods.....	204
Results and Discussion.....	206
References.....	208
<b>Capítulo 4 – Delimitação das espécies do complexo <i>Anemopaegma arvense</i> (Vell.) Stellf. ex de Souza (Bignoniaceae, Bignoniaceae) baseada em marcadores AFLP.....</b>	<b>215</b>
Resumo.....	216
Introdução.....	217
Material e Métodos.....	225
Resultados.....	232
Discussão.....	237
Referências Bibliográficas.....	239
Anexo I – Protocolo de Extração de DNA.....	248
Anexo II – Protocolo de AFLP.....	250
Anexo III – Material coletado e depositado em herbário.....	253
<b>Capítulo 5 - Fenologia das espécies do complexo <i>Anemopaegma arvense</i> (Vell.) Stellf. ex de Souza (Bignoniaceae, Bignoniaceae).....</b>	<b>257</b>
Resumo.....	258
Introdução.....	260
Material e Métodos.....	262
Resultados.....	264
Discussão.....	273
Referências Bibliográficas.....	282
<b>Capítulo 6 – Polinização e biologia reprodutiva das espécies do complexo <i>Anemopaegma arvense</i> (Vell.) Stellf. ex de Souza (Bignoniaceae, Bignoniaceae).....</b>	<b>298</b>
Resumo.....	299
Introdução.....	301
Material e Métodos.....	304
Resultados.....	309

Discussão.....	324
Referências Bibliográficas.....	339
<b>Capítulo 7 – Poliploidia e poliembrionia em espécies de <i>Anemopaegma</i> (Bignoniaceae, Bignonieae).....</b>	<b>361</b>
Resumo.....	362
Introdução.....	363
Material e Métodos.....	368
Resultados.....	371
Discussão.....	376
Referências Bibliográficas.....	382
<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS.....</b>	<b>391</b>

## ÍNDICE DE TABELAS

### Capítulo 1. Estudos morfológicos e morfométricos dos caracteres vegetativos e reprodutivos das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza (Bignoniaceae, Bignoniaceae)

**Tabela 1.** Caracteres morfológicos considerados por DE CANDOLLE (1845) e BUREAU & SCHUMANN (1896) para a separação das variedades de *Anemopaegma arvense* (como *A. mirandum*) e, de *A. glaucum*..... 22

**Tabela 2.** Espécimes do complexo *Anemopaegma arvense* coletados em áreas de cerrado das regiões Centro-Oeste, Nordeste e Sudeste do Brasil..... 26

**Tabela 3.** Caracteres vegetativos e reprodutivos utilizados na análise morfométrica das espécies e morfoespécies do complexo *Anemopaegma arvense*. \* = Valor utilizado na análise final corresponde a média dos valores obtidos..... 29

**Tabela 4.** Autovalores obtidos na análise de PCA a partir de dados estandardizados dos caracteres vegetativos. Análise feita com todos os táxons. **1** = todas as espécies, **2**. variedades de *A. arvense* designadas na Flora Brasiliensis. **3**. *A. acutifolium* de acordo com o presente trabalho. **4**. *A. arvense* de acordo com o presente trabalho. **5**. variedades de *A. glaucum* designadas na Flora Brasiliensis. **6**. *A. glaucum* de acordo com o presente trabalho. **7**. Caracteres florais = análise com todas as espécies. **8**. Caracteres do fruto e da semente = análise com todas as espécies..... 58

### Capítulo 2. Anatomia foliolar comparada das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza (Bignoniaceae, Bignoniaceae)

**Tabela 1.** Caracteres utilizados por FIRETTI-LEGGIERI (Capítulo 1) para a delimitação das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*..... 99

**Tabela 2.** Relação de espécimes do complexo *Anemopaegma arvense* e de *A. album*..... 103

**Tabela 3.** Características anatômicas apresentadas pelas espécies e morfoespécies do complexo *Anemopaegma arvense* e por *A. album*, espécie externa ao complexo. Morfoespécies de *A. acutifolium* = **1.** “Típica”; **2.** “Sarmentosa”; **3.** “Touceira”; **4.** “Pilosa”. Morfoespécies de *A. arvense* = **5.** “Típica”; **6.** “Lanceifolia pilosa”; **7.** “Lanceifolia glabra”. Morfoespécies de *A. glaucum* = **8.** “Típica” da BA; **9.** “Típica” do DF; **10.** “Não glauca”; **11.** “Triplinérvea”; **12.** “Pilosa”. + = presente; - = ausente; Anfi = folíolo anfiestomático (estômatos em ambas as faces da epiderme); Col = feixe vascular colateral; Del = paredes anticlinais delgadas; DV = mesofilo dorsiventral; Esp = paredes anticlinais espessas; Hipo = folíolo hipoestomático (estômatos somente na face abaxial); NRev = margem não revoluta; NV = não visto; O = ornamentada (com estriações); Par = paracítico; PCl = parênquima clorofiliano; PD = calota de fibras sobre o xilema pouco desenvolvida; PF = parênquima fundamental; Rev = margem revoluta; Uni = uniestratificada; \* = não visto em ambas as faces; \*\* = presença de estômatos geminado..... 142-143

### **Capítulo 3. Chromosome studies in Bignoniaceae (Bignoniaceae): the first records of polyploidy in *Anemopaegma* Mart. ex Meisn.**

**Table 1.** Species of *Anemopaegma* sampled, followed by collection location and voucher number.....212

**Table 2.** Chromosome numbers and interphase nuclei types in *Anemopaegma* species. The species following the symbol (\*) represent new chromosome counts for the genus. Interphase nuclei : ARET: areticate, S-RET: semi-reticulate and RET reticulate. Habit: S = shrubby, L = Lianoid.....213

### **Capítulo 4. Delimitação das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf ex de Souza (Bignoniaceae, Bignoniaceae) baseada em marcadores AFLP**

**Tabela 1.** Material coletado para o estudo de AFLP. Espécies e morfoespécies, localidade e número de amostras coletadas..... 231

**Tabela 2.** Número total de fragmentos gerados e número de fragmentos polimórficos por par de iniciadores, com a combinação de dois pares de iniciadores e com a combinação de três pares de iniciadores..... 234

**Tabela 3.** Número de fragmentos polimórficos presentes nas amostras de cada espécie/morfotipo (A) e número de fragmentos polimórficos compartilhados por todas as amostras de cada espécie/morfotipo (B) com a análise das três combinações de iniciadores..... 234

**Tabela 4.** Espécies/morfoespécies e códigos utilizados no estudo de AFLP..... 235

## **Capítulo 5. Fenologia das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza (Bignoniaceae, Bignoniaceae)**

**Tabela 1.** Período de floração e de frutificação de *A. acutifolium* DC observados ao longo da distribuição da espécie. Dados gerados a partir de informações de exsicatas (N = 88). Barras cinzas = floração. Barras pretas = frutificação..... 287

**Tabela 2.** Período de floração e de frutificação de *A. arvense* (Vell) Stellf. ex de Souza observado ao longo da distribuição geográfica. Dados gerados a partir de informações de exsicatas (N = 261). Barras cinzas = floração. Barras pretas = frutificação..... 290

**Tabela 3.** Período de floração e de frutificação de *A. glaucum* Mart. ex DC. Dados gerados a partir de informações de exsicatas (N = 141). Barras cinzas = floração. Barras pretas = frutificação..... 293

**Tabela 4.** Período de floração e de frutificação de *A. scabriusculum* Mart. ex DC. Dados gerados a partir de informações de exsicatas (N = 61)..... 296

## Capítulo 6. Polinização e biologia reprodutiva das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza (Bignoniaceae-Bignoniaceae)

- Tabela 1.** Dimensões florais (em mm) das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*. Média e desvio padrão de comprimento e largura..... 312
- Tabela 2.** Produção de néctar das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*..... 314
- Tabela 3.** Visitantes das flores das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*..... 317
- Tabela 4.** Formação de frutos nas espécies do complexo *Anemopaegma arvense* a partir de polinização natural e de polinizações controladas..... 318
- Tabela 5.** Produção de frutos maduros e aborto de frutos nas espécies do complexo *Anemopaegma arvense* localizadas em áreas de Cerrado de Brasília, DF. FrF = número de frutos formados; FrM = número de frutos maduros; SR = sucesso reprodutivo (porcentagem de frutos desenvolvidos e maduros a partir do número total de flores utilizadas por tratamento); AB = porcentagem de frutos abortados a partir do número de frutos formados..... 320
- Tabela 6.** Produção média de sementes por fruto e quantificação de sementes não viáveis (sem embriões) após diferentes tratamentos de polinização (controlada e natural) nas espécies do complexo *Anemopaegma arvense*. NS = número médio de sementes produzidas por fruto; SNV = número médio de sementes não viáveis (sem embrião); % = porcentagem média de sementes não viáveis..... 322
- Tabela 7.** Produção de frutos por polinizações interespecíficas em espécies simpátricas de *Anemopaegma* localizadas em Brasília, DF..... 323
- Tabela 8.** Porcentagem de germinação das sementes das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* provenientes de polinização natural e polinizações controladas..... 324

**Capítulo 7. Poliploidia e poliembrionia em espécies de *Anemopaegma* (Bignoniaceae, Bignonieae)**

**Tabela 1.** Populações de *Anemopaegma* utilizadas no estudo ..... 371

**Tabela 2.** Porcentagem de sementes poliembrionicas e porcentagem de sementes com diferentes quantidades de embriões encontradas em sementes viáveis de *Anemopaegma acutifolium* DC. provenientes de distintos tratamentos de polinização ..... 373

**Tabela 3.** Porcentagem de sementes poliembrionicas e porcentagem de sementes com diferentes quantidades de embriões encontradas em sementes viáveis de *Anemopaegma arvense* provenientes de distintos tratamentos de polinização ..... 373

**Tabela 4.** Porcentagem de sementes poliembrionicas e porcentagem de sementes com diferentes quantidades de embriões encontradas em sementes viáveis de *Anemopaegma glaucum* provenientes de distintos tratamentos de polinização ..... 374

**Tabela 5.** Porcentagem de germinação das sementes das espécies de *Anemopaegma* provenientes de distintos tratamentos de polinização e porcentagem de sementes poliembrionicas. %G = porcentagem de sementes germinadas a partir do total de sementes utilizadas; %P = porcentagem de sementes poliembrionicas calculada a partir das sementes germinadas..... 376

## ÍNDICE DE FIGURAS

### Capítulo 1. Estudos morfológicos e morfométricos dos caracteres vegetativos e reprodutivos das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza (Bignoniaceae, Bignoniaceae)

**Figura 1.** *Anemopaegma acutifolium* DC. **A-B.** *A. acutifolium* “típica”. **A.** Hábito arbustivo. **B.** Flor jovem. **C-D.** *A. acutifolium* “touceira”. **C.** Hábito. **D.** Detalhe de folhas e fruto imaturo. **E-H.** *A. acutifolium* “sarmentosa”. **E.** Frutos imaturos. **F.** Aspecto geral de indivíduo estéril; ramos escandentes. **G.** Aspecto geral de indivíduo florido. **H.** Detalhe de inflorescência racemiforme pauciflora. **I-J.** *A. acutifolium* “pilosa”. **I.** Detalhe de frutos imaturos; pericarpo indumentado. **J.** Aspecto geral de indivíduo florido; indivíduo formando touceira com ramos prostrados. **K-L.** *A. acutifolium*. **K.** Aspecto geral; ramos prostrados. **L.** Detalhe de folhas e frutos imaturos ..... 61

**Figura 2.** *Anemopaegma acutifolium* DC. **A.** Ramo florido; inflorescência terminal. **B-C.** Variação morfológica das folhas **B.** Folha peciolada. **C.** Folha séssil. **D.** Detalhe da venação da face adaxial. **E.** Detalhe da venação da face abaxial. **F-G.** Pericarpo do fruto maduro; variação no formato e no ápice. **H.** Semente alada ..... 62

**Figura 3.** *Anemopaegma acutifolium* “pilosa”. **A.** Ramo florido; inflorescências axilares. **B.** Detalhe da venação da face adaxial. **C.** Detalhe da venação da face abaxial. **D.** Detalhe da inflorescência racemiforme pauciflora. **E.** Fruto maduro. **F.** Semente alada ..... 63

**Figura 4.** **A.** Distribuição geográfica de *Anemopaegma acutifolium* DC. **B.** Distribuição geográfica das morfoespécies de *A. acutifolium* ..... 64

**Figura 5.** *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza. **A.** Aspecto geral de indivíduo florido após passagem de fogo. **B.** Detalhe de ramo florido mostrando inflorescências axilares reduzidas a uma única flor. **C.** Aspecto geral de indivíduo em época de frutificação. **D.** Detalhe de fruto imaturo com pericarpo glabro. **E.** Detalhe de frutos imaturos com pericarpo indumentado. **F-G.** *Anemopaegma arvense* “lanceifolia”. **F.** Aspecto geral de indivíduo em período de floração. **G.** Ramo florido; detalhe de folhas oblanceoladas e inflorescências axilares reduzidas a uma única flor ..... 65

**Figura 6.** *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza. **A.** Ramo florido. **B.** Detalhe da venação na face adaxial. **C.** Detalhe da venação na face abaxial e margem revoluta. **D.** Detalhe das inflorescências axilares reduzidas a uma única flor. **E.** Pericarpo do fruto maduro. **F.** Semente alada ..... 66

**Figura 7.** Distribuição geográfica de *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza ..... 67

**Figura 8.** *Anemopaegma glaucum* Mart. ex DC. **A e C.** Aspecto geral de *A. glaucum* “típica”; hábito arbustivo, caule e folhas glaucas. **B, D e I.** Aspecto geral de indivíduos floridos de *A. glaucum* “não glauca”. **E.** *A. glaucum* “triplinérvea”; aspecto geral de indivíduo florido. **F.** Detalhe de inflorescência de *A. glaucum*; flores abertas e botões em diferentes fases de desenvolvimento. **G.**

Frutos imaturos de *A. glaucum* “não glauca” sem pruiniosidade. **H.** Frutos imaturos de *A. glaucum* “típica”; pericarpo com pruiniosidade. **J.** Fruto maduro de *A. glaucum*; pericarpo lenhoso com pruiniosidade; eixo seminífero e réplum; sementes aladas ..... 68

**Figura 9.** *Anemopaegma glaucum* Mart. ex DC. **A.** Ramo florido; inflorescências axilares e terminal; detalhe de brácteas sésseis e simples (seta). **B.** Face adaxial; nervuras principal e secundárias proeminentes nesta face. **C.** Face abaxial; detalhe da venação. **D.** Fruto maduro estipitado; pericarpo lenhoso com nectários. **E.** Fruto maduro deiscente; detalhe eixo seminífero e réplum fibroso. **F.** Semente alada ..... 69

**Figura 10.** *Anemopaegma glaucum* “triplínérvea pilosa”. **A.** Ramo florido. **B.** Detalhe da venação da face adaxial. **C.** Detalhe da venação da face abaxial. **D.** Detalhe da inflorescência..... 70

**Figura 11.** Distribuição geográfica de *Anemopaegma glaucum* Mart. ex DC ..... 71

**Figura 12.** *Anemopaegma scabriusculum* Mart. ex DC. **A.** Aspecto geral da planta. **B.** Inflorescências axilares; flores em estágio de botão. **C.** Flores abertas. **D.** Frutos imaturos; pericarpo liso e glabro. **E.** Frutos maduros dispersando sementes aladas ..... 72

**Figura 13.** *Anemopaegma scabriusculum* Mart. ex DC. **A.** Ramo florido; inflorescências axilares. **B.** Face adaxial; detalhe da venação e pontuações. **C.** Face abaxial; detalhe da venação. **D.** Inflorescência; detalhe brácteas pecioladas e 3-laminadas (seta). **E.** Fruto maduro; pericarpo abaulado na região mediana. **F.** Semente alada ..... 73

**Figura 14.** Mapa de distribuição de *Anemopaegma scabriusculum*.Mart. ex DC ..... 74

**Figura 15.** Dendrograma gerado a partir de caracteres foliares das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*. Análise de agrupamento UPGMA com coeficiente Distância Euclidiana Simples utilizando dados standardizados. Correlação cofenética = 0,7384. **A** = *A. acutifolium* “típica”. **B.** *A. acutifolium* “sarmentosa”. **C.** *A. acutifolium* “touceira”. **D.** *A. arvense* “típica”. **E.** *A. arvense* “lanceifolia”. **F.** *A. glaucum* “não glauca”. **G.** *A. glaucum* “típica”. **H.** *A. glaucum* “triplínérvea glabra”. **J.** *A. glaucum* “triplínérvea pilosa”. **K.** *A. glaucum* “pubescente”. **L.** *A. acutifolium* “pilosa”. **M.** *A. scabriusculum* ..... 75

**Figura 16.** Análise de ordenação PCA. Biplot. Caracteres foliares das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*. Dados standardizados. **16A.** Eixos 1 e 2. **16B.** Eixos 1 e 3. Símbolos das morfoespécies: **A** = *A. acutifolium* “típica”. **B.** *A. acutifolium* “sarmentosa”. **C.** *A. acutifolium* “touceira”. **D.** *A. arvense* “típica”. **E.** *A. arvense* “lanceifolia”. **F.** *A. glaucum* “não glauca”. **G.** *A. glaucum* “típica”. **H.** *A. glaucum* “triplínérvea glabra”. **J.** *A. glaucum* “triplínérvea pilosa”. **K.** *A. glaucum* “pubescente”. **L.** *A. acutifolium* “pilosa”. **M.** *A. scabriusculum*. **G1** = Grupo *A. arvense*. **G2** = Grupo *A. glaucum* ..... 76

**Figura 17.** Dendrograma gerado a partir de caracteres foliares de morfoespécies identificadas por outros pesquisadores como *Anemopaegma arvense* e separadas, neste trabalho, em *A. acutifolium* e *A. arvense*. Análise de agrupamento UPGMA com Distância Euclidiana Simples. Dados standardizados. Correlação cofenética = 0,7173. **A** = *A. acutifolium* “típica”. **C.** *A. acutifolium* “touceira”. **D.** *A. arvense* “típica”. **E.** *A. arvense* “lanceifolia”. **L.** *A. acutifolium* “pilosa” ..... 77

**Figura 18.** Análise de ordenação PCA. Biplot. Caracteres foliares das morfoespécies identificadas por outros pesquisadores como *Anemopaegma arvense* e separadas, neste trabalho, em *A. acutifolium* e *A. arvense*. Dados standardizados. **18A.** Eixos 1 e 2. **18B.** Eixos 1 e 3. Símbolos das morfoespécies: **A.** *A. acutifolium* “típica”. **D.** *A. arvense* “típica”. **E.** *A. arvense* “lanceifolia”. **L.** *A. acutifolium* “pilosa” ..... 78

**Figura 19.** Dendrograma gerado a partir de caracteres vegetativos das morfoespécies designadas, neste trabalho, como *Anemopaegma arvense*. Análise de agrupamento UPGMA com coeficiente Distância Euclidiana Simples. Dados standardizados. Correlação cofenética = 0,7612. **D.** *A. arvense* “típica”. **E.** *A. arvense* “lanceifolia” ..... 79

**Figura 20.** Análise de ordenação PCA. Biplot. Caracteres foliares das morfoespécies de *Anemopaegma arvense* designadas, neste estudo, com base nos caracteres morfológicos. Dados standardizados. **20A.** Eixos 1 e 2. **20B.** Eixos 1 e 3. Símbolos das morfoespécies: **D.** *A. arvense* “típica”. **E.** *A. arvense* “lanceifolia”. **G1** = *A. arvense* “típica”. **G2** = *A. arvense* “lanceifolia” ..... 80

**Figura 21.** Dendrograma gerado a partir de caracteres foliares das morfoespécies designadas, neste trabalho, como *Anemopaegma acutifolium*. Análise de agrupamento UPGMA com coeficiente Distância Euclidiana Simples. Dados standardizados. Correlação cofenética = 0,7796. **A.** *A. acutifolium* “típica”. **B.** *A. acutifolium* “sarmentosa”. **C.** *A. acutifolium* “touceira”. **L.** *A. acutifolium* “pilosa” ..... 81

**Figura 22.** Análise de ordenação PCA. Biplot. Caracteres foliares das morfoespécies de *Anemopaegma acutifolium*, designadas neste estudo, com base nos caracteres morfológicos. Dados standardizados. **22A.** Eixos 1 e 2. **22B.** Eixos 1 e 3. Símbolos das morfoespécies: **A** = *A. acutifolium* “típica”. **B.** *A. acutifolium* “sarmentosa”. **C.** *A. acutifolium* “touceira”. **L.** *A. acutifolium* “pilosa” ..... 82

**Figura 23.** Dendrograma gerado a partir de caracteres foliares das morfoespécies identificadas por outros pesquisadores como variedades de *Anemopaegma glaucum* e separadas, neste trabalho, em *A. acutifolium* “sarmentosa” e *A. glaucum*. Análise de agrupamento UPGMA com Distância Euclidiana Simples. Dados standardizados. Correlação cofenética = 0,7980. **B.** *A. acutifolium* “sarmentosa”. **F.** *A. glaucum* “não glauca”. **G.** *A. glaucum* “típica”. **H.** *A. glaucum* “triplínérvea glabra”. **J.** *A. glaucum* “triplínérvea pilosa”. **K.** *A. glaucum* “pubescente” ..... 83

**Figura 24.** Análise de ordenação PCA. Biplot. Caracteres foliares das morfoespécies identificadas por outros pesquisadores como variedades de *Anemopaegma glaucum* e separadas, neste trabalho, em *A. acutifolium* “sarmentosa” e *A. glaucum*. Dados standardizados. **24A.** Eixos 1 e 2. **24B.** Eixos 1 e 3. Símbolos das morfoespécies: **B** = *A. acutifolium* “sarmentosa”. **F** = *A. glaucum* “típica”. **G.** *A. glaucum* “não glauca”. **H** = *A. glaucum* “triplínérvea glauca” **J** = *A. glaucum* “triplínérvea pilosa”. **K** = *A. glaucum* “pubescente”. **G1** = Indivíduos com folíolos elípticos a oblanceolados. **G2** = indivíduos com folíolos oblongos a obovados ..... 84

**Figura 25.** Dendrograma gerado a partir de caracteres vegetativos das morfoespécies de *Anemopaegma glaucum*, designadas neste estudo, com base nos caracteres morfológicos. Análise de agrupamento UPGMA com coeficiente Distância Euclidiana Simples. Dados standardizados.

Correlação cofenética = 0,7414. **F.** *A. glaucum* “não glauca”. **G.** *A. glaucum* “típica”. **H.** *A. glaucum* “triplinérvea glabra”. **J.** *A. glaucum* “triplinérvea pilosa”. **K.** *A. glaucum* “pubescente” ..... 85

**Figura 26.** Dendrograma gerado a partir de caracteres vegetativos das morfoespécies de *Anemopaegma glaucum*, designadas neste estudo, com base nos caracteres morfológicos. Análise de agrupamento UPGMA com coeficiente de Gower. Dados standardizados. Correlação cofenética = 0,7417. **F.** *A. glaucum* “não glauca”. **G.** *A. glaucum* “típica”. **H.** *A. glaucum* “triplinérvea glabra”. **J.** *A. glaucum* “triplinérvea pilosa”. **K.** *A. glaucum* “pubescente” ..... 86

**Figura 27.** Análise de ordenação PCA. Biplot. Caracteres foliares das morfoespécies de *Anemopaegma glaucum* designados, neste estudo, com base nos caracteres morfológicos. Dados standardizados. **27A.** Eixos 1 e 2. **27B.** Eixos 1 e 3. Símbolos das morfoespécies: **F.** *A. glaucum* “típica”. **G.** *A. glaucum* “não glauca”. **H.** *A. glaucum* “triplinérvea glabra”. **J.** *A. glaucum* “triplinérvea pilosa”. **K.** *A. glaucum* “pubescente” ..... 87

**Figura 28.** Dendrograma gerado a partir de caracteres florais das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*. Análise de agrupamento UPGMA com coeficiente Distância Euclidiana Simples utilizando dados standardizados. Correlação cofenética = 0,7081. **B** = *A. acutifolium* “sarmentosa”. **D** = *A. arvense* “típica”. **E** = *A. arvense* “lanceifolia”. **F1** = *A. glaucum* “típica” do DF. **F2** = *A. glaucum* “típica” da BA. **G** = *A. glaucum* “não glauca”. **H** = *A. glaucum* “triplinérvea”. **L** = *A. acutifolium* “pilosa”. **M** = *A. scabriusculum* ..... 88

**Figura 29.** Análise de ordenação PCA. Biplot. Caracteres florais das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*. Dados standardizados. **29A.** Eixos 1 e 2. **29B.** Eixos 1 e 3. Símbolos das morfoespécies: **B.** *A. acutifolium* “sarmentosa”. **D.** *A. arvense* “típica”. **E.** *A. arvense* “lanceifolia”. **F1.** *A. glaucum* “típica” do DF. **F2.** *A. glaucum* “típica” da BA. **G.** *A. glaucum* “não glauca”. **H.** *A. glaucum* “triplinérvea”. **M.** *A. scabriusculum* ..... 89

**Figura 30.** Dendrograma gerado a partir de caracteres do fruto e da semente das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*. Análise de agrupamento UPGMA com coeficiente Distância Euclidiana Simples utilizando dados standardizados. Correlação cofenética = 0,8944. **A.** *A. acutifolium* “típica”. **B.** *A. acutifolium* “sarmentosa”. **C.** *A. acutifolium* “touceira”. **D.** *A. arvense* “típica”. **E.** *A. arvense* “lanceifolia”. **F.** *A. glaucum* “típica”. **G.** *A. glaucum* “não glauca”. **K.** *A. glaucum* “pubescente”. **M.** *A. scabriusculum* .....90

**Figura 31.** Análise de ordenação PCA. Biplot. Caracteres do fruto e da semente das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*. Dados standardizados. **31A.** Eixos 1 e 2. **31B.** Eixos 1 e 3. Símbolos das morfoespécies: **A.** *A. acutifolium* “típica”. **B.** *A. acutifolium* “sarmentosa”. **C.** *A. acutifolium* “touceira”. **D.** *A. arvense* “típica”. **E.** *A. arvense* “lanceifolia”. **F.** *A. glaucum* “típica”. **G.** *A. glaucum* “não glauca”. **K.** *A. glaucum* “pubescente”. **M.** *A. scabriusculum*. **G1** = espécies que possuem frutos e sementes de menores dimensões. **G2** = espécies que possuem frutos e sementes com maiores dimensões ..... 91

**Capítulo 2. Anatomia foliolar comparada das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza (Bignoniaceae, Bignoniaceae)**

**Figuras 1-5.** *Anemopaegma acutifolium* “típica”. **1.** Aspecto geral da planta. **2-5.** Secções transversais da nervura mediana do folíolo terminal adulto. **2.** Aspecto geral. **3.** Sistema vascular. **4.** Face adaxial. **5.** Face abaxial. Barras = 100 µm (2); 20 µm (3); 10 µm (4-5) .....144-145

**Figuras 6-16.** *Anemopaegma acutifolium* “típica”. **6-8.** Vista frontal da epiderme. **6.** Face adaxial. **7-8.** Face abaxial com tricoma glandular (seta) e estômatos paracíticos. **9-16.** Secções transversais da lâmina foliolar. **9.** Aspecto geral da lâmina foliolar dorsiventral. **10.** Células epidérmicas da face adaxial; epiderme uniestratificada. **11.** Estômato da face adaxial; ocorrência rara. **12.** Estômato da face abaxial. **13.** Tricoma glandular da face abaxial. **14.** Células do parênquima paliçádico com cristais prismáticos. **15.** Cristais prismáticos nas células do parênquima paliçádico sob luz polarizada. **16.** Aspecto geral da margem do folíolo. Barras = 50 µm (9); 20 µm (16); 10 µm (6-8; 10-15) ..... 146-147

**Figuras 17-22.** *Anemopaegma acutifolium* “sarmentosa”. **17.** Aspecto geral da planta; ramos próximos ao solo. **18.** Morfologia foliar; folhas trifolioladas com folíolos elípticos. **19-22.** Secções transversais da nervura mediana do folíolo terminal adulto. **19.** Aspecto geral. **20.** Sistema vascular, seta mostrando cordão de floema. **21.** Face adaxial. **22.** Face abaxial. Barras = 100 µm (19); 50 µm (20); 10 µm (21-22) .....148-149

**Figuras 23-33.** *Anemopaegma acutifolium* “sarmentosa”. **23-25.** Vista frontal da epiderme. **23.** Face adaxial; células epidérmicas com paredes anticlinais espessadas. **24-25.** Face abaxial; células epidérmicas com paredes anticlinais espessadas, estômatos paracíticos e cutícula ornamentada. **26-33.** Secções transversais da lâmina do folíolo terminal adulto. **26.** Aspecto geral da lâmina foliolar; mesofilo dorsiventral. **27.** Células epidérmicas da face adaxial. **28.** Ponto de desdobramento da epiderme na face adaxial; epiderme mista. **29.** Estômatos na face abaxial, elevados pelas células subsidiárias. **30.** Tricoma glandular peltado na face abaxial. **31.** Células do parênquima paliçádico com cristais prismáticos. **32.** Cristas prismáticos das células do parênquima paliçádico vistos em luz polarizada. **33.** Margem da lâmina foliolar. Barras = 50 µm (26); 20 µm (33); 10 µm (23-25; 27-32) .....150-151

**Figuras 34-39.** *Anemopaegma acutifolium* “touceira”. **34.** Aspecto geral da planta em fruto. **35.** Ramos com fruto imaturo; folíolos estreitamente oblanceolados. **36-39.** Secções transversais da nervura mediana do folíolo terminal adulto. **36.** Aspecto geral. **37.** Sistema vascular. **38.** Face adaxial. **39.** Face abaxial. Barras = 100 µm (36); 50 µm (37); 20 µm (38-39).....152-153

**Figuras 40-46.** *Anemopaegma acutifolium* “touceira”. **40-42.** Vista geral da epiderme. **40.** Face adaxial; células epidérmicas com paredes anticlinais espessadas. **41-42.** Face abaxial; células epidérmicas e estômatos paracíticos. **43-46.** Secções transversais da lâmina do folíolo terminal adulto. **43.** Aspecto geral; mesofilo dorsiventral. **44.** Células epidérmicas da face adaxial. **45.** Estômatos da face abaxial. **46.** Margem do folíolo. Barras = 50 µm (43), 20 µm (46), 10 µm (40-42; 44-45).....154-155

**Figuras 47-52.** *Anemopaegma acutifolium* “pilosa”. **47.** Aspecto geral da planta. **48.** Planta em flor; detalhe de folíolos lanceolados. **49-52.** Secções transversais da nervura mediana do folíolo terminal adulto. **49.** Aspecto geral. **50.** Sistema vascular. **51.** Face adaxial. **52.** Face abaxial. Barras = 100 µm (49); 50 µm (50); 20 µm (51-52).....156-157

**Figuras 53-60.** *Anemopaegma acutifolium* “pilosa”. **53-55.** Vista frontal da epiderme. **53.** Face adaxial; local de inserção dos tricomas tectores (seta). **54-55.** Face abaxial; locais de inserção dos tricomas tectores e estômatos paracíticos. **56-60.** Secções transversais da lâmina foliolar do folíolo terminal adulto. **56.** Aspecto geral da lâmina foliolar; mesofilo dorsiventral. **57.** Células epidérmicas da face adaxial. **58.** Face abaxial; células epidérmicas e estômato. **59.** Tricoma tector multicelular da face adaxial. **60.** Margem do folíolo. Barras = 50 µm (56), 20 µm (60), 10 µm (53-55, 57-59).....158-159

**Figuras 61-66.** *Anemopaegma arvense* “típica”. **61.** Aspecto geral da planta. **62.** Ramo florido; folhas trifolioladas com folíolos lineares. **63-66.** Secções transversais da nervura mediana do folíolo terminal adulto. **63.** Aspecto geral. **64.** Sistema vascular. **65.** Face adaxial. **66.** Face abaxial. Barras = 100 µm (63); 20 µm (64-66).....160-161

**Figuras 67-75.** *Anemopaegma arvense* “típica”. **67-69.** Vista frontal da epiderme. **67.** Face adaxial; células epidérmicas e locais de inserção dos tricomas tectores (seta). **68-69.** Face abaxial. **68.** Tricomas tectores e estômatos. **69.** Estômatos paracíticos e cutícula ornamentada. **70-75.** Secções transversais da lâmina do folíolo terminal adulto. **70.** Aspecto geral. **71.** Células epidérmicas da face adaxial. **72.** Estômatos na face abaxial. **73.** Feixe vascular de nervura secundária; calota de fibras desenvolvida acima do xilema primário. **74.** Tricoma glandular localizada na face abaxial. **75.** Margem do folíolo. Barras = 50 µm (70); 20 µm (75); 10 µm (67-69; 71-74).....162-163

**Figuras 76-81.** *Anemopaegma arvense* “lanceifolia pilosa”. **76.** Aspecto geral da planta. **77.** Ramo com folhas trifolioladas; folíolos oblanceolados. **78-81.** Secções transversais da nervura mediana do folíolo terminal adulto. **78.** Aspecto geral. **79.** Sistema vascular. **80.** Face adaxial. **81.** Face abaxial. Barras = 100 µm (78); 20 µm (79-81).....164-165

**Figuras 82-90.** *Anemopaegma arvense* “lanceifolia pilosa”. **82-84.** Vista frontal da epiderme. **82.** Face adaxial; células epidérmicas. **83-84.** Face abaxial; estômatos paracíticos, cutícula ornamentada e local de inserção de tricoma tector (seta). **85-90.** Secções transversais da lâmina do folíolo terminal adulto. **85.** Aspecto geral; mesofilo dorsiventral. **86.** Células epidérmicas da face adaxial. **87.** Estômatos geminados da face abaxial. **88.** Feixe vascular da nervura secundária. **89.** Feixe vascular de nervura de menor calibre. **90.** Margem do folíolo. Barras = 50 µm (85); 20 µm (90); 10 µm (82-84; 86-89).....166-167

**Figuras 91-96.** *Anemopaegma arvense* “lanceifolia glabra”. **91.** Aspecto geral da planta em fruto. **92.** Ramo com frutos imaturos; folíolos oblanceolados. **93-96.** Secções transversais da nervura mediana do folíolo terminal adulto. **93.** Aspecto geral. **94.** Sistema vascular. **95.** Face adaxial. **96.** Face abaxial. Barras = 100 µm (93); 20 µm (94-96).....168-169

**Figuras 97-106.** *Anemopaegma arvense* “lanceifolia glabra”. **97-99.** Vista frontal da epiderme. **97.** Face adaxial; células epidérmicas. **98-99.** Face abaxial; células epidérmicas e estômatos paracíticos. **100-106.** Secções transversais da lâmina do folíolo terminal adulto. **100.** Aspecto geral; mesofilo dorsiventral. **101.** Células epidérmicas da face adaxial. **102.** Estômatos na face abaxial. **103.**

Tricoma glandular pateliforme na face abaxial. **104.** Tricoma glandular na face abaxial. **105.** Feixe vascular de nervura lateral; calota de fibras acima do xilema. **106.** Margem do folíolo; fortemente revoluta. Barras = 50  $\mu\text{m}$  (100); 20  $\mu\text{m}$  (105-106); 10  $\mu\text{m}$  (97-99; 101-104).....170-171

**Figuras 107-111.** *Anemopaegma glaucum* “típica” do DF. **107.** Aspecto geral da planta em fruto; folhas e frutos glaucos. **108-111.** Secções transversais da nervura mediana do folíolo terminal adulto. **108.** Aspecto geral. **109.** Sistema vascular. **110.** Face adaxial. **111.** Face abaxial. Barras = 100  $\mu\text{m}$  (108); 20  $\mu\text{m}$  (109); 10  $\mu\text{m}$  (110-111).....172-173

**Figuras 112-120.** *Anemopaegma glaucum* “típica” do DF. **112-114.** Vista frontal da epiderme. **112.** Face adaxial; células epidérmicas. **113-114.** Face abaxial; células epidérmicas e estômatos paracíticos. **115-120.** Secções transversais da lâmina do folíolo terminal adulto. **115.** Aspecto geral; mesofilo dorsiventral. **116.** Células epidérmicas da face adaxial; uniestratificada. **117.** Células epidérmicas da face adaxial uniestratificada e resquícios de bainha do feixe. **118.** Estômato na face abaxial; mesmo nível das células epidérmicas. **119.** Tricoma glandular em depressão na face abaxial. **120.** Margem do folíolo. Barras = 50  $\mu\text{m}$  (115); 20  $\mu\text{m}$  (120); 10  $\mu\text{m}$  (112-114; 116-119).....174-175

**Figuras 121-126.** *Anemopaegma glaucum* “típica” da Bahia. **121.** Aspecto geral da planta. **122.** Folhas trifolioladas, glaucas, folíolos obovados. **123-126.** Secções transversais da nervura mediana do folíolo terminal adulto. **123.** Aspecto geral. **124.** Sistema vascular. **125.** Face adaxial. **126.** Face abaxial. Barras = 100  $\mu\text{m}$  (123); 50  $\mu\text{m}$  (124); 20  $\mu\text{m}$  (125-126).....176-177

**Figuras 127-137.** *Anemopaegma glaucum* “típica” da BA. **127-129.** Vista frontal da epiderme. **127.** Face adaxial; células epidérmicas. **128-129.** Face abaxial; células epidérmicas e estômatos paracíticos. **130-137.** Secções transversais da lâmina do folíolo terminal adulto. **130.** Aspecto geral; mesofilo dorsiventral. **131.** Células epidérmicas da face adaxial. **132.** Face adaxial; desdobramento pontual das células epidérmicas. **133.** Células epidérmicas da face abaxial. **134.** Face abaxial; desdobramento pontual das células epidérmicas. **135.** Estômato na face abaxial; hipoestomático. **136.** Tricoma glandular da face abaxial. **137.** Margem do folíolo; reta a levemente revoluta. Barras = 50  $\mu\text{m}$  (130), 20  $\mu\text{m}$  (137), 10  $\mu\text{m}$  (127-129; 131-136).....178-179

**Figuras 138-143.** *Anemopaegma glaucum* “não glauca”. **138.** Aspecto geral da planta. **139.** Ramo florido; folíolos de largamente oblanceolados a obovados. **140-143.** Secções transversais da nervura mediana do folíolo terminal adulto. **140.** Aspecto geral. **141.** Sistema vascular. **142.** Face adaxial. **143.** Face abaxial. Barras = 100  $\mu\text{m}$  (140); 50  $\mu\text{m}$  (141); 20  $\mu\text{m}$  (142-143).....180-181

**Figuras 144-151.** *Anemopaegma glaucum* “não glauca”. **144-146.** Vista frontal da epiderme. **144.** Face adaxial; células epidérmicas. **145-146.** Face abaxial; células epidérmicas, estômatos paracíticos e cutícula ornamentada. **147-151.** Secções transversais da lâmina do folíolo terminal adulto. **147.** Aspecto geral; mesofilo dorsiventral e feixe de nervura lateral proeminente na face adaxial. **148.** Células epidérmicas da face adaxial. **149.** Estômato na face abaxial. **150.** Tricoma glandular localizado na face abaxial. **151.** Margem do folíolo. Barras = 50  $\mu\text{m}$  (147); 20  $\mu\text{m}$  (151); 10  $\mu\text{m}$  (144-146; 148-150).....182-183

**Figuras 152-157.** *Anemopaegma glaucum* “triplinervea”. **152.** Aspecto geral da planta. **153.** Ramos floridos; detalhe folhas trifolioladas, folíolos oblanceolados e com ápice acuminado. **154-157.**

Secções transversais da nervura mediana do folíolo terminal adulto. **154.** Aspecto geral. **155.** Sistema vascular. **156.** Face adaxial. **157.** Face abaxial. Barras = 100 µm (154); 50 µm (155); 20 µm (156-157).....184-185

**Figuras 158-166.** *Anemopaegma glaucum* “triplínérvea”. **158-160.** Vista frontal da epideme. **158.** Face adaxial; células epidérmicas. **159-160.** Face abaxial; células epidérmicas e estômatos paracíticos. **161-166.** Secções transversais da lâmina do folíolo terminal adulto. **161.** Aspecto geral; mesofilo dorsiventral. **162.** Células epidérmicas da face adaxial. **163.** Células epidérmicas da face abaxial. **164.** Estômatos na face abaxial. **165.** Tricoma glandular na face abaxial. **166.** Margem do folíolo. Barras = 50 µm (161); 20 µm (166); 10 µm (158-160; 162-165).....186-187

**Figuras 167-171.** *Anemopaegma glaucum* “pubescente”. **167.** Aspecto geral da planta. **168-171.** Secções transversais da nervura mediana do folíolo terminal adulto. **168.** Aspecto geral. **169.** Sistema vascular. **170.** Face adaxial. **171.** Face abaxial. Barras = 100 µm (168); 50 µm (169); 20 µm (170-171).....188-189

**Figuras 172-180.** *Anemopaegma glaucum* “pubescente”. **172-174.** Vista frontal da epiderme. **172.** Face adaxial; células epidérmicas e local de inserção do tricoma tector (seta). **173-174.** Face abaxial; células epidérmicas, estômatos e local de inserção do tricoma tector (seta). **175-180.** Secções transversais da lâmina do folíolo terminal adulto. **175.** Aspecto geral; mesofilo dorsiventral. **176.** Células epidérmicas da face adaxial; flanges cuticulares proeminentes. **177.** Tricoma tector multicelular na abaxial. **178.** Células epidérmicas da face abaxial. **179.** Tricoma glandular na face abaxial. **180.** Margem do folíolo. Barras = 50 µm (175); 20 µm (180); 10 µm (172-174; 176-179).....190-191

**Figuras 181-187.** *Anemopaegma scabriusculum*. **181.** Aspecto geral da planta. **182-185.** Secções transversais da nervura mediana do folíolo terminal adulto. **182.** Aspecto geral. **183.** Sistema vascular. **184.** Face adaxial. **185.** Face abaxial. **186.** Face adaxial; cutícula e flanges cuticulares coradas com Sudan IV. **187.** Face abaxial; cutícula e flanges cuticulares coradas com Sudan IV. Barras = 100 µm (182); 50 µm (183) 20 µm (184-187).....192-193

**Figuras 188-195.** *Anemopaegma scabriusculum*. **188-190.** Vista frontal da epiderme. **188.** Face adaxial; células epidérmicas e local de inserção de tricomas (setas). **189-190.** Face abaxial; estômatos paracíticos. **191-195.** Secções transversais da lâmina do folíolo terminal adulto. **191.** Aspecto geral; mesofilo dorsiventral e amplas câmaras subestomáticas dos estômatos agrupados. **192.** Células epidérmicas da face adaxial. **193.** Estômatos e câmaras subestomáticas agrupados. **194.** Feixe vascular de nervura lateral. **195.** Margem do folíolo. Barras = 50 µm (189, 192); 20 µm (193); 10 µm (186-188;190-191).....194-195

**Figuras 196-200.** *Anemopaegma album*. **196.** Aspecto geral da planta com fruto. **197-200.** Secções transversais da nervura mediana do folíolo terminal adulto. **197.** Aspecto geral. **198.** Sistema vascular. **199.** Face adaxial. **200.** Face abaxial. Barras = 100 µm (197); 50 µm (198); 20 µm (199-200).....196-197

**Figuras 201-211.** *Anemopaegma album*. **201-203.** Vista frontal da epiderme. **201.** Face adaxial; células epidérmicas e local de inserção de tricoma (seta). **202-203.** Face abaxial; células epidérmicas, estômatos paracíticos e cutícula ornamentada. **204-211.** Secções transversais da lâmina do folíolo terminal adulto. **204.** Aspecto geral; mesofilo dorsiventral. **205.** Células epidérmicas da

face adaxial. **206.** Estômato da face adaxial. **207.** Estômatos da face abaxial. **208.** Tricoma glandular na face abaxial. **209.** Nervura secundária com extensão de bainha. **210.** Nervuras de menor calibre. **211.** Margem do folíolo. Barras = 50  $\mu\text{m}$  (204); 20  $\mu\text{m}$  (209-211); 10  $\mu\text{m}$  (201-203; 205-208).....198-199

### Capítulo 3. Chromosome studies in Bignoniaceae (Bignoniaceae): the first records of polyploidy in *Anemopaegma* Mart. ex Meisn.

**Figure 1.** Chromosomes and interphase nuclei of *Anemopaegma* species. **A** – *A. acutifolium* (pop1), **B** – *A. acutifolium* (pop2), **C** - *A. arvense*, **D** – *A. glaucum*, **E** – *A. album*, **F** – *A. scabriusculum*, **G** - *Anemopaegma* sp. Bars: 10 $\mu\text{m}$ .....214

### Capítulo 4. Delimitação das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza (Bignoniaceae, Bignoniaceae), baseada em marcadores AFLP

**Figura 1.** Dendrograma de um par de iniciadores (A3) utilizando o coeficiente de similaridade de Jaccard e o método de agrupamento UPGMA.....244

**Figura 2.** Dendrograma de duas combinações de iniciadores (A3-C5) utilizando o coeficiente de similaridade de Jaccard e o método de agrupamento UPMGA.....245

**Figura 3.** Dendrograma das três combinações de iniciadores utilizando o coeficiente de similaridade de Jaccard e o método de agrupamento UPMGA. **A.** Espécimes que ocorrem isoladas em todos os de dendrogramas: SC3 = *A. acutifolium* da Serra do Cipó e dois espécimes da Reserva Ecológica do IBGE-DF, IBGE 140 = *A. glaucum* “típica” e IBGE 22B = *A. arvense* “lanceifolia pilosa”; seta indica espécime de *A. acutifolium* “sarmentoso” separado do conjunto **B** formado por espécimes da mesma morfoespécie. **C** = espécimes do Distrito Federal.....246

**Figura 4.** Análise de componentes principais (PCA) a partir dos dados gerados pela combinação dos três pares de iniciadores. **A.** Componentes 1º e 2º eixo. **B.** Componentes 1º e 3º eixo. **C.** Grupo formado por espécimes do Distrito Federal..... 247

### Capítulo 5. Fenologia das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* (Bignoniaceae, Bignoniaceae)

**Figura 1.** Variação da pluviosidade e da temperatura média ao longo do período de estudo (anos 2005-2006). Dados obtidos da Estação Meteorológica da Reserva Ecológica do IBGE (RECOR/IBGE) localizada em Brasília, DF..... 264

**Figuras 2-7.** Brotamento e floração de indivíduos das espécies *Anemopaegma arvense* e *A. glaucum* em local preservado e após a passagem do fogo. **2.** Dispersão de sementes e brotamento de ramos

novos de indivíduo de *A. glaucum* cerca de um mês após passagem do fogo. **3.** Floração sincrônica dos indivíduos de *A. glaucum* após queimada. **4.** Indivíduo de *A. arvense* em local preservado. **5.** Indivíduo de *A. arvense* em flor após a passagem do fogo. **6.** Indivíduo de *A. glaucum* em local preservado. **7.** Indivíduo de *A. glaucum* em flor após a passagem do fogo.....286

**Figura 8.** Índice de Atividade dos eventos fenológicos de *Anemopaegma acutifolium* DC. ao longo da distribuição geográfica da espécie. Dados obtidos a partir de material herborizado (N = 88)..... 287

**Figura 9.** Índice de atividade da população de *Anemopaegma acutifolium* localizada na Reserva Ecológica do IBGE (RECOR/IBGE), Brasília, DF. Registro do número de indivíduos da população em diferentes fenofases no período de um ano de observação. (N = 32 indivíduos).....288

**Figura 10.** Porcentagem de indivíduos em flor da população de *Anemopaegma acutifolium* localizada na Reserva Ecológica do IBGE (RECOR/IBGE), Brasília, DF e pluviosidade registrada na RECOR/IBGE durante o período de estudo. (N = 32 indivíduos).....288

**Figura 11.** Índice de intensidade de floração da população de *Anemopaegma acutifolium* localizada na Reserva Ecológica do IBGE (RECOR/IBGE), Brasília, DF. Registro do número de botões florais e flores produzidos pela população durante o período de observação. (N = 32 indivíduos).....288

**Figura 12.** Índice de intensidade das fenofases reprodutivas mostrado pelo indivíduo número 10 de *Anemopaegma acutifolium* no período de um ano (ago/2005 a ago/2006).....289

**Figura 13.** Índice de intensidade de floração mostrado pelo indivíduo número 10 de *Anemopaegma acutifolium* no período de agosto a outubro de 2005.....289

**Figura 14.** Índice de Atividade dos eventos fenológicos de *Anemopaegma arvense* (Vell.) Steff. ex de Souza ao longo da distribuição geográfica da espécie. Dados obtidos a partir de material herborizado (N = 261).....290

**Figura 15.** Índice de atividade da população de *Anemopaegma arvense* localizada na Reserva Ecológica do IBGE (RECOR/IBGE), Brasília, DF. Registro do número de indivíduos da população em diferentes fenofases no período de um ano de observação. (N = 13 indivíduos).  
.....291

**Figura 16.** Porcentagem de indivíduos em flor da população de *Anemopaegma arvense* localizada na Reserva Ecológica do IBGE (RECOR/IBGE), Brasília, DF e pluviosidade registrada na RECOR/IBGE durante o período de estudo. (N = 13 indivíduos).....291

**Figura 17.** Índice de intensidade de floração da população de *Anemopaegma arvense* localizada na Reserva Ecológica do IBGE (RECOR/IBGE), Brasília, DF. Registro do número de botões florais e flores produzidos pela população durante o período de observação. (N = 13 indivíduos).....291

<b>Figura 18.</b> Índice de intensidade das fenofases reprodutivas mostrado pelo indivíduo número 24 de <i>Anemopaegma arvense</i> no período de um ano (ago/2005 a ago/2006).....	292
<b>Figura 19.</b> Índice de intensidade de floração mostrado pelo indivíduo número 24 de <i>Anemopaegma arvense</i> no período de agosto a outubro de 2005. ....	292
<b>Figura 20.</b> Índice de Atividade dos eventos fenológicos de <i>Anemopaegma glaucum</i> Mart. ex DC. ao longo da distribuição geográfica da espécie. Dados obtidos a partir de material herborizado (N = 141).....	293
<b>Figura 21.</b> Índice de atividade da população de <i>Anemopaegma glaucum</i> localizada na Reserva Ecológica do IBGE (RECOR/IBGE), Brasília, DF. Registro do número de indivíduos da população em diferentes fenofases no período de um ano de observação. (N = 22 indivíduos).....	294
<b>Figura 22.</b> Porcentagem de indivíduos em flor da população de <i>Anemopaegma glaucum</i> localizada na Reserva Ecológica do IBGE (RECOR/IBGE), Brasília, DF e pluviosidade registrada na RECOR/IBGE durante o período de estudo. (N = 22 indivíduos).....	294
<b>Figura 23.</b> Índice de intensidade de floração da população de <i>Anemopaegma glaucum</i> localizada na Reserva Ecológica do IBGE (RECOR/IBGE), Brasília, DF. Registro do número de botões florais e flores produzidos pela população durante o período de observação. (N = 22 indivíduos).....	294
<b>Figura 24.</b> Índice de intensidade das fenofases reprodutivas mostrado pelo indivíduo número 29 de <i>Anemopaegma glaucum</i> no período de um ano (ago/2005 a ago/2006).....	295
<b>Figura 25.</b> Índice de intensidade de floração mostrado pelo indivíduo número 29 de <i>Anemopaegma glaucum</i> no período de agosto a outubro de 2005.....	295
<b>Figura 26.</b> Índice de Atividade dos eventos fenológicos de <i>Anemopaegma scabriusculum</i> Mart ex DC. ao longo da distribuição geográfica da espécie. Dados a partir de material herborizado (N = 61).....	296
<b>Figura 27.</b> Índice de atividade de floração das populações de <i>Anemopaegma acutifolium</i> , <i>A. arvense</i> e <i>A. glaucum</i> localizadas na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Índice de atividade de floração = número total de indivíduos em flor ou em flor e fruto.....	297
<b>Figura 28.</b> Índice de intensidade de floração das populações de <i>Anemopaegma acutifolium</i> , <i>A. arvense</i> e <i>A. glaucum</i> localizadas na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Índice de intensidade de floração = número total de flores disponibilizadas pelos indivíduos das espécies.....	297

**Capítulo 6. Polinização e sistema reprodutiva das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza (Bignoniaceae, Bignoniaceae)**

**Figuras 1-5.** Morfologia das inflorescências e flores das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*. **1.** *A. arvense*; inflorescências laterais reduzidas a uma única flor. **2.** *A. acutifolium*; inflorescência pauciflora. **3.** *A. glaucum*; inflorescência racemiforme com uma flor aberta e botões. **4-5.** *A. scabriusculum*: **4.** Ramo florido e **5.** Detalhe de flores abrindo.....346

**Figuras 6-10.** Aspectos da morfologia floral das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*. **6.** Cálice; nectários extranupciais do cálice (seta). **7.** Corola; nectários extranupciais da corola (seta). **8.** Elementos reprodutivos; estigma e estilete; estames didínamos. **9.** Estaminódio e região da constrição da corola com tricomas glandulares. **10.** Ovário coberto por tricomas glandulares (lepídoto) e disco nectarífero. Barras = 0,5 cm.....347

**Figuras 11-14.** Dinâmica da secreção de néctar nas espécies de *Anemopaegma arvense*. **19.** *A. acutifolium*. **20.** *A. arvense*. **21.** *A. glaucum*. **22.** *A. scabriusculum*..... 348-349

**Figuras 15-22.** Biologia floral e polinização das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*. **15-17.** Antese floral: sequência de abertura das flores. **18.** *Apis mellifera* polinizando flor de *A. scabriusculum*. **19.** *Trigona spinipes* polinizando flor de *A. acutifolium* e **20.** *Trigona spinipes* saindo da flor após polinização. **21.** *Oxaea flavescens* furando base da corola para obtenção de néctar. **22.** Base do tubo da corola da flor de *A. scabriusculum* danificado por *Trigona spinipes*.....350

**Figuras 23-27.** Fertilização dos óvulos das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* em diferentes intervalos de tempo após a polinização. **23.** Penetração de óvulo de *A. glaucum* após 24h da polinização cruzada. **24.** Penetração de óvulo de *A. glaucum* após 24h da autopolinização. **25.** Penetração de óvulo de *A. arvense* após 48h da autopolinização. **26.** Penetração de óvulos de *A. acutifolium* após 72h da autopolinização. **27.** Penetração dos óvulos de *A. arvense* após 72h da autopolinização. Barras = 100  $\mu\text{m}$  (Figuras 23-24); 50  $\mu\text{m}$  (Figuras 25-27).....351

**Figuras 28-31.** Frutos de *Anemopaegma acutifolium*. **28.** Frutos imaturos com pericarpo piloso. **29.** Frutos imaturos com pericarpo glabro. **30.** Fruto maduro. **A.** Pericarpo. **B.** Eixo seminífero. **C.** Semente viável. **D.** Semente não viável. **31.** Frutos abortados em diferentes estágios de desenvolvimento. Barra = 1 cm.....352

**Figuras 32-36.** Frutos de *Anemopaegma glaucum*. **32.** Frutos em início de desenvolvimento (seta); cerca de 15 dias após a polinização. **33.** Frutos imaturos em diferentes estágios de desenvolvimento. **34.** Fruto imaturo desenvolvido. **35.** Fruto maduro e semente viável. **36.** Frutos abortados em diferentes estágios de desenvolvimento. Barras = 2 cm.....353

**Figuras 37-41.** Frutos de *Anemopaegma scabriusculum*. **37.** Frutos imaturos. **38.** Fruto maduro iniciando deiscência. **39.** Fruto maduro dispersando sementes. **40.** Fruto maduro. **A.** Pericarpo; **B.** Eixo seminífero; **C.** Semente viável; **D.** Semente não viável (sem embrião). **41.** Fruto predado; **A.** Face interna do pericarpo com sinais de predação. **B.** Eixo seminífero com sementes predadas.....354

**Figuras 42-44.** Frequência de frutos abortados pelas espécies do complexo *Anemopaegma arvense* presentes na Reserva Ecológica do IBGE (Brasília-DF). **37.** *A. acutifolium*. **A.** Número de frutos abortados de acordo com o comprimento (N = 66); **B.** Porcentagem de frutos abortados por comprimento. **38.** *A. arvense*. **A.** Número de frutos abortados de acordo com o comprimento (N = 39). **B.** Porcentagem de frutos abortados por comprimento. **39.** *A. glaucum*. **A.** Número de frutos abortados de acordo com o comprimento (N = 50). **B.** Porcentagem de frutos abortados por comprimento.....355

**Figuras 45-47.** Frequência de frutos abortados pelas espécies do complexo *Anemopaegma arvense* presentes na Reserva Ecológica do IBGE (Brasília-DF). **45.** *A. acutifolium*. **A.** Número de frutos abortados de acordo com o comprimento (N = 66); **B.** Porcentagem de frutos abortados por comprimento. **46.** *A. arvense*. **A.** Número de frutos abortados de acordo com o comprimento (N = 39). **B.** Porcentagem de frutos abortados por comprimento. **47.** *A. glaucum*. **A.** Número de frutos abortados de acordo com o comprimento (N = 50). **B.** Porcentagem de frutos abortados por comprimento.....356

**Figuras 48-51.** Aborto de sementes em frutos de *Anemopaegma acutifolium* provenientes de diferentes tipos de polinização. Comparação do número de sementes produzidas e abortadas por fruto analisado. **48.** Frutos de polinização natural. **49.** Frutos de autopolinização. **50.** Frutos de polinização cruzada. **51.** Frutos de hibridação.....357

**Figuras 52-54.** Aborto de sementes em frutos de *Anemopaegma arvense* provenientes de diferentes tipos de polinização. Comparação do número de sementes produzidas e abortadas por fruto analisado. **52.** Frutos de polinização natural. **53.** Frutos de autopolinização. **54.** Frutos de polinização cruzada.....358

**Figuras 55-57.** Aborto de sementes em frutos de *Anemopaegma glaucum* provenientes de diferentes tipos de polinização. Comparação do número de sementes produzidas e abortadas por fruto analisado. **55.** Frutos de polinização natural. **56.** Frutos de autopolinização. **57.** Frutos de polinização cruzada.....359

**Figuras 58-59.** Aborto de sementes em frutos provenientes de polinização natural. **58.** Comparação do número de sementes produzidas e abortadas por fruto de *Anemopaegma scabriusculum* provenientes de polinização natural. **59.** Comparação da porcentagem média de sementes abortadas em frutos de polinização natural produzidos pelas espécies do complexo *Anemopaegma arvense*.....360

## **Capítulo 7. Poliploidia e poliembrionia em espécies de *Anemopaegma* (Bignoniaceae, Bignoniaceae)**

**Figuras 1-4.** Porcentagem de sementes das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* com diferentes quantidades de embriões. Comparação entre os distintos tratamentos de polinização. **1.** *A. acutifolium*. **2.** *A. arvense*. **3.** *A. glaucum*. **4.** *A. scabriusculum* .....387

**Figuras 5-7.** Correlação entre o número de sementes abortadas o número médio de embriões em cada fruto proveniente de polinização natural das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*. **5.** *A. acutifolium*. **6.** *A. arvense*. **7.** *A. glaucum* .....388

**Figuras 8-12.** Morfologia dos embriões de *Anemopaegma glaucum*. **8.** Embrião de semente monoembriônica; embrião típico. **9.** Embrião mais desenvolvido de semente poliembriônica. **10.** Embrião de semente com dois embriões. **11.** Embriões de semente poliembriônica com dois embriões, embriões anômalos; **12.** Embriões de semente poliembriônica com vários embriões; embriões anômalos; Barras = 0,25 cm .....389

**Figuras 13-16.** Plântulas de *Anemopaegma glaucum*. **13.** Semente poliembriônica com uma plântula apresentando raiz e parte aérea após 15 dias de germinação e embriões (setas). **14.** Semente poliembriônica com duas plântulas apresentando os dois primeiros pares de folhas já desenvolvidos. **15.** Plântula com 45 dias proveniente de semente monoembriônica. **16.** Plântulas e um embrião com raiz provenientes de semente poliembriônica .....390

## RESUMO

O complexo *Anemopaegma arvense* é constituído por espécies e variedades de difícil delimitação. As opiniões dos taxonomistas, baseadas em caracteres morfológicos, são controversas em considerá-las uma única espécie altamente polimórfica ou separá-las. Com o intuito de auxiliar na circunscrição de tais táxons, realizou-se um estudo biosistemático que englobou os seguintes assuntos: morfologia e morfometria de caracteres vegetativos e reprodutivos, anatomia da lâmina foliolar, contagem cromossômica, aplicação de marcadores AFLP para a delimitação genética, fenologia, biologia floral e polinização, sistema reprodutivo e hibridação e, poliembrião em espécies do gênero com distintos níveis de ploidia. As morfoespécies do complexo diferem principalmente na morfologia foliar, sendo os táxons de *Anemopaegma acutifolium* caracterizados por folíolos elípticos a estreitamente oblanceolados com razão comprimento/largura do folíolo 3,5 a 18,5, os de *A. arvense* por folíolos lineares a estreitamente oblanceolados (razão 22,2 a 45,5) e, *A. glaucum* por folíolos largamente oblanceolados, oblongos a obovados (razão entre 1,69 e 3,9). A partir de caracteres morfológicos, como crescimento indeterminado dos ramos, exclui-se *A. scabriusculum* do complexo. O estudo morfométrico de caracteres foliares se mostrou útil para a separação das espécies. Já a morfometria de caracteres reprodutivos não foi informativa para a delimitação de tais táxons. Anatomicamente, as espécies e morfoespécies do complexo diferem quanto à disposição dos estômatos, tipo de epiderme, constituição do sistema vascular da nervura mediana e composição da bainha dos feixes vasculares das nervuras laterais. Dentre as morfoespécies de *A. acutifolium*, *A. acutifolium* “típica” difere das demais por possuir folíolos anfiestomáticos e *A. acutifolium* “sarmentosa” por apresentar epiderme da face adaxial com desdobramentos pontuais. Já *A. arvense* é caracterizada pela ausência de cordões floemáticos no sistema vascular da nervura mediana e por possuir a margem destituída de parênquima fundamental subepidérmico. As morfoespécies de *A. glaucum*, “típica” da Bahia e “não glauca”, são diferenciadas das demais pela ausência de calotas de fibras sobre o xilema nas nervuras laterais de grande e médio calibre. *A. scabriusculum* difere das outras espécies por possuir extensão de bainha nos feixes vasculares de grande e médio calibre e estômatos agrupados nas regiões internervurais com câmaras subestomáticas unidas. A contagem cromossômica revelou a condição poliplóide das espécies e morfoespécies do complexo, tendo estas  $2n = 80$ . Os marcadores AFLP, apesar de serem bastante utilizados para a separação de táxons em nível infra-específico, não se mostraram eficientes para a delimitação das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*. Quanto ao comportamento fenológico, *A. acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum* apresentaram eventos anuais de brotamento,

floração e frutificação. Já os indivíduos de *A. scabriusculum* têm dois a três eventos de floração e frutificação por ano. As flores das espécies são bastante semelhantes quanto à morfologia e recursos produzidos e são polinizadas pelas mesmas espécies de abelhas. Através de polinizações controladas constatou-se que tais espécies são auto-compatíveis e interférteis, havendo, portanto, alta probabilidade de formação de híbridos em populações simpátricas destas espécies. Notou-se uma relação positiva entre poliploidia e poliembrionia nas espécies do gênero aqui abordadas, tendo as sementes das espécies poliplóides mais de um embrião e as da espécie diplóide, *A. album*, somente um embrião.

## ABSTRACT

*Anemopaegma arvense* complex is constituted by species and varieties of difficult delimiting. Taxonomists opinions based upon morphologic features are controversial as to considering them either an only highly polymorphic species or separating them into different taxa. In order to help with the circumscription of such taxa, a biosystematic study was conducted which included the following subjects: morphology and morphometry of vegetative and reproductive features, leaflet blade anatomy, chromosome counting, AFLP markers application for genetic delimitation, phenology, floral biology and pollination, reproductive system and hybridization and polyembryony of the genus species with different ploidy levels. The morphs of the complex differ mainly in leaf morphology where the *Anemopaegma acutifolium* taxa are characterized by elliptical leaflets with the length / width ratio of leaflet falling within the range 3,5 to 18,5; *A. arvense* characterized by linear leaflets to narrowly oblanceolate (ratio between 22,2 and 45,5) and, *A. glaucum* by leaflets broadly oblanceolate, from oblong to obovate (ratio between 1,69 and 3,9). Taking into account morphologic features such as undetermined growth of the branches, *A. scabriusculum* may be excluded off the complex. The morphometric study of the leaf features has been found useful for species separation. However, the morphometry of reproductive features were not informative enough for the delimitation of such taxa. Anatomically, the species and morphs of the complex differ from one another as to the stomata disposition, epidermis type, vascular system constitution of the midrib and, composition of the vascular bundle of the lateral veins. Among the *A. acutifolium* morphs, *A. acutifolium* "típica" differs from the others for possessing anphistomatic leaflets and, *A. acutifolium* "sarmentosa" for presenting the adaxial face epidermis with punctual unfoldings. As for *A. arvense*, it is characterized by the absence of phloematic strings in the midrib vascular system and parenchyma absent in the marginal region. As for the two morphs, *A. glaucum* "típica" of Bahia and "não glauca", they are differentiated from the others by the absence of fibers caps on the xilem on the lateral ribs of large and medium caliber. *A. scabriusculum* differs from the other species for possessing extension sheath in the vascular bundles of large and medium caliber and, stomata grouped between vascular bundles presenting substomatic cameras linked to one another. The chromosome counting revealed polyploidy condition of the species and the morphs of the complex, those presenting  $2n = 80$ . The AFLP markers, in spite of being quite utilized for taxa separation in an infraspecific level, were not found efficient for the species delimitation of *Anemopaegma arvense* complex. With relation to the phenologic behavior, *A. acutifolium*, *A. arvense* and *A. glaucum* presented annual events of sprouting, blooming and fructification. However, *A. scabriusculum*

individuals presented two to three blooming and fructification events a year. The flowers of the species are very similar to one another as to their morphology and to the resources provided by them and are pollinated by the same species of bees. Through controlled pollinations, it could be verified, that such species are self-compatible and inter fertile, bearing, therefore, high probability of hybrid formation in sympatric populations of those species. A positive relationship between polyploidy and polyembryony in the species of the genus studied here was observed, as well as the fact that more than one embryo were found for polyploidy species seeds whereas for diploid species, *A. album*, only one embryo has been registered.

# **INTRODUÇÃO GERAL**

## INTRODUÇÃO GERAL

*Anemopaegma* Mart. ex Meisn, um dos maiores gêneros da tribo Bignonieae (Bignoniaceae), é composto por 45 espécies descritas na América tropical e, distribuídas em florestas úmidas, secas e savanas desde o México até o nordeste da Argentina (FISCHER *et al.* 2004, LOHMANN 2006, no prelo). É fortemente sustentado como monofilético e tem *Anemopaegma mirandum* (Cham.) Mart. ex DC., hoje denominada *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza, como espécie tipo. São lianas ou arbustos, com caule cilíndrico, glabro a densamente piloso, sem campos glandulares interpeciolares, folhas bi a penta-folioladas, mais comumente tri-folioladas, folíolo terminal transformado ou não em gavinha, sendo esta simples ou trifida. As inflorescências são racemosas, axilares ou terminais, as flores possuem corola infundibuliforme, creme-amarelada, muitas vezes lepidota e com nectários na porção mediano-apical do tubo e nos lobos, cálice persistente até a maturação do fruto, com nectários na porção superior e ovário e fruto estipitados, sendo esta última característica considerada uma apomorfia do gênero (LOHMANN 2006, no prelo). O fruto é uma cápsula elíptica com valvas lenhosas paralelas ao septo, geralmente achatadas e com réplum fibroso. As sementes, circulares a elípticas, são glabras, com alas membranáceas que circundam completamente o embrião (SANDWITH & HUNT 1974, LOHMANN & PIRANI 2003, FISCHER *et al.* 2004, LOHMANN 2006, no prelo).

Apesar de ser bem estabelecido como gênero, as espécies que o compõe apresentam delimitação controversa, sendo considerado por GENTRY (1973a) um dos gêneros mais controversos taxonomicamente. Segundo o autor, há evidências morfológicas de que algumas espécies de *Anemopaegma* tiveram origem por hibridação e introgressão.

Segundo ARNOLD (1997), a hibridação natural envolve o cruzamento bem sucedido entre indivíduos de populações ou grupos de populações que são distinguíveis com base em um ou mais caracteres herdáveis. A hibridação natural parece ser comum em muitos grupos de angiospermas

(GRANT 1971, ARNOLD 1997, ACETO *et al.* 1999, ALARCÓN & CAMPBELL 2000, AINOUCHE *et al.* 2003, RIESEBERG *et al.* 2007) e em todas as floras bem estudadas (ABBOTT *et al.* 2003). De acordo com os vários estudos, este parece ser um processo frequente entre táxons simpátricos de grupos de plantas e animais onde as condições ambientais são permissíveis (GRANT 1971). De acordo com ANDERSON (1949) e GRANT (1971), a ocorrência deste fenômeno está intimamente relacionada à disponibilidade de ambientes que permitem o estabelecimento dos híbridos e da sua progênie. A hibridação é mais frequente após perturbações que criam novos ambientes e rompem os limites ecológicos. Essas condições podem resultar de processos naturais, no entanto, é mais comumente resultado da atividade humana que inclui desmatamento, queimadas periódicas e uso da terra para a agricultura (ANDERSON 1949, GRANT 1971, TSUKAYA *et al.* 2003, TOVAR-SANCHEZ & OYAMA 2004, WEEKS & SIMPSON 2004). Apesar da aparente ocorrência generalizada de eventos de hibridação nas angiospermas, RIESEBERG (1997) destaca que a formação de híbridos naturais parece estar limitada a algumas famílias e gêneros. De acordo com sua revisão sobre o tema (RIESEBERG 1997), a presença de híbridos foi registrada somente em 16% a 34% das famílias e 6% a 16% dos gêneros de angiospermas. Desta forma, a hibridação parece não ser tão comum como acreditado, mas parece estar concentrada numa pequena fração de famílias e gêneros.

Em condições normais, onde as características ambientais nas quais as espécies estão adaptadas não foram modificadas, espécies intercompatíveis e interférteis podem ocorrer simpatricamente e ainda se manterem distintas (GRANT 1949). Os processos que dificultam ou impedem o fluxo gênico entre tais espécies são denominados mecanismos de isolamento reprodutivo. Segundo GRANT (1949, 1992, 1993), o cruzamento entre duas espécies simpátricas polinizadas por animais pode ser impedido pelo isolamento floral, isto é, por isolamento mecânico imposto por diferenças florais apresentadas pelas espécies como cor, forma e odor que atraem polinizadores distintos ou, por isolamento etológico onde há uma preferência dos polinizadores para

o forrageamento de um tipo específico de flor. Porém, segundo o autor o isolamento floral muitas vezes é incompleto e, nos casos de falha no impedimento do fluxo gênico, há a formação de progênie híbrida.

Mesmo após a formação da progênie híbrida, que segundo KERNER (1894-1895 *apud* RIESEBERG 1997) é recorrente, o sucesso da hibridação não está garantido, pois depende ainda do estabelecimento desta em local adequado e da capacidade de tais híbridos de se reproduzirem (ALARCÓN & CAMPBELL 2000, ARNOLD *et al.* 2001). A reprodução dos híbridos, principalmente da geração F<sub>1</sub>, pode ser limitada pelo grau de esterilidade destes ou pela pequena quantidade de indivíduos para a realização do cruzamento, já que geralmente o híbrido natural está representado por um ou poucos indivíduos que crescem em meio a grandes populações de uma ou de ambas as espécies parentais (GRANT 1971). As estratégias observadas em indivíduos ou populações híbridas para evitar o desaparecimento da natureza após seu estabelecimento, vão desde propagação vegetativa até o cruzamento com uma ou ambas as espécies parentais. Neste último caso, denominado hibridação introgressiva por ANDERSON (1949), há o cruzamento repetido do híbrido com uma ou ambas as espécies parentais. Segundo GRANT (1971), a hibridação introgressiva representa a força que promove a convergência de caracteres morfológicos e adaptativos de duas espécies ou semiespécies anteriormente separadas. Assim, os sucessivos retrocruzamentos dos híbridos com seus parentais geralmente produzem um complexo híbrido de espécies (JUDD *et al.* 2009). Em tais complexos de espécies, os híbridos dissipam a descontinuidade morfológica anteriormente observada nas espécies parentais, tornando difícil a delimitação taxonômica dos táxons envolvidos.

Em Bignoniaceae, eventos de hibridação foram constatados através de polinizações manuais interespecíficas nas populações simpátricas das espécies de cerrado dos gêneros *Adenocalymma* (SAMPAIO *et al.* 2008) e *Handroanthus* (como *Tabebuia*, BARROS 2001, BITTENCOURT Jr.

2003, BITTENCOURT Jr. & SEMIR 2005). Apesar de tais relatos, nenhum estudo taxonômico foi realizado para a constatação de complexos híbridos entre tais espécies.

Com base nos caracteres morfológicos observados em material herborizado, o complexo *Anemopaegma arvense* foi definido por J. SEMIR e L.G. LOHMANN (com. pess) como sendo composto pelas espécies *Anemopaegma acutifolium* DC., *A. arvense* (Vell) Stellf. ex De Souza, *A. glaucum* Mart. ex DC e *A. scabriusculum* Mart. ex DC. e, pelas variedades descritas para *A. arvense* e *A. glaucum*. A distinção das espécies deste complexo foi investigada por alguns autores que utilizaram especialmente caracteres morfológicos vegetativos. A partir das variações morfológicas, principalmente a morfologia foliar, DE CANDOLLE (1845) dividiu *A. arvense*, como *A. mirandum*, em quatro variedades: *A. mirandum* var. *angustifolium*, *A. mirandum* var. *glabum*, *A. mirandum* var. *latifolium* e, *A. mirandum* var. *pubescens*. Na Flora Brasiliensis, BUREAU & SCHUMANN (1896) mantiveram as variedades criadas por DE CANDOLLE e apresentaram mais duas variedades para *A. arvense*: *A. mirandum* var. *petiolatum* e *A. mirandum* var. *verticillatum* ficando então *A. arvense* (como *A. mirandum*) dividida em *A. mirandum* tipo e mais seis variedades. Na mesma obra, BUREAU & SCHUMANN (1896) descreveram *Anemopaegma glaucum* composta por *A. glaucum* tipo e mais três variedades: *A. glaucum* var. *lanceifolia*, *A. glaucum* var. *triplinervia* e *A. glaucum* var. *pubescens*.

Outros autores, estudando a floras regionais, também consideraram *A. arvense* como sendo constituída por variedades. FERREIRA (1973), seguindo a Flora Brasiliensis, identificou quatro variedades de *A. arvense* para o Distrito Federal. BATISTINI (2006) em seu estudo sobre a diversidade morfológica, química e genética das variedades de *A. arvense* presentes nos cerrados do estado de São Paulo manteve a classificação de DE CANDOLLE (1845) e de BUREAU & SCHUMANN (1896), apesar das diferenças destes caracteres enfatizadas pela autora, entre as variedades. No trabalho mais recente sobre taxonomia de Bignonieae, LOHMANN (no prelo)

realizou uma abordagem em nível específico, não efetuando, portanto, um tratamento taxonômico para tais variedades.

## **OBJETIVO GERAL**

De acordo com o exposto acima, o objetivo principal deste trabalho foi realizar um estudo biosistemático com as espécies do complexo *Anemopaegma arvense*, utilizando diversas abordagens, visando auxiliar na circunscrição das espécies e variedades deste grupo.

### **Objetivos específicos**

Os objetivos específicos deste trabalho foram:

- Definir caracteres morfológicos constantes capazes de distinguir cada espécie do complexo;
- Testar a consistência dos agrupamentos dos *taxa* feitos com base na análise morfológica por meio de análise multivariada, com caracteres quantitativos de elementos vegetativos e reprodutivos.
- Levantar caracteres anatômicos foliolares que pudessem auxiliar na circunscrição das espécies e variedades constituintes de tal complexo.
- Definir o número cromossômico e a morfologia do núcleo interfásico das espécies do complexo e de *A. album*, espécie afim do complexo.
- Delimitar os *taxa* do complexo através de marcadores AFLP.
- Verificar o comportamento fenológico das espécies do complexo, definindo principalmente sobreposição no período da floração como um possível elemento promotor da hibridação.

- Conhecer a biologia floral das espécies do complexo e identificar os visitantes florais, principalmente os polinizadores efetivos.
- Definir o sistema reprodutivo das espécies do complexo e verificar, através de cruzamentos interespecíficos e posterior vigor das sementes, a possibilidade de formação de híbridos entre estas.
- Verificar a existência da relação entre poliploidia e poliembrião em algumas espécies de *Anemopaegma*, incluindo as espécies pertencentes ao complexo.

## **ORGANIZAÇÃO GERAL DA TESE**

O presente trabalho foi dividido em sete capítulos de acordo com as diferentes abordagens em biosistemática. Cada abordagem utilizada teve por objetivo acrescentar elementos que pudessem auxiliar na correta circunscrição das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* e no posicionamento taxonômico dos espécimes descritos anteriormente por outros pesquisadores como variedades de *A. arvense* e *A. glaucum*. Os capítulos que compõem esta tese são os seguintes:

### **Capítulo 1. Estudos morfológicos e morfométricos dos caracteres vegetativos e reprodutivos das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza (Bignoniaceae, Bignonieae)**

Neste capítulo são abordadas as análises morfológicas e morfométricas realizadas com elementos vegetativos e reprodutivos de espécimes herborizados e de espécimes coletados em áreas de cerrado. O primeiro estudo visou encontrar padrões morfológicos que pudessem caracterizar cada espécie. Já o segundo estudo, a análise morfométrica, teve como principal objetivo utilizar caracteres quantitativos para corroborar ou não os grupos formados a partir da análise qualitativa.

## **Capítulo 2. Anatomia foliolar comparada das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza (Bignoniaceae, Bignonieae)**

A anatomia foliolar foi realizada com o intuito de agregar elementos para a separação das espécies. A escolha dos folíolos para o estudo anatômico deveu-se ao fato de estes apresentarem grande variação morfológica e, porque a variação na morfologia foliar foi o principal elemento utilizado por DE CANDOLLE (1845) e por BUREAU & SCHUMANN (1896) para a criação das variedades de *A. arvense* e *A. glaucum*. Neste estudo, foram incluídas 14 morfoespécies, sendo 13 inicialmente pertencentes ao complexo e, *Anemopaegma album* espécie externa ao complexo.

## **Capítulo 3. Chromosome studies in Bignonieae (Bignoniaceae): first records of polyploidy in *Anemopaegma* Mart. ex Meisn.**

Neste estudo foram feitas contagens cromossômicas de células somáticas de ápices radiculares com o objetivo de conhecer o número cromossômico de algumas espécies arbustivas de *Anemopaegma*, já que, até então, só havia registro cromossômico para duas espécies de lianas do gênero.

## **Capítulo 4. Delimitação das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza (Bignoniaceae, Bignonieae) baseada em marcadores AFLP.**

O estudo teve como objetivo delimitar as espécies e morfoespécies do complexo *Anemopaegma arvense* através do uso de marcadores AFLP, uma vez que tais marcadores se mostraram adequados para a diferenciação de espécies em vários grupos de plantas com problemas de delimitação taxonômica.

## **Capítulo 5. Fenologia das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza (Bignoniaceae, Bignoniaceae)**

Os objetivos deste estudo foram: verificar o comportamento fenológico em nível de espécie, população e indivíduo; determinar o período de floração das espécies simpátricas, a fim de caracterizá-lo como elemento promotor ou limitador do fluxo gênico entre os indivíduos das diferentes espécies, e confirmar as informações existentes na literatura sobre a influência do fogo na floração de *A. arvense*.

## **Capítulo 6. Polinização e biologia reprodutiva das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza (Bignoniaceae, Bignoniaceae)**

Neste estudo foram determinados os visitantes florais e os polinizadores efetivos das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* e, concomitantemente, o sistema reprodutivo destas foi avaliado através de polinizações controladas.

## **Capítulo 7. Poliploidia e poliembrionia em espécies do complexo *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza (Bignoniaceae, Bignoniaceae)**

Partindo dos diferentes níveis de ploidia constatados no estudo de números cromossômicos e da relação entre poliploidia e agamospermia relatada frequentemente na literatura, este estudo teve como objetivo verificar a relação entre poliploidia e produção de embriões supranumerários (poliembrionia) em algumas espécies de *Anemopaegma*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbott RJ, James JK, Mulne RI, Gillies ACM. 2003.** Plant introductions, hybridization and gene flow. *Phil. Trans. R. Soc. London B* 358: 1123-1132.
- Aceto S, Cozzolino S, Gaudio L, Nazzaro R, De Luca P. 1999.** Pollination Flow in Hybrid Formation between *Orchis morio* e *Orchis papilionacea* (Orchidaceae) in Two Different Habitas. *International Journal of Plant Science* **160**: 1153-1156.
- Ainouche ML, Baumel A, Salmon A, Yannic G. 2003.** Hybridization, polyploidy and speciation in *Spartina* (Poaceae). *New Phytologist* **161**: 165-172.
- Alarcón R, Campbell DR. 2000.** Absence of Conspecific Pollen Advantage in the Dynamics of an *Ipomopsis* (Polemoniaceae) in Hybrid Zone. *American Journal of Botany* **87**: 819-824.
- Anderson 1949.** *Introgressive Hybridization*. John Wiley, New York.
- Arnold ML. 1997.** *Natural Hybridization and Evolution*. Oxford University Press. New York, Oxford.
- Arnold ML, Kentner EK, Johnston JA, Cornman S, Bouck AC. 2001.** Natural Hybridization and Fitness. *Taxon* **50**: 93-104.
- Barros MG. 2001** Pollination ecology Pollination ecology of *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. & Hook. and *T. ochracea* (Cham.) Standl. (Bignoniaceae) in Central Brazil cerrado vegetation. *Revista Brasileira de Botânica* **24**: 255-261.
- Batistini AP. 2006.** *Diversidade Morfológica, Genética e Química de Populações Naturais de Anemopaegma arvense (Vell.) Steff.* Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista, UNESP, Jaboticabal.
- Bittencourt Jr. NS. 2003.** *Auto-Incompatibilidade de Ação Tardia e Outros Sistemas Reprodutivos em Bignoniaceae.* Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas.
- Bittencourt Jr. & Semir, J. 2005.** Late-acting self-incompatibility and other breeding systems in *Tabebuia* (Bignoniaceae). *International Journal of Plant Science* **166**: 493-506.
- Bureau E, Schumann K. 1896.** Bignoniaceae. In: Martius, CFP, Eichler AG. (eds.) *Flora Brasiliensis*. Vol. 8, part 2, Frid. Fleischer, Lipsiae (Leipzig), 1-451.
- De Candolle AP. 1845.** Bignoniaceae. In: Candolle, A.L.P.P. (ed.). *Prodromus systematis naturalis regni vegetabilis*. Vol. 9, Typis Grapelel, Paris, 187-192.
- Ferreira MB. 1973.** Bignoniaceae do Distrito Federal – I O Gênero *Anemopaegma* Mart. *Oréades* **6**: 28-39.

- Fischer E, Theisen I, Lohmann LG. 2004.** Bignoniaceae. In: Kubitzki, K. (ed.). *The families and genera of vascular plants: VII Flowering plants – Dicotyledons, Lamiales (except Acanthaceae including Aviceniaceae)*. Springer-Verlag, Heidelberg, 9-38.
- Gentry AH. 1973a.** Bignoniaceae. *Flora do Panamá* **60**: 781-977.
- Gentry AH. 1973b.** Generic delimitations of Central American – Bignoniaceae. *Brittonia* **25**: 226-242.
- Grant V. 1949.** Pollination systems as isolating mechanisms in angiosperms. *Evolution* **3**: 82-97.
- Grant V. 1971.** *Plant Speciation*. Columbia University Press. New York and London.
- Grant V. 1992.** Floral isolation between ornithophilous and sphingophilous species of *Ipomopsis* and *Aquigelia*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **89**: 11828-11831.
- Grant V. 1993.** Effects of hybridization and selection on floral isolation. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the USA* **90**: 990-993.
- Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens PF, Donoghue MJ. 2009.** *Sistemática Vegetal: Um Enfoque Filogenético*. ARTMED, Porto Alegre, RS.
- Lohmann LG, Pirani JR. 2003.** Flora de Grão-Mogol, Minas Gerais: Bignoniaceae. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo* **21**: 109-121.
- Lohmann LG. 2006.** Untangling the Phylogeny of Neotropical Lianas (Bignoniaceae-Bignoniaceae). *American Journal of Botany* **93**: 304-318.
- Lohmann LG.** no prelo. A New Generic Classification of Bignoniaceae (Bignoniaceae) Based on Molecular Phylogenetic Data and Morphological Synapomorphies. *Annals of the Missouri Botanical Garden*.
- Rieseberg LH. 1997.** Hybrid origins of plant species. *Annual Review in Ecology and Systematics* **28**: 359-389.
- Rieseberg LH, Kim SC, Randell RA, Whitney KD, Gross BL, Lexer C, Clay K. 2007.** Hybridization and the colonization of novel habitats by annual sunflowers. *Genetica* **129**: 149-165.
- Sampaio DS, Bittencourt Jr. NS, Oliveira PE. 2008.** Reproductive Biology and Hybridization of Two Cerrado *Adenocalymma* Species (Bignoniaceae). XX International Congress on Sexual Plant Reproduction. Brasília, DF.
- Sandwith NY, Hunt DR. 1974.** Bignoniáceas. In: Reitz R. (ed.). *Flora ilustrada catarinense*. Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí.

- Tovar-Sanchez E, Oyama K. 2004.** Natural hybridization and hybrid zones between *Quercus crassifolia* and *Quercus crassipes* (Fagaceae) in Mexico: Morphological and molecular evidence. *American Journal of Botany* **91**: 1352-1363.
- Tsukaya H, Fukuda T, Yokoyama J. 2003.** Hybridization and introgression between *Callicarpa japonica* and *C. mollis* (Verbenaceae) in central Japan, as inferred from nuclear and chloroplast DNA sequences. *Molecular Ecology* **12**: 3003-3011.
- Weeks A, Simpos B. 2004.** Molecular genetic evidence for interspecific hybridization among endemic hispaniolan *Bursera* (Burseraceae). *American Journal of Botany* **9**: 976-984.

# CAPÍTULO 1

**Estudos morfológicos e morfométricos das espécies do  
complexo *Anemopaegma arvense* (Vell.) Steff. ex de Souza  
(Bignoniaceae, Bignonieae)**

## RESUMO

As espécies do gênero *Anemopaegma* são de difícil delimitação. O complexo *Anemopaegma arvense* era inicialmente composto por quatro espécies e pelas variedades criadas, a partir de caracteres morfológicos, para *A. arvense* e *A. glaucum*. O presente trabalho teve como objetivo auxiliar a circunscrição das espécies do complexo através de análise morfológica e morfométrica. A partir de tais resultados, excluiu-se *A. scabriusculum* do complexo por constituírem arbustos de grande porte (até 3 m de altura) com ramos que apresentam crescimento indeterminado. Em contraste, as espécies mantidas no complexo, além de semelhante distribuição geográfica, são subarbustos ou arbustos de pequeno porte (até 0,5 m de altura) com ramos de crescimento determinado, que morrem após o término do período reprodutivo, ficando o indivíduo reduzido ao sistema subterrâneo. Em *A. acutifolium* foram incluídos os táxons com hábito subarbuscivo ou arbustivo, folíolos elípticos, estreitamente oblanceolados ou espatulados com razão comprimento/largura entre 2,2 e 9,86, cartáceos e, inflorescências racemiformes axilares e/ou terminais paucifloras. *A. arvense* foi caracterizada principalmente pelo hábito subarbuscivo, folhas sésseis e coriáceas, lineares com razão comprimento/largura entre 15,87 e 45,5 a estreitamente oblanceoladas com razão comprimento/largura entre 3,57 e 18,73, inflorescências axilares reduzidas a uma única flor. *A. glaucum* foi determinada por folíolos largamente oblanceolados, oblongos ou obovados, cartáceos com razão comprimento/largura entre 1,47 e 6,47 e, inflorescências axilares e/ou terminais. As análises de ordenação (PCA) e de agrupamento (UPGMA) mostraram que os caracteres foliares são os mais informativos para a separação das morfoespécies do complexo. Já os caracteres quantitativos florais, do fruto e da semente não são informativos para a delimitação das espécies, mostrando o estado conservativo dos elementos reprodutivos neste grupo. A partir dos resultados morfológicos e morfométricos, sugere-se a origem híbrida das variedades descritas por autores anteriores, havendo um gradiente nos caracteres morfológicos, sendo *A. arvense* “típica” e *A. glaucum* “típica” os dois extremos deste gradiente. Mas mesmo existindo tal gradiente morfológico, os espécimes podem ser agrupados nas espécies mantidas no complexo, a partir da morfologia foliolar e da inflorescência.

**Palavras-chave:** *Anemopaegma*, Bignoniaceae, Bignoniaceae, complexo de espécies, morfologia, morfometria.

## INTRODUÇÃO

*Anemopaegma* Mart. ex Meisn. é um dos maiores gêneros da tribo Bignonieae, composto por 45 espécies que se encontram distribuídas em florestas úmidas, secas e savanas, desde o México até o nordeste da Argentina (LOHMANN 2006, no prelo). É fortemente sustentado como monofilético e tem *Anemopaegma mirandum* (Cham.) Mart. ex DC., hoje denominada *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza, uma das espécies aqui abordada, como espécie tipo. Possui espécies de hábito lianóide e arbustivo, com caule cilíndrico, glabro a densamente piloso, sem campos glandulares interpeciolares, folhas bi a penta-folioladas, mais comumente tri-folioladas, folíolo terminal transformado ou não em gavinha, sendo esta simples ou trifida. As inflorescências são racemosas, axilares ou terminais, as flores possuem corola infundibuliforme, creme-amarelada, muitas vezes lepidota e com nectários na porção mediano-apical do tubo e nos lobos, cálice persistente até a maturação do fruto, com nectários na porção superior e ovário e fruto estipitados, sendo esta última característica considerada uma sinapomorfia do gênero (LOHMANN 2006, no prelo). O fruto é uma cápsula elíptica com valvas lenhosas paralelas ao septo, geralmente achatadas e com réplum fibroso. As sementes, circulares a elípticas, são glabras, com alas membranáceas que circundam completamente o embrião (SANDWITH & HUNT 1974, LOHMANN & PIRANI 2003, FISCHER *et al.* 2004, LOHMANN 2006, no prelo).

De acordo com GENTRY (1973), *Anemopaegma* constitui um dos gêneros mais complexos taxonomicamente devido à delimitação controversa das espécies que o compõe. Segundo o autor, há evidências morfológicas de que algumas espécies de *Anemopaegma* tiveram origem por hibridação e introgressão.

A hibridação natural é considerada um processo frequente entre espécies e subespécies simpátricas de grupos de plantas e animais onde as condições ambientais são permissíveis (GRANT

1971). De acordo com ANDERSON (1949) e GRANT (1971), a ocorrência deste fenômeno está intimamente relacionada à disponibilidade de ambientes que permitem o estabelecimento dos híbridos e da sua progênie. A hibridação é mais frequente após perturbações que criam novos ambientes e rompem os limites ecológicos. Essas condições podem resultar de processos naturais, no entanto, é mais comumente resultado da atividade humana que inclui desmatamento, fogos periódicos e agricultura (ANDERSON 1949, GRANT 1971, TSUKAYA *et al.* 2003, TOVAR-SANCHEZ & OYAMA 2004, WEEKS & SIMPSON 2004). A hibridação pode ter diversas consequências evolutivas, como aumento na diversidade genética intraespecífica a partir da introdução de genes em outro genótipo, origem e transferência de adaptações genéticas, origem de novos ecótipos ou espécies e reforço ou ruptura das barreiras reprodutivas (RIESEBERG 1997).

Em Bignoniaceae, eventos de hibridação foram constatados através de polinizações manuais interespecíficas nas populações simpátricas das espécies de *Anemopaegma* aqui consideradas (FIRETTI-LEGGIERI Capítulo 6) e, em espécies de cerrado dos gêneros *Adenocalymma* (SAMPAIO *et al.* 2008) e *Handroanthus* (como *Tabebuia*, BARROS 2001, BITTENCOURT Jr. 2003, BITTENCOURT & SEMIR 2005).

O complexo *Anemopaegma arvense* é composto pelas espécies *Anemopaegma acutifolium* DC., *A. arvense* (Vell) Stellf. ex De Souza, *A. glaucum* Mart. ex DC e *A. scabriusculum* Mart. ex DC. e pelas variedades descritas para *A. arvense* e *A. glaucum*. A distinção das espécies deste complexo foi investigada por alguns autores que utilizaram especialmente caracteres morfológicos vegetativos (Tabela 1). A partir das variações morfológicas, principalmente da folha, DE CANDOLLE (1845) dividiu *A. arvense*, como *A. mirandum*, em quatro variedades: *A. mirandum* var. *angustifolium*, *A. mirandum* var. *glabrum*, *A. mirandum* var. *latifolium*, e *A. mirandum* var. *pubescens*. Na Flora Brasiliensis, BUREAU & SCHUMANN (1896) mantiveram as variedades criadas por DE CANDOLLE e apresentaram mais duas variedades para *A. arvense*: *A. mirandum* var. *petiolatum* e *A. mirandum* var. *verticillatum* ficando, então, *A. arvense* (como *A. mirandum*)

dividida em *A. mirandum* tipo e mais seis variedades. Na mesma obra, os autores descreveram *Anemopaegma glaucum* composta por *A. glaucum* tipo e mais três variedades: *A. glaucum* var. *lanceifolia*, *A. glaucum* var. *pubescens* e *A. glaucum* var. *triplinervia*.

Outros autores, estudando a floras regionais, também consideraram *A. arvense* como sendo constituída por variedades. FERREIRA (1973), seguindo a Flora Brasiliensis, identificou quatro variedades de *A. arvense* para o Distrito Federal. BATISTINI (2006), em seu estudo sobre a diversidade morfológica, química e genética das variedades de *A. arvense* presentes nos cerrados do estado de São Paulo manteve a classificação anterior, apesar das diferenças destes caracteres enfatizadas pela autora, entre as variedades. No trabalho mais recente sobre taxonomia de Bignonieae, LOHMANN (no prelo) não realizou uma abordagem infra-específica, continuando, então, as variedades supracitadas sem resolução taxonômica.

O objetivo do presente trabalho foi auxiliar a circunscrição das espécies do complexo *Anemopaema arvense* através de análise morfológica e morfométrica de caracteres vegetativos e reprodutivos. Devido à grande confusão na determinação das espécies a partir de estudos morfológicos, optou-se por utilizar, neste trabalho, métodos numéricos como a análise multivariada, juntamente com as análises morfológicas. Métodos de análise multivariada eliminam em grande parte a subjetividade da análise morfológica e são bastante úteis em estudos de circunscrição de espécies com delimitação duvidosa (DUNCAN & BAUM 1981, VANDERHOEVEN *et al.* 2002, BORBA *et al.* 2002, PEREZ 2005, PINHEIRO 2005).

**Tabela 1.** Caracteres morfológicos considerados por DE CANDOLLE (1845) e BUREAU & SCHUMANN (1896) para a separação das variedades de *Anemopaegma arvense* (como *A. mirandum*) e, de *A. glaucum*.

Espécie/variedade	Ramo	Caracterização do pecíolo	Forma do folíolo	Presença de peciólulo	Indumento do folíolo	Margem
<i>A. mirandum</i> typus	-	séssil	Linear, estreita	-	Ausente	Revoluta
<i>A. mirandum</i> var. <i>angustifolium</i> DC.	-	-	Linear	-	Ausente na face adaxial e presente na face abaxial	Fortemente revoluta
<i>A. mirandum</i> var. <i>glabrum</i> DC.	Glabro	Séssil	Largamente lineares	-	Ausente	Moderadamente e revoluta
<i>A. mirandum</i> var. <i>latifolium</i> DC.	-	-	Largos	-	Ausente na face adaxial e presente face abaxial	Moderadamente e revoluta
<i>A. mirandum</i> var. <i>petiolatum</i> Bur.	Glabro	Longo-peciolas	Angustolanceolados	-	Ausente	Moderadamente e revoluta
<i>A. mirandum</i> var. <i>pubescens</i> DC.	Pubescente	Séssil	Largos, bastante obtusos	-	Presente	Pouco revoluta
<i>A. mirandum</i> var. <i>verticillatum</i> Bur.	-	séssil	Linear, estreitíssima	-	Ausente	Revoluta, reticulada
<i>A. glaucum</i> typus	glabro	Longo-peciolas	Oblongolanceolado ou espatulado	Subséssil ou curtamente peciolulado	Ausente	-
<i>A. glaucum</i> var. <i>lanceifolia</i> Bur. & K. Schum	-	Longo-peciolas	Lanceolado, angusto espatulado	Séssil ou breve peciolulado	Ausente	-
<i>A. glaucum</i> var. <i>tripinervia</i> Bur & K. Schum.	-	Moderadamente peciolas	Largamente oblongo, oblongo-obovado	Terminal longo peciolulado	Ausente	-
<i>A. glaucum</i> var. <i>pubescens</i> Bur. & K. Schum.	-	Longo-peciolas	Oblongo	Terminal longo peciolulado	Presente	-

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Análise morfológica*

O estudo morfológico foi baseado na análise de material coletado em áreas de cerrado das regiões Centro-Oeste, Nordeste e Sudeste do Brasil e, de material de herbários nacionais. As coletas foram realizadas nos estados da Bahia (BA), Goiás (GO), Minas Gerais (MG) e São Paulo (SP) e no Distrito Federal (DF) e o material encontra-se depositado no herbário da Universidade Estadual de Campinas (UEC) (Tabela 2). O material herborizado constou de exsicatas pertencentes aos seguintes herbários brasileiros:

**BHCB** – Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, MG.

**CEN** – Centro Nacional de Recursos Genéticos, Brasília, DF.

**CESJ** – Universidade Federal de Juiz de Fora, Juiz de Fora, MG.

**HEPH** – Jardim Botânico de Brasília, Brasília, DF.

**HRCB** – Herbário Rioclarense, Universidade Estadual Paulista, Rio Claro, SP.

**IBGE** – Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF.

**INPA** – Instituto Nacional de Pesquisas Amazônicas, Manaus, AM.

**SMA-SP** – Instituto Florestal de Assis, Assis, SP.

**SP** – do Instituto de Botânica, Secretaria do Meio Ambiente, São Paulo, SP.

**SPF** – Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.

**UB** – Herbário da Universidade de Brasília, Brasília, DF.

**UEC** – Herbário da Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

**UFMT** – Universidade Federal do Mato Grosso, Cuiabá, MT.

**UFU** – Universidade Federal de Uberlândia, Uberlândia, MG.

**VIC** – Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, MG.

A determinação dos espécimes coletados foi baseada nas descrições e nas fotografias dos tipos fornecidas pela Dra. L.G. Lohmann.

### ***Análise morfométrica***

Antes de iniciar a tomada de medidas dos caracteres, os espécimes foram posicionados nas espécies *Anemopaegma acutifolium*, *A. arvense*, *A. glaucum* e *A. scabriusculum*, de acordo com as características morfológicas e, subdivididas em morfoespécies (exemplo, *A. acutifolium* “sarmentosa”). A criação de tais morfoespécies baseou-se principalmente no hábito e na morfologia foliar.

As análises morfométricas foram realizadas com plantas de 31 populações provenientes de 10 localidades dos estados da Bahia, Goiás, Minas Gerais e São Paulo e do Distrito Federal (Tabela 2). Foram feitas medidas diretas de 10 caracteres vegetativos baseados na folha e 25 caracteres reprodutivos baseados na flor, fruto e semente (Tabela 3). Após a obtenção das medidas diretas ficou evidente que a maior variação entre as espécies e morfoespécies consideradas neste estudo baseava-se principalmente na forma das estruturas, obtendo-se, então, além das medidas diretas, a razão comprimento/largura de órgãos como folha, fruto e semente (Tabela 3).

Os caracteres vegetativos foram mensurados de folhas adultas, completamente desenvolvidas, localizadas do primeiro ao terceiro nó do ramo e que não apresentavam qualquer tipo de deformidade ou sinais de predação. Coletou-se uma folha de cada indivíduo, quando a morfologia foliar não variava no mesmo indivíduo, ou duas folhas por indivíduo quando a morfologia era variável, por exemplo, folhas com e sem pecíolo no mesmo ramo. A medida da largura do órgão foi tomada sempre na região de maior dimensão. A partir de tais caracteres foram realizadas análises, de agrupamento e ordenação, envolvendo: (1) indivíduos de todas as espécies; (2) indivíduos de *A. arvense*, de acordo com identificações de herbário; (3) indivíduos designados, neste estudo, como *A. arvense*; (4) indivíduos designados, neste estudo, como *A. acutifolium*; (5)

indivíduos de *A. glaucum*, de acordo com identificações de herbário; (6) indivíduos designados, neste estudo, como *A. glaucum*.

Os caracteres reprodutivos foram obtidos de flores, frutos e sementes. Tais caracteres não foram considerados para todas as morfoespécies utilizadas na análise morfométrica vegetativa, pois no momento da coleta, os indivíduos de determinadas morfoespécies estavam estéreis. As medidas florais foram tomadas de flores abertas e que apresentavam todos os elementos completamente estendidos. Para as medidas de frutos e sementes foram considerados somente os frutos maduros e que ainda se mantinham fechados. Todas as sementes normais de cada fruto foram medidas e dos valores obtidos foi calculada a média aritmética, que correspondeu ao valor final utilizado na análise. Assim como para as sementes, o valor utilizado na análise final dos verticilos florais com mais de um elemento em cada flor, foi calculada a média a partir dos valores individuais obtidos. As medidas foram obtidas com paquímetro digital Mitutoyo.

As análises de agrupamento e ordenação foram realizadas com o programa FITOPAC 2 (SHEPHERD 2008). Para a primeira análise, foram testados vários métodos de agrupamento com distintos coeficientes de similaridade, sendo finalmente escolhido o método de agrupamento UPGMA com dois coeficientes de similaridade, Distância Euclidiana Simples e Gower. Estes foram escolhidos por apresentarem os maiores valores de correlação cofenética. A correlação cofenética é uma medida de distorção dos agrupamentos em relação à matriz de distâncias original (SNEATH & SOKAL 1973), sendo que valores entre 0,7 e 0,9 indicam boa representação da matriz original.

Na análise de ordenação, realizada com o método PCA (análise de componentes principais), os três primeiros autovalores foram calculados (Tabela 4). Valores elevados nos primeiros eixos são bons indicadores de uma análise, pois revelam que a maior parte da variação foi resumida em poucos componentes sendo representadas graficamente em duas ou três dimensões (JAMES & MCCULLOCH 1990).

**Tabela 2.** Espécimes do complexo *Anemopaegma arvense* coletado em áreas de cerrado das regiões Centro-Oeste, Nordeste e Sudeste do Brasil.

<b>Espécie/morfotipo</b>	<b>Estado/Cidade</b>	<b>Local</b>	<b>Voucher</b>
<i>A. acutifolium</i> “típica”	DF/Brasília	UnB (pop.1)	<i>F. Firetti &amp; C.P.Firetti 133</i> <i>F. Firetti &amp; C.P.Firetti 136</i> <i>F. Firetti &amp; C.P.Firetti 147</i>
	DF/Planaltina	Embrapa-CPAC (pop.2)	<i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti 202</i> <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti 203</i>
	MG	BR-153 (pop.3)	<i>F. Firetti et al. 43</i> <i>F. Firetti et al. 44</i> <i>F. Firetti et al. 45</i> <i>F. Firetti et al. 46</i>
	SP/Itirapina	Graúna (pop.4)	<i>F. Firetti et al. 59</i>
	SP/Mogi Guaçu	Fazenda Campininha (pop.5)	<i>F. Firetti et al. 01</i> <i>F. Firetti et al. 128</i> <i>F. Firetti et al. 161</i> <i>F. Firetti et al. 162</i> <i>F. Firetti et al. 163</i> <i>F. Firetti et al. 164</i>
<i>A. acutifolium</i> “sarmentosa”	DF/Brasília	IBGE (pop.6)	<i>F. Firetti et al. 54</i>
	SP	Rodovia Castello-Branco (pop.7)	<i>F. Firetti et al. 23</i> <i>F. Firetti et al. 24</i> <i>F. Firetti et al. 26</i>
<i>A. acutifolium</i> “touceira”	DF/Brasília	UnB (pop.8)	<i>F. Firetti &amp; C.P.Firetti 72</i> <i>F. Firetti &amp; C.P.Firetti 74</i> <i>F. Firetti &amp; C.P.Firetti 87</i> <i>F. Firetti &amp; C.P.Firetti 88</i> <i>F. Firetti &amp; C.P.Firetti 147</i>
	SP/Itirapina	Estação Ecológica de Itirapina (pop.9)	<i>F. Firetti et al. 60</i> <i>F. Firetti et al. 61</i> <i>F. Firetti et al. 62</i> <i>F. Firetti et al. 63</i> <i>F. Firetti et al. 64</i>
<i>A. acutifolium</i> “pilosa”	DF/Brasília	UnB (pop.10)	<i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti 75</i> <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti 152</i> <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti 153</i> <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti 159</i>
<i>A. arvense</i> “típica”	DF/Brasília	IBGE (pop.11) UnB (pop.12)	<i>F. Firetti et al. 78</i> <i>F. Firetti et al. 79</i> <i>F. Firetti et al. 80</i> <i>F. Firetti et al. 81</i> <i>F. Firetti et al. 82</i> <i>F. Firetti et al. 86</i>
	GO/Alto Paraíso MG	Chapada dos Veadeiros (pop.13)	<i>F. Firetti et al. 33</i> <i>F. Firetti et al. 47</i>

	SP/Mogi Guaçu SP	BR-153 (pop.14) Fazenda Campininha (pop.15) Rodovia Castello Branco (pop.16)	<i>F. Firetti et al.</i> 48 <i>F. Firetti et al.</i> 129 <i>F. Firetti et al.</i> 25
<i>A. arvensis</i> "lanceifolia"	DF/Brasília	BR-001, IBGE (pop.17)  UnB (pop.18)	<i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 49 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 50 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 53  <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 71 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 83 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 84 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 85 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 134 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 135
<i>A. glaucum</i> "típica"	BA/Luís Eduardo Magalhães  DF/Brasília	Estrada de terra entre Luís Eduardo Magalhães/BA e Tagauatimã/TO (pop.19)  IBGE (pop.20)  UnB (pop.21)	<i>F. Firetti et al.</i> 34 <i>F. Firetti et al.</i> 35 <i>F. Firetti et al.</i> 112  <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 57 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 58  <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 76 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 132 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 157 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 158 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 160
<i>A. glaucum</i> "não glauca"	DF/Brasília   DF/Planaltina  MG	IBGE (pop.22)   UnB (pop.23)   Embrapa-CPAC (pop.24)   BR-153 (pop.25)	<i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 140 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 141 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 142 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 143 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 145 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 146  <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 114 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 115 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 116 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 117 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 118 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 119 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 120 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 123 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 131 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 148 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 151  <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 198 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 199 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 200 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 201  <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 68 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 69 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 70

	SP	Rodovia Castelo-Branco (pop.26)	<i>F. Firetti et al. 19</i> <i>F. Firetti et al. 20</i> <i>F. Firetti et al. 21</i> <i>F. Firetti et al. 22</i> <i>F. Firetti et al. 27</i>
A. <i>glaucum</i> “triplinérvia”	DF/Brasília	IBGE (pop.27)	<i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti 130</i> <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti 138</i> <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti 139</i>
A. <i>glaucum</i> “pubescente”	DF/Brasília	IBGE (pop.28)  UnB (pop.29)	<i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti 56</i> <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti 137</i> <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti 144</i>  <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti 73</i> <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti 75</i> <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti 77</i> <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti 121</i> <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti 122</i> <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti 124</i> <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti 154</i> <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti 155</i> <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti 156</i>
A. <i>scabriusculum</i>	BA/Luís Eduardo Magalhães  BA/Mucugê	Estrada entre Luís Eduardo Magalhães/BA e Taguatinga/TO (pop.30)  Estrada entre Mucugê e Abaíra (pop.31)	<i>F. Firetti et al. 96</i> <i>F. Firetti et al. 97</i> <i>F. Firetti et al. 98</i> <i>F. Firetti et al. 99</i> <i>F. Firetti et al. 100</i> <i>F. Firetti et al. 101</i> <i>F. Firetti et al. 102</i> <i>F. Firetti et al. 103</i> <i>F. Firetti et al. 104</i>  <i>F. Firetti et al. 41</i> <i>F. Firetti et al. 42</i> <i>F. Firetti et al. 89</i> <i>F. Firetti et al. 90</i> <i>F. Firetti et al. 91</i> <i>F. Firetti et al. 92</i> <i>F. Firetti et al. 93</i> <i>F. Firetti et al. 94</i> <i>F. Firetti et al. 95</i> <i>F. Firetti et al. 105</i> <i>F. Firetti et al. 106</i> <i>F. Firetti et al. 107</i>

**Tabela 3.** Caracteres vegetativos e reprodutivos utilizados na análise morfométrica das espécies e morfoespécies do complexo *Anemopaegma arvense*. \* = Valor utilizado na análise final corresponde à média dos valores obtidos.

<b>Caráter</b>	<b>Número</b>
<b>FOLHA</b>	
Comprimento do pecíolo	1
<b>1º FOLÍOLO LATERAL</b>	
Comprimento do peciólulo	2
Comprimento da lâmina foliolar	3
Largura da lâmina foliolar	4
Razão comprimento/largura da lâmina foliolar	5
<b>FOLÍOLO MEDIANO</b>	
Comprimento do peciólulo	6
Comprimento da lâmina foliolar	7
Largura da lâmina foliolar	8
Razão comprimento/largura da lâmina foliolar	9
<b>2º FOLÍOLO LATERAL</b>	
Comprimento do peciólulo	10
Comprimento da lâmina foliolar	11
Largura da lâmina foliolar	12
Razão comprimento/largura da lâmina foliolar	13
<b>CÁLICE</b>	
Comprimento	14
Largura no ápice	15
<b>COROLA</b>	
Comprimento da base do tubo	16
Largura da base do tubo	17
Comprimento da parte ventral da porção mais larga do tubo	18
Comprimento da parte dorsal da porção mais larga do tubo	19
Largura do ápice da porção mais larga do tubo	20
Comprimento dos lobos	21

ANDROCEU	
Altura dos estames maiores*	22
Altura dos estames menores*	23
Tamanho das tecas dos estames maiores*	24
Tamanho das tecas dos estames menores*	25
Comprimento dos estaminódios	26
GINECEU	
Comprimento dos lobos do estigma*	27
Largura dos lobos do estigma*	28
Comprimento do estilete	29
Comprimento do ovário	30
Largura do ovário	31
NECTÁRIO	
Comprimento	32
FRUTO	
Comprimento	33
Largura	34
Razão comprimento/largura	35
SEMENTE	
Comprimento*	36
Largura*	37
Razão comprimento/largura	38
Comprimento do embrião*	39
Largura do embrião*	40
Razão comprimento/largura	41

## RESULTADOS E DISCUSSÃO

### *Descrição morfológica das espécies*

#### ***Anemopaegma acutifolium* DC. Prod. 9:188 1845.**

**SUBARBUSTO** ou **ARBUSTO**, pouco a muito ramificado, em touceira, ramos cilíndricos, estriados, glabros a densamente pilosos, não lenticelados, sem campos glandulares interpeciolares. Profilos ausentes ou foliáceos, lanceolados a oblanceolados. **FOLHAS** 3-folioladas, sem gavinhas, decussadas, pecioladas, raro sésstil, pecíolo 0,3-2,45 cm, semicircular com a face dorsal plana e canaliculada, estriado, glabro a densamente indumentado, peciólulos dos folíolos laterais ausentes (folíolos sésseis) ou quando presentes 0,13-0,90 cm, o mediano ausente ou quando presente de 0,28-1,72 cm, folíolos cartáceos, elípticos, estreitamente oblanceolados ou espatulados, região marginal reta a repanda, margem de pouco a muito revoluta, base atenuada nos três folíolos ou base atenuada nos folíolos laterais e curtamente atenuada no folíolo mediano, ápice agudo a obtuso, folíolos laterais 5,0-11,7 x 0,7-3 cm, folíolo mediano 5,7-10,7 x 0,75-3,4 cm, razão comprimento/largura dos folíolos 2,2 a 9,86, tricomas tectores simples, multicelulares e de ápice agudo, ausentes ou distribuídos densamente em ambas as faces, pontuações circulares negras esparsas ou densamente distribuídas na face abaxial, nervura principal em depressão ou impressa na face adaxial e proeminente na face abaxial, nervuras secundárias proeminentes em ambas as faces ou somente na face adaxial. **FLORES** reunidas em inflorescências racemiformes, axilares e/ou terminais, pediceladas, pedicelo 0,3-1,4 cm, brácteas de primeira ordem na base do pedicelo e de segunda ordem na porção mediana do pedicelo, simples, sésseis, cimbfiformes, de base alargada e ápice acuminado, cálice 1,1-1,4 x 0,87-1,21 cm cupular, verde em material fresco, marrom enegrecido em material herborizado, 5-costado, truncado a curtamente lobado, persistente até o fruto maduro,

presença de nectários arredondados localizados no terço superior do cálice, próximo à margem, ao longo das costelas do cálice, de coloração verde-amarronzada em material fresco e marrom enegrecido em material de herbário; corola infundibuliforme, achatada dorso-ventralmente, zigomorfa, tamanho total do tubo 4,2-6,1 x 1,82-2,77 cm, base 0,94-1,74 x 0,45-0,63 cm, com cinco lobos arredondados 0,96-1,35 cm, tubo da corola creme-amarelado e lobos creme, externamente, com base glabra e porção mediano-apical lepidota (com tricomas glandulares), presença de nectários arredondados na porção apical do tubo da corola e que se estendem até os lobos, internamente, a corola é glabra exceto na região de adnação dos estames e estaminódio onde há uma faixa com tricomas glandulares compostos por uma base multicelular não secretora e uma cabeça unicelular secretora de coloração amarela; androceu composto por quatro estames didínamos, maiores 1,98-2,73 cm, menores 1,32-2,15 cm, e um estaminódio filiforme 0,54-8,2 cm, inclusos, adnatos às pétalas, estames e estaminódio glabros, de coloração creme, anteras creme, divaricadas, glabras, tecas 0,41-0,51 cm, grãos de pólen em mônades, amarelos; gineceu formado por estigma bipartido, sensitivo, lobos 0,3-0,56 x 0,19-0,27 cm, de coloração creme, estilete 2,7-3,25 cm, filiforme, glabro, de coloração creme, ovário 0,25-0,4 x 0,17-0,2 cm, súpero, elipsóide, estipitado, bicarpelar, bilocular, de coloração creme-esverdeada, com tricomas glandulares na parede do ovário, 22 a 27 óvulos dispostos em número variado de séries. Disco nectarífero 0,1-0,27 cm, anular, glabro, na base do ovário. **FRUTO** cápsula septífraga, elipsóide a semicircular, estipitada, achatada, valvas 6,3-10,1 x 4,3-6,4 cm, carnosas e de cor verde nos frutos imaturos, lenhosas e de cor castanha nos frutos maduros, lisas exceto pela presença de nectários esparsos e glabras, eixo seminífero de cor palhete, muitas vezes com abertura circular no ápice, réplum fibroso também de cor palhete. **SEMENTES** 3,3-4,3 x 4,3-5,3 cm, de cor palhete, aladas, com alas membranáceas envolvendo completamente o embrião, de coloração amarronzada na região do embrião e palhete nas bordas, margem recortada, embrião 0,8-1,1 x 0,9-1,22 cm, com cotilédones bilobados, cordiforme, de cor creme, sementes muitas vezes poliembriônicas, com embriões de tamanhos variados.

**Comentário:** De acordo com as anotações de A.H. Gentry feitas em exsicatas, *Anemopaegma acutifolium* é considerada um produto da hibridação entre *A. arvense* e *A. glaucum*. O material identificado por A.H. Gentry, L.G. Lohmann e outros pesquisadores apresenta variação principalmente na morfologia foliar; entretanto, os espécimes possuem certas características que podem ser consideradas constantes. Portanto, neste trabalho foram identificados como *A. acutifolium* os espécimes que possuem as seguintes características: (1) crescimento determinado dos ramos, havendo a morte destes após o período reprodutivo, (2) folíolos elípticos, estreitamente oblanceolados ou espatulados, glabros a esparsamente ou densamente pilosos, com razão foliolar de comprimento/largura variando de 2,2 a 9,86; (3) inflorescências racemiformes, paucifloras, axilares ou terminais (Figuras 1-3).

**Fenologia:** De acordo com o estudo fenológico realizado por FIRETTI-LEGGIERI (Capítulo 5), a espécie possui floração ao longo do ano, porém os indivíduos possuem floração anual, ou seja, cada indivíduo floresce uma única vez ao ano. A floração ao longo do ano em nível de população (ou de espécie) ocorre devido ao assincronismo deste evento fenológico entre os indivíduos da mesma população.

**Distribuição e ecologia:** A espécie é encontrada na Bolívia, Brasil e Paraguai. No Brasil, ocorre em áreas de cerrado e campo sujo, geralmente abertas e alteradas das regiões Centro-Oeste, Nordeste e Sudeste do Brasil, abrangendo as seguintes UFs: Bahia, Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso, Minas Gerais, São Paulo e Tocantins (Figura 4).

**Material examinado. BRASIL. BAHIA: Palmeiras, 12°26'S - 41°28'O, 8 Nov 1997 (fr), M.L. Guedes et al. 5466 (ALCB). Piatã, Estrada Piatã-Abaíra, 21 Nov 1996 (fr), L.P. Queiroz et al. 4702**

(HUEFS,SPF). **DISTRITO FEDERAL: Brasília**, QI-11 do Lago Norte, 23 Oct 1985 (fr), *A.E.H. Salles 295* (HEPH). Campus da Universidade de Brasília, 23 Jan 1978 (est), *A.H. Gentry 21440* (UB). Sede futura do IBDF, 21 Sep 1976 (fl), *E.P.Heringer 16255-B* (IBGE). Península Norte, 20 Oct 1982 (fl), *E.P. Heringer 18607* (IBGE,MO,WU). Universidade de Brasília, 2 Aug 2007 (fr), *F.Firetti & C.P.Firetti 72* (UEC). Reserva Ecológica do Guará, 15°48'S – 47°58'W, 28 Dec 1993 (fl), *G.P. Silva 2136* (CEN). Condomínio Mini Chácara, próximo à barragem do Paranoá, 5 Oct 2001 (fr), *G. P. Silva 5512* (CEN). Arredores da Universidade de Brasília, 2 Jul 1971 (fl,fr), *M.B. Ferreira 752* (HEPH). Águas Emendadas, 25 Mai 1972 (fr), *M.B. Ferreira 1168* (HEPH). Universidade de Brasília, Próximo ao lago, 01 Mar 1972 (fl), *M.B. Ferreira 1587* (HEPH). Reserva Ecológica do IBGE, 26 Jun 1990 (fl), *M.L.M. Azevedo 692* (IBGE). APA Gama-Cabeça de Veado, Região Administrativa do Núcleo Bandeirante, Lagoa do Córrego do Cedro, 15°53'46"S – 47°56'36"W, 09 Oct 2002 (fl), *M.L. Fonseca & D. Alvarenga 3634* (IBGE, MO, UB). APA. Gama e Cabeça de Veado, Região Administrativa do Núcleo Bandeirante, Park Way, 15°53'51,8"S – 47°56'39,8"W, 28 Aug 2002 (fl,fr), *R.C. Mendonça & D. Alvarenga 4864* (IBGE,UEC). APA Gama e Cabeça de Veado, FAL-UnB, 15°55'07"S – 47°55'06"W, 1050m altitude, 2 Sep 2002 (fl), *R.C. Mendonça & D. Alvarenga 4930* (IBGE, UB). APA Gama-Cabeça de Veado, Região Administrativa do Núcleo Bandeirante, Park Way, 15°53'51,5"S – 47°57'14"W, 1030 m, 30 Sep 2002, *R.C. Mendonça, E. Cardoso & E.C. Oliveira 5146* (IBGE, UK, UB, ..ST). Campus da Universidade de Brasília, em frente ao IBAMA, 23 Jun 1989 (fl), *V.F. Ferreira 4114* (FEEMA). **Planaltina**, Embrapa-CPAC, 13 Apr 2007 (fl), *F.Firetti & C.P.Firetti 203* (UEC). **MATO GROSSO: Chapada dos Guimarães**, Estrada para a Chapada dos Guimarães, 6 Sep 1996 (fl), *M.Gema s.n.* (UFMT). **Mirante**, 23 Oct 1993 (fl), *M. Macedo et al. 3343* (UB). **Rondonópolis**, Estrada MT-469 de São Lourenço de Fátima à BR-364, 15 Sep 1995 (fl), *A.Potti 7284* (HRCB). **MINAS GERAIS: Belo Horizonte**, Serra do Taquaril, 29 Mar 1933 (fl,fr), *H.L. Mello Barreto 60* (BHCB). Serra do Taquaril, 23 Mar 1933 (fl), *H.L.Mello Barreto 61* (BHCB). Serra do Curral, 13 Dec 1934 (fr), *H.L.Mello Barreto 2040* (BHCB). **Jaboticatubas**, Serra do Cipó, 19°20'S - 43°37'W, 21 Nov 2000 (fl), *L.S. Kinoshita & M.E. Alencar 00/366* (UEC). **Pará de Minas**, Florestal, 10 Dec 1936 (fl), *J.M.S. de Gouvêa s.n.* (BHCB). **Prata**, Rodovia BR-153 KM 133, 19°30'26"S - 48°50'43"W, 20 Sep 2006 (fl), *F.Firetti et al. 43* (UEC). **Riachinho**, 16°25'0" S – 46°25'0" W, 936m altitude, 3 Mar 2001 (fl,fr), *L.H.Soaes e Silva et al. 812* (UB). **Tupaciguara**, 7 Km sul na BR-180, 5 Oct 1967 (fl,fr), *R. Goodland 4067* (UB). **Uberlândia**, Reserva Vegetal do Clube Caça e Pesca Itororó, 26 Oct 1994 (fl), *A.A. Arantes 244* (HRCB). Clube Caça e Pesca Itororó, 20 Sep 1995 (fl), *A.F.O. Mefazzo 04* (HUFU). **SÃO PAULO: Araraquara**, 25 Sep 1964 (fl), *A.S.Grotta & J.C.Gomes s.n.*

(HUEFS,SPF). **Assis**, Rodovia Castello Branco, 22°48'49"S - 49°20'54"W, 9 Feb 2006 (fl), *F.Firetti et al.* 23 (UEC). **Bauru**, Jardim Botânico, 10 Nov 1997 (fr), *M.H.O.Pinheiro* 579 (HRCB). **Corumbataí**, 26 Oct 1994 (fl,fr), *M.A.Assis* 450 (HRCB). **Itirapina**, 17 Sep 1984 (fl), *O.César* 204 (HRCB). 21 Sep 1984 (fl), *O.César* 245 (HRCB). **Leme**, 3 Nov 1990 (fl), *F.Oliveira* 71 (HUEFS, SP). **Mogi-Guaçu**, Martinho Prado, Fazenda Campininha, 22°20'S - 47°15'W, 24 Sep 1980 (fl), *A.Custódio Filho* 345 (SP). Martinho Prado, Estação Experimental do Instituto Florestal, Fazenda Campininha, 10 Oct 1977 (fl), *H.F.Leitão-Filho & K.Yamamoto* 6035 (SP). Estação Experimental do Instituto Florestal, Fazenda Campininha, 20 Oct 1977 (fr), *H.F.Leitão-Filho et al.* 6081 (SP). Martinho Prado, Fazenda Campininha, 22 Sep 1960 (fl), *J.R.Mattos & N.F.Mattos* 8328 (SP). Fazenda Campininha, Trilha SPP1, 23 Nov 2000 (fl), *M.D.Moraes & A.H.Hayashi* 542 (UEC). Fazenda Campininha, 19 Jul 1955 (fr), *M.Kuhlmann* 3454 (SP). Reserva Florestal (Fazenda Campininha), 30 Oct 1957 (fl), *O.Handro* 723 (SP). Martinho Prado, Reserva Biológica da Fazenda Campininha, 15 Sep 1980 (fl,fr), *W.Mantovani* 956 (SP). Martinho Prado, Reserva Biológica da Fazenda Campininha, 17 Oct 1980 (fr), *W.Mantovani* 1237 (SP). Martinho Prado, Reserva Biológica da Fazenda Campininha, 19 Nov 1980 (fl), *W.Mantovani* 1353 (SP). **Penápolis**, jul 1978 (fr), *J.R.Pirani s.n.* (HUEFS,SPF). **Pirassununga**, Cerrado de Emas, 22°02'S - 47°30'W, 1 Oct 1994 (fl), *S.Aragaki et al.* 144 (SP). **São Carlos**, Parque Ecológico de São Carlos, 28 Mar 1994 (fl,fr), *P.H.P.Ruffino* 213 (HRCB). **TOCANTINS, Palmas**, Serra do Taquaruçu, 10°13'27,8"S - 48°10'22,1"W, 11 Sep 2001 (fl), *E.A.Soares et al.* 1593 (UB).

***Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellfeld ex de Souza Tribuna Farm. 13:275 1945**

**SUBARBUSTO**, pouco a muito ramificado, formando touceira, ramos sarmentosos, verde-amarronzados em material herborizado, cilíndricos, estriados, glabros ou densamente pubescentes com tricomas tectores simples, pluricelulares e com ápice agudo, sem campos glandulares interpeciolares. Perfis ausentes. **FOLHAS**, compostas, 3-folioladas, opostas a opostas cruzadas, sésseis, folíolos lineares a oblanceolados, glabros ou pubescentes em ambas as faces, pontuações raras na face adaxial presentes somente próximos à nervura principal e, abundantes na face abaxial, região marginal reta a repanda no terço superior do limbo, com margem fortemente revoluta,

nervura principal em depressão na face adaxial e proeminente na abaxial, nervuras secundárias proeminentes na face adaxial e impressas na abaxial, base atenuada e ápice mucronulado, folíolos laterais 6,48-7,81 x 0,187-0,311 cm, folíolo terminal 6,81-8,5 x 0,218-0,31 cm; folíolos lineares com razão comprimento/largura entre 15,87 e 45,5, folíolos oblanceolados com razão comprimento/largura entre 3,57 e 18,73. **FLORES**, reunidas em inflorescências racemiformes, axilares ou terminais, reduzidas a uma única flor nas inflorescências axilares e com poucas flores na inflorescência terminal, pediceladas, pedicelo 0,13-0,92 cm, com brácteas de primeira ordem na base da flor e de segunda ordem na porção mediana do pedicelo, brácteas simples, cimbiformes, alargadas na base e com ápice agudo, cálice 0,87-1,1 x 0,53-0,82 cm, cupular, truncado a levemente lobado, 5-costado, de coloração verde-amarelada em material fresco e verde-amarronzado em material de herbário, glabros ou densamente pubescentes, persistente até a maturação do fruto, nectários circulares, em número variável, localizados no terço superior próximos à margem e ao longo das costelas do cálice, de coloração marrom escuro em material herborizado; corola infundibuliforme, zigomorfa, achatada dorso-ventralmente, com tubo creme-amarelado, tamanho total do tubo 4,5-6,1 x 1,3-1,9cm, base 1,1-1,4 x 0,32-0,52 cm, 5-lobada, lobos 0,8-1,3 cm, arredondados, externamente, base do tubo da corola glabra, porção mediano-apical lepidota e com nectários circulares, de coloração amarronzada, localizados desde o terço superior do tubo da corola até a porção mediana dos lobos, internamente, a corola é glabra exceto na região de adnação dos estames, onde há uma tricomas glandulares com base multicelular não secretora e cabeça unicelular glandular de coloração amarela; androceu composto por quatro estames didínamos, maiores 2,0-2,4 cm, menores 1,55-1,95 cm, adnatos às pétalas, com filete de cor creme, glabro, anteras creme, tecas 0,34-0,48 cm, glabras, divaricadas, grãos de pólen mônades, de coloração amarela, estaminódio 0,65-0,85 cm, filiforme, de cor creme, glabro, gineceu formado por um estigma bilobado, lobos 0,26-0,37 x 0,15-0,23 cm, sensitivo, de cor creme, estilete 2,6-3,5 cm, filiforme, de cor creme, glabro e ovário 0,24-0,34 x 0,14-0,18 cm, elipsóide, estipitado, de coloração creme-esverdeado,

coberto por tricomas glandulares, bicarpelar, bilocular, número de óvulos entre 14 e 24, séries de óvulos por lóculo em número variado. Nectário 0,1-0,21 cm, anular, na base do ovário. **FRUTO**, cápsula septífraga, castanho ou negro em material herborizado, elíptico a semicircular, estipitado, valvas 4,9-8,9 x 3,3-5,5 cm, verdes e carnosas nos frutos imaturos e, lenhosas e de coloração castanha em frutos maduros, lisas, com nectários circulares esparsos, eixo seminífero de coloração palhete, com abertura circular no ápice e réplum fibroso de cor palhete. **SEMENTES** 2,4-3,95 x 2,8-4,9 cm, alas membranáceas, circundando o embrião completamente, coloração mais escura na região do embrião e mais clara na margem, margem recortada, embrião normal 0,45-1,1 x 0,5-1,17 cm, bilobado, de cor creme, sementes muitas vezes poliembriônicas, com embriões de tamanhos variados.

**Comentário:** Em *Anemopaegma arvense* foram incluídos os espécimes que apresentam as seguintes características: (1) subarbustos com crescimento determinado dos ramos, havendo morte destes após o período reprodutivo, ficando o indivíduo reduzido ao sistema subterrâneo; (2) folíolos lineares, glabros ou densamente pilosos com razão foliolar acima de 15,87 até 45,5 ou estreitamente oblanceolados, densamente pilosos, com região marginal repanda e razão foliolar de 3,57 a 18,73, (2) inflorescências axilares reduzidas a uma única flor, o que a difere de todas as outras espécies do complexo (caráter enfatizado por DE CANDOLLE (1845) na descrição de *A. arvense* como *A. mirandum*). Os espécimes que possuem folíolos oblanceolados provavelmente são produtos da hibridação entre *A. arvense* e *A. acutifolium* “típica”, mas neste estudo os espécimes com esta morfologia foliolar foram determinados como *A. arvense*, pois apresentam as inflorescências axilares compostas por uma única flor, característica morfológica que só ocorre em *A. arvense* e, anatomia foliolar idêntica à de *A. arvense* (Capítulo 2). (Figuras 5-6). De acordo com o trabalho de BATISTINI (2006) com as variedades de *A. arvense* presentes no estado de São Paulo, *A. arvense* “típica” pode ser caracterizada quimicamente por não possuir ácido ursólico.

**Fenologia:** Segundo FIRETTI-LEGGIERI (Capítulo 5), a floração de *Anemopaegma arvense*, em nível de espécie e de população, ocorre o ano todo, porém cada indivíduo floresce uma única vez (floração anual). É considerada uma espécie pirofílica, pois responde positivamente à passagem do fogo, com floração mais intensa.

**Distribuição e ecologia.** A espécie ocorre na Bolívia, no Brasil e Paraguai. No Brasil, é encontrada principalmente em áreas de campo rupestre, campo limpo, campo sujo, cerrado e cerradão das regiões Centro-Oeste e Sudeste que correspondem às seguintes UFs: Distrito Federal, Goiás, Mato Grosso, Mato Grosso do Sul, Minas Gerais, São Paulo e Tocantins (Figura 7). No cerradão, os indivíduos desta espécie ocorrem geralmente na margem e, nas demais fisionomias ocorrem principalmente quando estas sofreram, de forma esporádica ou periódica, algum tipo de alteração. Em áreas recém-queimadas, os indivíduos formam grandes populações, onde florescem profusamente cerca de um mês após a passagem do fogo.

**Material examinado. BRASIL. DISTRITO FEDERAL: Brasília,** Fazenda Água Limpa, 13 Nov 1986 (fl), *A.D.Stevens 07* (UB). Campus da Universidade de Brasília, 1000m altitude, 23 Jan 1978 (fr), *A.H.Gentry 21438* (UB). Campus da Universidade de Brasília, Centro Olímpico, 17 Sep 2006 (fl), *A.T.Morais et al. 18* (UB). Reserva Ecológica do IBGE, 26 Sep 1983 (fl), *B.A.S.Pereira 796* (HEPH). Fazenda Sucupira, Região do vale do Córrego do Riacho Fundo, 15°52'S – 48°01'W, 27 Sep 1999 (fl), *B.M.T.Walter et al. 4384* (CEN). Reserva Ecológica do IBGE, 15°57'04"S – 47°52'08"W, 1100m altitude, 4 Oct 2004 (fl), *C.Lima & D.Alvarenga 084* (IBGE). Campus da Universidade de Brasília, 29 Mai 1965 (fl), *D.Sucro 406* (UB). APA Gama e Cabeça de Veado, Região Administrativa do Núcleo Bandeirante, Park Way, Q.16, Conjunto 1, 15°54'05"S – 47°56'40,7"W, 1020m altitude, 23 Oct 2002 (fl), *E.C.L.Oliveira et al. 67* (IBGE). Jardim Botânico de Brasília, 15°52'S – 47°51'W, 1025m altitude, 13 Oct 1986 (fr), *Equipe do Jardim Botânico de Brasília 779* (IBGE). Lago Norte, 14 Sep 1982 (fl), *E.P.Heringer 7517* (IBGE,UFV,US). Horto do Guará, 2 Sep 1961 (fl), *E.P.Heringer 8635* (UB). Granja do Tamanduá, 6 Oct 1965 (fl),

*E.P.Heringer 10604* (UB). Futura sede do IBDF, lado norte da Universidade de Brasília, 21 Sep 1976 (fl), *E.P.Heringer 16255* (UB). Próximo à Escola Fazendária, 18 Oct 1978 (fl), *E.P.Heringer 17154* (IBGE,K,MO,NY,US). Torre de Microondas 1-Sul, 25 Sep 1980 (fl), *E.P.Heringer 17903* (IBGE). Península Norte, 20 Oct 1982 (fl), *E.P.Heringer 18600* (IBGE, MO). Fazenda Sucupira, Área ao lado da antiga sede do clube da EMBRAPA, 15°52'00"S – 48°00'00"W, 5 Oct 2000 (fl), *E.S.G.Guarino & J.B.Pereira 467* (CEN). 4 Sep 1984, *F.Cavalheiro 28* (HRCB). Universidade de Brasília, 6 Aug 2008 (est), *F.Firetti & C.P.Firetti 180* (UEC). Fazenda Sucupira, Riacho Fundo, 15°53'S – 48°01'O, 18 Oct 2003 (fl), *F.F.O.Pereira et al. 35* (UB). Reserva Ecológica do Guarά, 15°48'S – 47°58'W, 10 Oct 1993 (fr), *G.P.Silva 1984* (CEN,UB). Estação Ecológica do Guarά, 10 Oct 1993 (fl), *G.P.Silva 2013* (CEN). Condomínio Mini Chácara, Cerrado, 15°48'20"S – 47°47'32"O, 5 Oct 2001 (fl,fr), *G.P.Silva 5516* (CEN). Cia Fercal, 19 Sep 1964 (fl), *G.T.Prance & N.T.Silva 59068* (UB). Córrego Cabeça de Veado, 27 Aug 1976 (fl), *J.A.Ratter et al. 3495* (UB). Estação Biológica da Universidade de Brasília, 23 Nov 1999 (fr), *J.E.dePaula 3559* (UB). Limite entre Parque do Gama e Goiás, 15 Oct 1963 (fl), *J.M.Pires 57081* (UB). Parque do Guarά, 31 Aug 1999 (fl), *K.Calago & A.Mendes-Carvalho 272* (CEN). Campus da Universidade de Brasília, 28 Aug 1963 (fl), *L.Q.Cobra & J.Oliveira 3* (UB). Universidade de Brasília, 19 Sep 1963 (fr), *L.Q.Cobra & J.Oliveira 236* (UB). Fazenda Água Limpa, Apr 1983 (est), *M.Haridasan 119* (UB). Campus Universidade de Brasília, 23 Sep 1994 (fl), *M.Ianhez 59* (UB). Reserva Ecológica do IBGE, 15°57'05"S – 47°52'10"W, 3 Oct 2002 (fl), *M.A.Silva 5394* (IBGE, UB). Reserva Ecológica do IBGE, Entre o Córrego do Escondido e o Cristo Redentor, 22 Jan 1987 (fr), *M.A.Silva & R.L.Vianna Jr. 298* (IBGE). Reserva Ecológica do IBGE, 15°57'05"S – 47°52'10"W, 1100m altitude, 21 Aug 2001 (fl), *M.A.Silva & D.Alvarenga 6002* (IBGE). Reserva Ecológica do IBGE, Entre Córrego Escondido e Cristo Redentor, 22 Jan 1987 (fr), *M.A.Silva & R.C.Vianna 298* (IBGE). Setor de Mansões Park Way, 24 Jun 1981 (est), *M.A.G.Barros & R.S.Carrem 141* (UB). Águas Emendadas, 30 Oct 1971 (fl), *M.B.Ferreira 714* (HEPH). Arredores da Universidade de Brasília, 2 Jul 1971 (fl), *M.B.Ferreira 754* (HEPH). Arredores da Universidade de Brasília, 15 Jul 1971 (fl,fr), *M.B.Ferreira 867* (HEPH). Águas Emendadas, 17 Nov 1971 (fl), *M.B.Ferreira 1035* (HEPH). Arredores da Universidade de Brasília, 2 Oct 1972 (fl), *M.B.Ferreira 1609* (HEPH). Área do Cristo Redentor entre a Reserva Ecológica do IBGE e Cabeça de Veado, 2 Oct 1980 (fl), *M.C.G.Kirkibride 1378* (UB). Campus da Universidade de Brasília, Centro Olímpico, 13 Sep 2006 (fl), *M.D.M.Santos et al. 07* (UB). Jardim Botânico de Brasília, Área próxima ao Mirante, 15°52'0"S – 47°51'0"W, 1125 – 1150m altitude, 13 Oct 1999 (fr), *M.G.Nóbrega & A.E.Ramos 1032* (SPF). Reserva Ecológica do IBGE, Próximo ao Córrego Taquara, 15°55'55"S – 47°83'81"W, 1015m, 20 Sep 1999 (fl),

*M.L.Fonseca e D.Alvarenga 2097* (IBGE). Reserva Ecológica do IBGE, Área queimada próxima ao viveiro, 17 Oct 1994 (fl), *M.L.Fonseca e F.C.A.Oliveira 122* (IBGE). Barragem do Paranoá, 13 Sep 1981 (fl), *M.L.O. Santos 05* (UB). Riacho Fundo, 2 Dec 1991 (fr), *P.E.A.M.Oliveira 1653* (HEPH). Riacho Fundo, 2 Dec 1991 (fl), *P.E.A.M.Oliveira 1654* (HEPH). Cristo Redentor, 30 Jul 1990 (fl), *P.H.Muniz & T.S.Filgueiras 41* (IBGE). Reserva Ecológica do IBGE, Cerrado próximo à chácara IV, 6 Nov 1986 (fr), *R.C.Mendonça 770* (IBGE). Reserva Ecológica do IBGE, Campo sujo próximo ao Cristo Redentor, 9 Oct 1986 (fl), *R.C.Mendonça et al. 733* (IBGE). APA do Descoberto, 15°38'S – 48°12'W, 25 Sep 1990 (fl), *R.F.Vieira et al. 535* (CEN). Farmácia Verde, 15°40'S – 48°12'W, 14 Mai 1991 (fl), *R.F.Vieira & B.M.Walter 745* (CEN). A 10 Km de Brazlândia na estrada de Padre Bernardo, 15°40'S – 48°12'W, 16 Jul 1991 (fl), *R.F.Vieira et al. 847* (CEN). Fazenda do Ipê, 26 Oct 1972 (fl), *R.Lordello 33* (HEPH). Península Norte, 2 Oct 1982 (fl), *S.A.T.Medeiros 8* (UB). Campus da Universidade de Brasília, 1050m altitude, 14 Nov 1971 (fl), *Taxonomy Class of Universidade de Brasília 26* (UB). Lado sul da Universidade de Brasília, Oct-Nov 1971 (fl), *Taxonomy Class of Universidade de Brasília 259* (UB). Lado sul do campus da Universidade de Brasília, 16 Nov 1977 (fr), *Taxonomy Class of Universidade de Brasília 550* (UB). Campus da Universidade de Brasília, Centro Olímpico, 15°53'S – 47°52'W, 22 Nov 1997 (fl), *Taxonomy Class of Universidade de Brasília & C. Proença 1283* (UB). Campus Asa Norte, Residencial, 21 Jul 1967 (fl), *U.L.deAnhanguera 37* (UB). Próximo ao Lago Paranoá, 10 Oct 1996 (fl), *V.F.Kinupp s.n.* (CEN 37999). **Chapada da Contagem**, 7 Sep 1965 (fl), *H.S.Irwin et al. 8035* (SP). 16 Km N de Brasília, 15°38'S – 47°53'W, 9 Nov 1977 (fl), *Taxonomy Class of Universidade de Brasília 474* (UB). **Planaltina**, BR-020, 21 Sep 1994 (fl), *J.C.S.Silva 747* (CEN). **Ponte Alta**, Gama, 6 Nov 1976 (fr), *A.Allen 330* (CEN). **Samambaia**, Parque Boca da Mata, 15 Sep 1995 (fl,fr) *J.M.deRezende 104* (CEN). **Taguatinga**, Lado Norte da Estrada Parque de Ceilândia, 15°47'27"S – 48°02'57"W, 14 Oct 1996 (fl), *S.M.Gomes & R.C.Tostes 152* (CEN). 14 Oct 1996 (fl), *S.M.Gomes & R.C.Tostes 154* (CEN). **GOIÁS: Campinaçu**, Estrada entre Campinaçu e a balsa do Rio Maranhão, 13°52'S – 48°25'W, 5 Oct 1995 (fl), *B.M.T.Walter et al. 2623* (SPF). 13°29'00"S – 48°10'18"O, 5 Oct 2000 (fl), *T.B.Cavalcanti et al. 2687* (CEN). **Cavalcante**, 13°27'49"S – 45°07'17"O, 16 Oct 2001 (fl), *Pereira-Silva 5617* (CEN). **Colinas do Sul**, Estrada Alto Paraíso a Colinas, 14°13'S – 47°55'W, 2 Aug 2000 (fl), *R.C.Forzza et al. 1658* (HUEFS,SPF,W). **Cristalina**, 16°12'35"S – 47°21'29"O, 26 Jun 2002 (fr), *A.A.Santos et al. 1304* (CEN). **Morrinhos**, 17°49'22"S – 49°03'39"O, 6 Sep 1998 (est), *C.Proença et al. 1995* (UB). **Mossâmedes**, Topo da Serra Dourada, 950m altitude, 6 Dec 1999 (est), *R.Farias et al. 496* (UB). **Serra Dourada**, Cerca de 50 Km de Porangatu, 13°50'S – 49°03'W, 15 Nov 1997 (fr), *C.Proença 1886* (UB). **Vila Propício**, Assunção de Goiás, Fazenda Baixão,

15°12'27"S – 48°40'20,3"W, 20 Oct 2003 (fl), *M.L.Fonseca et al.* 4895 (IBGE,UB). **MATO GROSSO: Cuiabá**, 1979 (est), *Alunos EFL/AGR/BIO s.n.* (UFMT). Rodovia Santo Antônio do Leverger, 9 Mar 1982 (fl), *L.C.Frutoso 20* (HUFMT). Proximidades da vila ENCOL, 8 May 1997 (fr), *M.C.Alecrim e L.Netto 23* (HUFMT). **Manso**, Chapada dos Guimarães, 4 Nov 1999 (fr), *M.Macedo et al.* 7106 (HUFMT). **Nova Xavantina**, Projeto Xavantina, Lote 52, margem esquerda da estrada a 22 Km de Nova Xavantina, 14°32'22,5"S – 52°25'28,7"W, 30 Sep 2001, *T.M.E.S.Pinto 26* (IBGE). **Poconé**, Estrada Poconé-Boqueirão, Após o Rio Saracura, 15 Sep 1988 (fl), *Pantanal do Poconé 143* (HUFMT). **Santo Antônio do Leverger**, 2 Nov 1997 (fl), *M.S.Carvalho 72* (HRCB). Santa Rosa, 15 Jun 1980 (fr), *S.S.A.Jorge 44* (HUFMT). **Sorriso**, Margem da rodovia Paranatinga, 9 Jun 1999 (fl), *M.Macedo e A.H.Ferreira 7007* (UFMT). **Várzea Grande**, Loteamento 13 de Setembro, 26 Aug 1993 (fl), *M.Macedo et al.* 3201 (UB,UFMT). **MATO GROSSO DO SUL: Bandeirantes**, Rodovia BR-163, São Pedro, 6 Nov 1996 (fl), *G.Hatschbach et al.* 65347 (UFMT). **Ponta Porã**, Fazenda Santa Virgínia, 11 Nov 2006 (fl), *J.M.Silva & E.Barbosa 5260* (HRCB). **MINAS GERAIS: Belo Horizonte**, Serra do Taquaril, 2 Jun 1934 (fl), *H.L.Mello Barreto 1871* (BHCB). Região periférica de Belo Horizonte, 1988 (fl), *J.A.Trindade s.n.* (BHCB). Serra do Curral, Nov 1953 (fl, fr), *L.Roth s.n.* (CESJ 2242). **Brasilândia de Minas**, Fazenda Brejão, 01 Jan 2001 (fl), *M.Pompeu & S.Matoso 01* (BHCB). **Campina Verde**, 22 Jun 1943 (fl), *M.Macedo 30* (SP). **Carmo do Rio Claro**, 18 Mar 1920 (est), *P.A.Côrrea 02* (SP). **Diamantina**, Estrada entre Diamantina e Conselheiro, Mata, 30 Oct 1981 (fl), *A.M.Giulietti et al.* 2437 (HUEFS, SPF). Gouvea, 2 Nov 1997 (fl), *J.P.LemosFilho s.n.* (BHCB). **Jabuticatubas**, Parque Nacional da Serra do Cipó, Trilha Sede do IBAMA, 26 Sep 1999 (fl), *F.N.Costa et al.* 94 (BHCB,HUEFS,SPF). **Lagoa Santa**, 25 Aug 1989 (fr), *T.S.M.Grandi s.n.* (BHCB). **Moeda**, Serra da Moeda, 29 Nov 1986 (fl), *J.A.Paula et al. s.n.* (BHCB). **Nova Lima**, Retiro das Pedras, 20°05'49-50"S – 43°59'01-29"W, 22 Oct 1999 (fl), *J.A.Lombardi 3308* (SPF). **Pará de Minas**, 10 Dec (fl), *J.M.S.Gouvêa s.n.* (BHCB). **Paraopeba**, Estação Florestal de Experimentação (EFLEX), 21 Apr 2001, *G.E.Valente e J.A.A.Meira-Neto 686* (VIC). 14 Apr 2001, *G.E.Valente e J.A.A.Meira-Neto 700* (VIC). **Prata**, BR-153, 19°35'45"S – 48°49'55"W, *F.Firetti et al.* 47 (UEC). **Santana do Riacho**, Serra do Cipó, 24 Oct 1998 (fl), *R.C.Mota & J.R.Stehmann 17* (BHCB). Reserva do IBAMA, 27 Jan 1990 (fl), *R. Simão-Bianchini s.n.* (SPF 67838). **São João Del Rei**, Serra do Lenheiro, 19 Feb 1985 (est), *L.Krieger s.n.* (CESJ 20482). **São Roque de Minas**, Serra da Canastra, 3 Km de São Roque na rodovia para Araxá, 20°19'S – 46°31'W, 2 Nov 1996 (fl), *A.I.García & S.Bridgewater A478* (UB). PARNA Serra da Canastra, Morro próximo à sede administrativa, 15 Oct 1994 (fl, fr), *J.N.Nakajima et al.* 498 (VIC). PARNA Serra da Canastra, Cachoeira da Casca D'Anta, 17 Oct 1994 (fl), *J.N.Nakajima et al.* 553

(VIC). PARNA Serra da Canastra, Estrada para o Retiro das Pedras, 18 Jul 1995 (fr), *J.N.Nakajima et al. 1278* (VIC). Guarita de Sacramento, 18 Nov 1995 (fl), *J.N. Nakajima et al. 3074* (VIC). Parque Nacional da Serra da Canastra, estrada São Roque de Minas a Sacramento, 7 Nov 2002 (fl), *L.R.Lima et al. 189* (SPF). Estrada para a Cachoeira dos Rolinhos, 15 Mai 1999 (fl), *M.A.Farinaccio et al. 317* (HUEFS, SPF). Guarita de Sacramento, 18 Nov 1995 (fl), *R.Romero et al. 3074* (VIC). **São Tomé das Letras**, Estrada para Baependi, Vale do Ribeirão Cantagalo, 3 Nov 1984 (fl,fr), *J.R.Pirani et al. 5830* (F,HUEFS,MBM,MO,SPF). **Serra do Cipó**, Fazenda Bosque do Sol, 19°15'25"S - 43°35'55"W, 3 Feb 1998 (fl), *F.F.d'EçaNeves et al. 815* (HRCB). **Uberlândia**, Clube Caça e Pesca Itororó, 26 Oct 1994 (fl), *A.A.Arantes et al. 245* (HUFU). Estação Ecológica do Panga, 20 Aug 1996 (fl), *A.A.Arantes 677* (HRCB). Estrada Minas Gerais BR-365, 29 Sep 1982 (fl), *R.C.Vieira et al. 183* (HUEFS,HUFU). Estação Ecológica do Panga, Aug 1998 (fl), *L.G.Lohamnn e P.E.Oliveira 260* (HUFU). BR-050 ou estrada de Goiás, 28 Set 1992 (fl), *P.E.Oliveira 3033* (HRCB), Estrada para a Estação Ecológica do Panga, 30 Sep 1992 (fl), *P.E.Oliveira 3042* (HUFU). Estrada para a Estação Ecológica do Panga, 19 Aug 1998 (fr), *P.E.Oliveira 3098* (HRCB). **SÃO PAULO: Águas de Santa Bárbara**, Estação Ecológica de Águas de Santa Bárbara, 27 Sep 1994 (fl), *J.Y.Tamashiro et al. 665* (HRCB). **Alumínio**, Chácara Sperancini, 11 Nov 2001 (fr), *M.C.E.Amaral e V.Bittrich 2001/10* (UEC). **Araraquara**, 3 Oct 1964 (fr), *A.S.Grotta s.n.* (SPF 16042). **Assis**, Rodovia Castello Branco, Cerrado, 12 Apr 2003 (fr), *G.Durigan 2102* (SMA-SP). **Botucatu**, Estrada para a Fazenda Lagoa Negra e Porto Said, 22°42'54"S - 48°19'42"W, 6 Jun 1996 (fr), *V.C.Souza e J.P.Souza 11310* (SPF). **Campo Alegre**, 25 Sep 1940 (fl), *J.F.Toledo & A.Gehrt s.n.* (SP43187). **Corumbataí**, 26 Oct 1994 (fl), *M.A.Assis 448* (HRCB). **Estreito**, Perto da Fazenda 3 Irmãos, 6 Nov 1997 (fl), *W.M.Ferreira et al. 1443* (UEC). Estrada perto da Fazenda Três Irmãos, 5 Nov 1997 (fl), *W.M.Ferreira et al. 1663* (UEC). **Itirapina**, Estação Ecológica de Itirapina, 13 Sep 2001 (fl), *M.R.B.doCarmo 1* (HRCB). 13 Sep 2001 (fl), *M.R.B.doCarmo 2* (HRCB). 13 Sep 2001 (fl), *M.R.B.doCarmo 3* (HRCB). 13 Sep 2001 (fl), *M.R.B.doCarmo 4* (HRCB). 13 Sep 2001 (fl), *M.R.B.doCarmo 5* (HRCB). 13 Sep 2001 (fl), *M.R.B.doCarmo 6* (HRCB). 13 Sep 2001 (fl), *M.R.B.doCarmo 7* (HRCB). 13 Sep 2001 (fl), *M.R.B.doCarmo 8* (HRCB). 13 Sep 2001 (fl), *M.R.B.doCarmo 9* (HRCB). 13 Sep 2001 (fl), *M.R.B.doCarmo 10* (HRCB). 26 Sep 2001 (fl), *M.R.B.doCarmo 21* (HRCB). 26 Sep 2001 (fl), *M.R.B.doCarmo 22* (HRCB). 26 Sep 2001 (fl), *M.R.B.doCarmo 24* (HRCB). **Mogi Guaçu**, Martinho Prado, Reserva Biológica da Fazenda Campininha, 28 Feb 1978 (fl), *A.F.Silva s.n.* (VIC 5915). 29 Sep 2007 (fr), *F.Firetti & W.Leggieri 129* (UEC). **Pedregulho**, 12 Nov 1994 (fr), *W.M.Ferreira et al. 998* (HRCB). **TOCANTINS**,

**Parana**, Local do futuro eixo da barragem (São Salvador), 12°48'23"S – 48°13'59"O, 270m altitude, *G.Pereira-Silva et al. 6531* (CEN).

***Anemopaegma glaucum* Mart. ex DC. Prodr. 9: 188 1845.**

**ARBUSTO**, pouco ramificado e de porte ereto a flexuoso em áreas onde não há passagem de fogo (áreas preservadas) e bastante ramificado, formando touceira e com ramos prostrados em locais onde há passagem de fogo (aspecto após a rebrota), ramos cilíndricos, estriados, glabros a densamente pilosos, tricomas tectores simples, multicelulares e de ápice agudo, com ou sem pruinosidade (glaucos ou não), pontuações negras esparsamente distribuídas, sem campos glandulares interpeciolares. Profilos ausentes ou diminutos. **FOLHAS** compostas, 3-folioladas, opostas ou opostas cruzadas, sésseis a pecioladas, pecíolo quando presente 0,95-5,02 cm, glabros a densamente pilosos, com ou sem pruinosidade, pontuações negras densamente distribuídas ou ausentes, semicircular com face dorsal plana e canaliculada, estriado, folíolos laterais sésseis a peciolulados, peciólulos 0,15-1,05 cm, semicirculares, estriados, de glabros a densamente pilosos, com ou sem pruinosidade, pontuações negras densamente distribuídas ou ausentes, limbo largamente oblanceolado, oblongo ou obovado, 6,1-11,6 cm x 2,8-4,85 cm, razão comprimento/largura dos folíolos entre 1,61 e 6,47, glabros ou densamente pilosos, com ou sem pruinosidade, base atenuada, ápice de mucronado, agudo, obtuso e retuso, folíolo mediano peciolulado, peciólulo 0,3-3,2 cm, limbo oblanceolado, oblongo ou obovado, 6,45-11,6 x 2,9-5,7 cm, razão foliolar de comprimento/largura 1,47-5,73, base curtamente atenuada, ápice de mucronado, agudo, obtuso ou retuso, glabros ou densamente pilosos, com ou sem pruinosidade. **FLORES**, reunidas em inflorescências racemiformes, axilares ou terminais, raque da inflorescência glabra, flores pediceladas, pedicelo 0,36-0,75 cm, com brácteas de primeira ordem na base da flor e de segunda ordem na porção mediana do pedicelo, brácteas simples, cimiformes, alargadas na base e com

ápice agudo; cálice 1,0-1,23 x 0,78-0,93 cm, cupular, verde em material fresco e marrom em material herborizado, 5-costado, glabro a densamente piloso, persistente até a maturação do fruto, nectários arredondados, em número variável, dispostos na porção superior do cálice, ao longo das costelas; corola infundibuliforme, achatada dorso-ventralmente, tamanho total do tubo 3,46-5,4 x 1,0-1,9 cm, base 1,05-1,53 x 0,4-0,42 cm, 5-lobada, lobos 0,75-1,18 cm, arredondados, tubo creme-amarelado e lobos creme, externamente, base da corola glabra, porção mediano-apical lepidota (com tricomas glandulares) e lobos glabros, nectários arredondados presentes na porção superior do tubo e nos lobos da corola, internamente, fauce de cor amarela mais escura que o tubo, glabra exceto na região de adnação dos estames e estaminódio onde há tricomas glandulares com base multicelular não glandular e cabeça unicelular glandular de coloração amarela, androceu composto por quatro estames, maiores 1,9-2,47 e menores 1,4-1,79 cm, didínamos, glabros, anteras divaricadas, tecas 0,37-0,46 cm, grãos de pólen mônades, de coloração amarela, estaminódio 0,4-0,75 cm, filiforme, de coloração creme, glabro; gineceu composto por estigma bilobado, lobos 0,2-0,35 x 0,17-0,27 cm, sensitivo, de cor creme, estilete 2,5-3,3 cm, filiforme, glabro, de cor creme e ovário 0,35-0,41 x 0,19-0,27 cm, elipsóide, estipitado, de cor creme-esverdeado, com tricomas glandulares cobrindo a parede do ovário, bicarpelar, bilocular, número de óvulos entre 18 e 32, dispostos em número variado de séries por lóculo. Disco nectarífero 0,14-0,22 cm, anular, na base do ovário. **FRUTO**, cápsula septífraga, elíptico, recurvado, valvas 6,2-12,7 x 4,9-7,5 cm, carnosas, de cor verde, com ou sem pruinose e glabras ou densamente pilosas quando o fruto está imaturo, plano, com valvas lenhosas, de coloração castanho-clara, glabros e com ou sem resquício de pruinose quando maduros. **SEMENTES** 3,4-4,6 x 4-5,3 cm, aladas, com alas paleáceas envolvendo todo o embrião, de coloração mais escura na região do embrião e mais clara nas extremidades, extremidades recortadas, embrião 0,7-1,0 x 0,85-1,2 cm, cordiforme, com dois cotilédones profundamente lobados, de coloração creme. Geralmente há vários embriões por semente (sementes poliembriônicas).

**Comentário:** Sob o nome *A. glaucum* foram incluídos os espécimes com as seguintes características: (1) arbustos eretos em locais onde não há passagem do fogo e subarbustos bastante ramificados, formando touceira, em locais onde há passagem de fogo ou após a perda total da parte aérea por ação da poda, (2) ramos com crescimento determinado, havendo morte destes após o período reprodutivo, (3) folíolos largamente oblanceolados de ápice acuminado razão foliolar entre 2,13 e 6,47, oblongos ou obovados com ápice obtuso ou retuso, com razão foliolar entre 1,47 e 3,95, (4) folíolo terminal peciolulado (Figuras 8-10).

**Fenologia:** Em nível populacional, a floração ocorre ao longo do ano devido à floração assincrônica dos indivíduos. Os indivíduos desta espécie geralmente apresentam um único evento de floração ao ano, entretanto, foram observados indivíduos de uma população de Brasília florescendo duas vezes no mesmo ano. Assim como *Anemopaegma arvense*, *A. glaucum* floresce profusamente após a passagem do fogo (FIRETTI-LEGGIERI Capítulo 5).

**Distribuição e ecologia:** A espécie ocorre na Bolívia, Brasil e Paraguai. No Brasil, está distribuída em áreas de campo sujo e de cerrado das regiões Centro-Oeste, Norte, Nordeste e Sudeste, sendo encontrada em tais tipos de vegetação dos seguintes estados: Bahia, Distrito Federal, Goiás, Maranhão, Mato Grosso, Minas Gerais, Pará, Rondônia, São Paulo e Tocantins (Figura 11). Os indivíduos desta espécie são encontrados principalmente em áreas de campo sujo e cerrado alterados, como os sujeitos à passagem periódica de fogo.

**Material examinado: BRASIL, BAHIA: Barreiras,** Estrada para o aeroporto a 15 Km de Barreiras, 12°05'40"S – 45°02'54"W, 14 Mai 1997 (est), *C.Proença et al. 1763* (UB). **Luís Eduardo Magalhães,** Estrada entre Luís Eduardo Magalhães (BA) e Taguatinga (TO),

12°18'12,3"S – 46°18'62"W, 18 Jul 2006 (fl), *F.Firetti et al.* 34 (UEC). **Palmeiras**, 12°26'S-41°28'O, 8 Feb 1997 (fl), *M.L.Guedes et al.* 5452 (ALCB). Cercado, 12°26'S – 41°28'O, 8 Nov 1997 (fr), *M.L.Guedes* 5466 (ALCB). **Piatã**, Estrada Piatã-Inúbia, 13°07'16"S – 41°49'32"W, 1340m altitude, 2 Feb 1996 (fr), *M.M.da Silva et al.* 3920 (ALCB). **DISTRITO FEDERAL, Brasília**, Reserva Ecológica do IBGE, 15°57'04"S – 47°52'08"W, 1100m altitude, 4 Oct 2004 (fl), *C.Lima & D.Alvarenga* 085 (IBGE). Plano Piloto, 15 Sep 1965 (fl), *E.P.Heringer* 10534 (UB). Jardim Zoológico, 20 Apr 1979 (fl), *E.P.Heringer* 17317 (IBGE). Universidade de Brasília, 18 Oct 2007 (est), *F. Firetti & C.P. Firetti* 158 (UEC). 18 Oct 2007 (est.), *F.Firetti & C.P. Firetti* 160 (UEC). Estação Ecológica do Guará, 15°48'S – 47°58'W, 10 Oct 1993 (fl,fr), *G.P. Silva* 2004 (UB). Universidade de Brasília, 23 Aug 1965 (fl) *H.S.Irwin et al.* 7844 (UB). Fazenda Água Limpa, 23 Sep 1976 (fl,fr), *J.A.Ratter et al.* 3643 (UB). Fazenda Sucupira, 15°55'S – 48°01'W, 6 Jul 1999 (fl), *J.G.Faria et al.* 267 (CEN). Campus da Universidade de Brasília, 10 Apr 1983 (fl), *J.M.Pires et al.* 9103 (UB). 21 Jul 1965 (fl,fr), *D.Sucre* 757 (UB). Bacia do Rio Preto à margem da DF-250, 15°43'73"S – 47°36'99"W, 29 Jun 1999 (fl), *K.Calago* 216 (CEN). Reserva Ecológica do IBGE, Área do Projeto Fogo, 15°46'41"S – 47°53'07"W, 1100m altitude, 19 Mar 2001 (fl), *M.A.Silva* 4950 (IBGE, MO). Arredores da Universidade de Brasília, 15 Jun 1971 (fl,fr), *M.B.Ferreira* 828 (HEPH). S.D.R.N. Velhacap, 15 Mar 1971 (fl), *M.B.Ferreira* 1098 (HEPH). Universidade de Brasília, 21 Apr 1972 (fl), *M.B.Ferreira* 1297 (HEPH). Arredores da Universidade de Brasília, 21 Apr 1972 (fl), *M.B.Ferreira* 1329 (HEPH). Área da Universidade de Brasília, 27 Aug 1990 (fl), *M.L.M.Azevedo et al.* 860 (IBGE, MO). APA Gama e Cabeça de Veado, Região Administrativa do Núcleo Bandeirante, Park Way, Lagoa do Córrego do Cedro, 15°53'51,8"S – 47°56'39,8"W, 990m altitude, 28 Aug 2002 (fr), *R.C.Mendonça & D.Alvarenga* 4864 (IBGE, UEC). APA Gama e Cabeça de Veado, Região Administrativa do Núcleo Bandeirante, Park Way, Q.26, 15°54'32,2"S – 47°57'42,9"W, 1050m altitude, 30 Oct 2002 (fl), *R.C.Mendonça et al.* 5132 (IBGE,UB). Reserva Ecológica do IBGE, Margem esquerda do Córrego Roncador, 23 Jul 2003 (fl,fr), *S.M.Gomes* 625 (UEC). **GOIÁS: Filadélfia**, 7°19'S – 47°36'W, 30 Mar 1984 (fr), *E.Mileski* 438 (RADAMBRASIL). **Guiratinga**, 16°05'23"S - 53°40'28"W, 30 Oct 2000 (est), *L.A.Dambrós* 349 (HRCB). **Posse**, Estrada Posse-Guarani de Goiás, 14°01'S - 46°13'W, 29 Jul 2000 (fl,fr), *R.C.Forzza et al.* 1540 (HUEFS,SPF). **São Domingos**, Parque Estadual Terra Ronca, 29 Aug 1998 (est), *D.M.S.Rocha & A.P.Silva* 16A (UB). **Serranópolis**, Reserva das Araras, 26 Sep 2005 (fr), *M.A.Assis* 1758 (HRCB). **Sítio D`Abadia**, estrada entre Sítio D`Abadia e Formosa de Minas Gerais, ca. 30 Km de Sítio D`Abadia, 14°49'50,2"S – 46°14'59,3"W, 810m altitude, 20 Feb 2003 (fl,fr), *R.C.Mendonça et al.* 5324 (HSB,IBGE,UB). **MARANHÃO: Loreto**, 13 Feb 1999 (est),

*L.C.M.Lima et al. 116* (UB). **MATO GROSSO: Barra do Garças**, 12°51'S – 51°45'W, 450m de altitude, 25 Nov 1969 (fr), *G.Eiten & L.T.Eiten 9530* (SP). **Campo Novo dos Parecis**, Reserva Utiariti, 2 Oct 1994 (fl), *M.Macedo & R.Godinho 7604* (UFMT). **Chapada dos Guimarães**, 720 metros de altitude, 13 Oct 1973 (fr), *G.T.Prance et al. 18892* (INPA). Rodovia em Cuiabá e Chapada dos Guimarães, 21 Nov 1982 (fr), *J.U.Santos & C.S.Rosário 444* (UFMT). **Cuiabá**, Próximo ao Portão do Inferno, 10 Sep 1994 (fl), *M.Macedo et al. 3844* (INPA). **General Carneiro**, Sep 1963 (fl), *T.Hartmann s.n.* (SP 155710). **Guiratinga**, 16°05'23"S – 53°40'28"W, 30 Oct 2000 (fr), *L.A.Dambrós 349* (IBGE, REB,UB,WU). **Salgadeira**, Chapada dos Guimarães, 11 Apr 1980 (fl,fr), *A.L.Prado P70* (UFMT). **MINAS GERAIS: Frutal**, BR-14, a 40 Km norte do Rio Grande, 9 Aug 1967 (fl,fr), *R.Goodland 3769* (UB). BR-14, 25 Sep 1967 (fr), *R.Goodland 3938* (UB). **Paraopeba**, Estação Florestal de Experimentação (EFLEX), 15 Apr 2001 (fr), *G.E.Valente & J.A.A.MeiraNeto 740* (VIC). **Patos de Minas**, Entre Patos e Varjão, 15 Sep 1963 (fl), *A.Castellanos 24186* (FEEMA). **Sacramento**, PARNA Serra da Canastra, 14 Oct 1994 (fl), *R.Romero et al. 1186* (HUFU,VIC). **Uberlândia**, Clube Caça e Pesca Itororó, 8 Dec 1995 (fr), *E.O.Lenza & A.A.A.Barbosa 222* (HUFU). **PARÁ: Itaituba**, Serra do Cachimbo, Próximo ao acampamento do COMARA, 21 Aug 1979 (fl), *A.S.L.Silva 348* (INPA). **RONDÔNIA**, Estrada de Vilhena para Junina, 12°23'42"S – 59°51'58"W, 490m altitude, 18 Jan 1999 (fr), *R.Farias et al. 282* (IBGE). **SÃO PAULO: Assis**, Rodovia Castello Branco Km 295, 12 Apr 2003 (fr), *G.Durigan 2104* (SMA/SP). **Itirapina**, 30 Oct 1999 (fl), *M.B.Fialho s.n.* (HRCB40072). Estação Ecológica de Itirapina, 13 Sep 2001 (fl), *M.R.B.doCarmo 11* (HRCB). 13 Sep 2001 (fl), *M.R.B.doCarmo 12* (HRCB). 13 Sep 2001 (fl), *M.R.B.doCarmo 13* (HRCB). 13 Sep 2001 (fl), *M.R.B.doCarmo 14* (HRCB). 13 Sep 2001 (fl), *M.R.B.doCarmo 15* (HRCB). 26 Sep 2001 (fl), *M.R.B.doCarmo 17* (HRCB). 26 Sep 2001 (fr), *M.R.B.doCarmo 18* (HRCB). 26 Sep 2001 (fl), *M.R.B.doCarmo 20* (HRCB). **Pirassununga**, Cerrado de Emas, 22°02'S – 47°30'W, 27 Oct 1994 (fl), *M.A.Batalha & S.Aragaki 253* (SP). **TOCANTINS: Mateiros**, Região do Jalapão, 10°35'S – 46°25'W, 3 Mai 2001 (fl), *A.B.Sampaio et al. 356* (UB). Jalapão, 10°33'S – 46°8'W, 640m de altitude, 7 Mai 2001 (est), *L.H.Soares e Silva et al. 919* (UB).

*Anemopaegma scabriusculum* Mart. ex DC. Prodr. 9:188 1845.

**ARBUSTO**, com mais de 1 metro de altura, geralmente pouco ramificado, ramos com crescimento indeterminado, cilíndricos, estriados, densamente pilosos, de coloração verde-amarronzada, com pontuações pretas densamente dispostas por todo o ramo. Profilos ausentes ou diminutos. Glândulas interpeciolares ausentes. **FOLHAS**, compostas, 3-folioladas, decussadas, pecioladas, com pecíolo 0,72-1,19 cm, semicircular, plano na face dorsal, estriado, densamente piloso, de coloração esbranquiçada, pontuações pretas densamente distribuídas, folíolos laterais e mediano peciolulados, peciólulo dos folíolos laterais 0,14-0,43 cm, peciólulo do folíolo terminal 0,35-1,1 cm, peciólulos circulares, densamente pilosos, lâmina foliolar coriácea, elíptica, espatulada, oblanceolada, base atenuada nos folíolos laterais e curtamente atenuada no folíolo terminal, ápice acuminado, obtuso, retuso, margem fortemente revoluta, densamente pilosa em ambas as faces, pontuações densamente distribuídas na face abaxial da lâmina, nervura principal e secundárias em depressão na face adaxial e proeminentes na face abaxial, verde-amareladas (mais claras que a lâmina foliolar), folíolos laterais 4,6-7,3 x 1,7-3,7 cm, razão comprimento/largura 1,94-3,47, folíolo terminal 4,8-8,2 x 1,9-4,3 cm, razão comprimento/largura 1,75-2,91. **FLORES**, em inflorescências racemiformes, axilares, com raque densamente pilosa, pediceladas, pedicelo 0,23-0,51 cm, brácteas de primeira e segunda ordem pecioladas, com lâmina tri-partida (semelhante às folhas), cálice 0,92-1,1 x 0,55-0,75 cm, cupular, 5-costado, densamente piloso, de coloração esbranquiçada, coriáceo, persistente até a maturação do fruto, com nectários arredondados de coloração amarronzada, em número variável, localizados na porção superior do cálice ao longo das costelas, corola infundibuliforme, achatada dorso-ventralmente, tamanho total do tubo 4,1-5,3 x 0,98-1,3 cm, base 1,4-2,26 x 0,47-0,5, 5-lobada, lobos 0,7-1,8 cm, tubo creme-amarelado e lobos creme, externamente, base do tubo e lobos glabros e porção mediano-apical lepidota (com tricomas glandulares), presença de nectários circulares e amarronzados, localizados na porção superior do tubo da corola e nos lobos, internamente, corola

com fauce amarelo escuro, glabra exceto na região de adnação dos estames e estaminódio onde há tricomas glandulares com base multicelular não secretora e cabeça unicelular secretora de coloração amarela, androceu composto por quatro estames, maiores 1,9-2,45 e menores 1,6-1,8 cm, didínamos, glabros, anteras divaricadas, tecas 0,38-0,5 cm, grãos de pólen mônades, de coloração amarela, estaminódio 0,42-0,8 cm, filiforme, de coloração creme, glabro, gineceu composto por estigma bilobado, lobos 0,25-0,39 x 0,28-0,4 cm, sensitivo, de cor creme, estilete 2,8-3,3 cm, filiforme, glabro, de cor creme e ovário 0,4-0,5 x 0,2-0,24 cm, elipsóide, estipitado, de cor creme-esverdeado, com tricomas glandulares cobrindo a parede do ovário, bicarpelar, bilocular, número de óvulos 19-43, dispostos em número variado de séries por lóculo. Disco nectarífero 0,10-0,35 cm, anular, na base do ovário. **FRUTO**, cápsula septífraga, elíptico, valvas 7,2-9,4 x 3,2-4,5 cm, abaulada na parte mediana e plana nas laterais, carnosas, de cor verde, glabras quando o fruto está imaturo, plano, com valvas lenhosas, de coloração castanho-clara e glabras, quando maduros. **SEMENTES** 1,9-3,3 x 2,14-3,8 cm, aladas, com alas paleáceas envolvendo todo o embrião, de coloração mais escura na região do embrião e mais clara nas extremidades, extremidades recortadas, embrião 0,45-0,8 x 0,6-1,05 cm, cordiforme, com dois cotilédones profundamente lobados, de coloração creme. Algumas sementes possuem dois embriões (sementes poliembriônicas).

**Comentário:** Dentro do complexo, *Anemopaegma scabriusculum* se diferencia das demais espécies por ser arbusto de grande porte, alcançando mais de 2 m de altura, com crescimento indeterminado dos ramos (Figuras 12-13) e por sua distribuição limitada ao território brasileiro. Inicialmente esta espécie foi incluída no complexo, pois, em material herborizado, os espécimes desta mostram caracteres semelhantes à de certas morfoespécies pertencentes às espécies mantidas no complexo (por exemplo, forma do limbo foliolar). Entretanto, levando-se em consideração aspectos morfológicos verificados em campo, como crescimento indeterminado dos ramos, distribuição geográfica, na maioria, distintas das demais espécies do complexo esta espécie pode ser excluída

do complexo *Anemopaegma arvense*. A exclusão de *A. scabriusculum* do complexo, apontada, neste trabalho, a partir de dados morfológicos, é corroborada pelo estudo da filogenia do gênero *Anemopaegma* feito por WINKWORTH & LOHMANN (com. pess.). Neste estudo, o sequenciamento do gene de cloroplasto *ndhF* mostrou a formação de um grupo com *A. acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum*, que possui como grupo-irmão *A. laeve* e, *A. scabriusculum* formando um outro grupo com *A. carajense*.

**Fenologia:** Segundo SILVA & QUEIROZ (2003), os indivíduos de *Anemopaegma scabriusculum* apresentam dois a três eventos de floração por ano. A partir de dados de herbário, FIRETTI-LEGGIERI (Capítulo 5) constatou a floração de indivíduos da espécie em todos os meses do ano, exceto em outubro. Segundo observações de campo do último autor, os indivíduos desta espécie mostram eventos fenológicos distintos simultaneamente, ou seja, o mesmo indivíduo pode apresentar partes do ramo em flor e, outras partes do mesmo ramo com frutos em desenvolvimento.

**Distribuição e ecologia:** *Anemopaegma scabriusculum* tem sua ocorrência registrada nas regiões Centro-Oeste, Norte, Nordeste e Sudeste do Brasil abrangendo os seguintes estados: Bahia, Goiás, Maranhão, Minas Gerais, Pará, Piauí e Tocantins. Os espécimes foram coletados em áreas de cerrado, caatinga e campo rupestre (Figura 14).

**Material examinado: BRASIL, BAHIA: Abaíra,** Estrada Piatã-Boninal, 13°06'N - 41°47'W, 900-1100 metros de altitude, 13 Mar 1992 (fl), W. Ganev & R.F. Queiroz 52714 (CEPEC,HUEFS,K,MBM,SPF). **Baianópolis,** Rodovia BR-242 entre Baianópolis e Barreiras, 12°11'03"S - 44°37'35"W, Cerrado, 15 Mai 1997 (fl,fr), C.F.R. Cardoso et al. 31 (INPA,UB). **Barreiras,** Estrada para o aeroporto cerca de 15 Km de Barreiras, 12°05'40"S - 45°02'54"W, 14 Mai 1997 (fl,fr), C. Proença et al. 1765 (UB). BR-020, Rodovia Brasília-Fortaleza, 28 Sep 1978 (fr), L. Coradin et al. 1171 (CEN). Estrada do antigo aeroporto, 12°05'S - 45°01'W, 1200 metros de

altitude, 17 Mai 1984 (fl), *S.B. da Silva & R.A. Viegas 341* (ALCB). **Catolés**, Guarda-Mor, 13°17'S – 41°49'W, 17 Dec 2003 (fl), *E.R. de Souza & A. Oliveira 429* (HRCB). **Cocos**, Fazenda Trijunção, 14°53'26"S – 45°52'20"W, 830 metros de altitude, 6 Jul 2001 (fl), *R.C. Mendonça et al. 4422* (IBGE, UB). **Correntina**, Reserva Biológica Fazenda Jatobá, Cerrado, 14°02'00,9'S – 45°57'46,9"W, 870 metros de altitude, 29 Jul 2004 (fr), *M.L. Fonseca et al. 5622* (IBGE, UB). **Formosa do Rio Preto**, Próximo ao Rio Riachão, 11°07'17"S – 45°28'W, 530 metros de altitude, 7 Apr 1989 (fl), *A.O. Scariot et al. 463* (CEN). Projeto Ouro Verde, Rodovia Anel da Soja, 11°26'S – 46°04'W, 17 Nov 1995 (fl), *B.M.T. Walter et al. 2948* (CEN). Fazenda Lagoa de Fora, Cerrado à beira da Serra do Estrondo, 13 Oct 1989 (fr), *P.E.N. Silva et al. 80* (UEC). Coaceral, 10°33'59"S – 45°41'21"W, 892 metros de altitude, 28 Mar 2000 (fl), *R.M. Harley 53758 et al.* (ALCB). **Ibotirama**, Rodovia BR-242, Ibotirama-Barreiras Km 86, Caatinga, 12°07'S – 44°02'W, 7 Jul 1983 (fr), *L. Coradin et al. 6609* (CEN). **Luís Eduardo Magalhães**, Estrada entre Luís Eduardo Magalhães (BA) e Taguatinta (TO), 12°18'12'S – 46°18'62"W, 04 Mai 2007 (est), *F. Firetti et al. 96* (UEC). **Mucugê**, Caminho para Abaíra, 5 Mai 2007 (fr), *F. Firetti et al. 90* (UEC). 13°00'24"S – 41°21'28"O, 13 Feb 1997 (fl), *M.L. Guedes et al. 5518* (SPF). Estrada Mucugê-Guiné, 12°57'50"S – 41°28'25"O, 16 Jul 1996 (fl), *R. Harley et al. 3701* (SPF). **Piatã**, Chapada Diamantina, 13°04'49"S – 41°53'26"W, 19 Sep 2004 (fl), *M.L. Guedes et al. 11390* (HRCB). Estrada Piatã-Cabrália, 13°06'S – 41°47'W, 9 Sep 1992 (fl), *W. Ganjev 1050* (SPF). **Rio de Contas**, Estrada entre Rio de Contas e Mucugê, 3 Aug 1998 (fl), *L.G. Lohmann et al. 257* (SPF). **São Desidério**, 12°28'S – 45°12'W, 510m altitude, 10 Apr 1989 (fr), *A.O. Scariot et al. 504* (CEN). 12°28'S – 45°12'W, 510m altitude, 10 Apr 1989 (fr), *B.M.T. Walter et al. 252* (CEN). **GOIÁS**: BR-030, 8 Apr 1976 (fl), *G. Davidse et al. 12187* (SP). **MARANHÃO**: **Balsas**, Projeto Geral de Balsas, 18 Mar 1997 (fl,fr), *R.C. Oliveira & G.P. Silva 503* (UB). **MINAS GERAIS**: **Grão-Mogol**, Vale do Ribeirão das Mortes, 950m altitude, 24 Mai 1987 (fl), *J.R. Pirani & R.M. Silva s.n.* (F,HUEFS,MO,SPF). **Serra das Araras**, Parque Estadual Serra das Araras, 15°29'07"S – 45°22'11"W, 865m altitude, 12 Nov 2003 (est), *M.B. Gomes & R.C. Martins 368* (UB). **PARÁ**: Serra dos Carajás, 5°55'S - 50°26'W, 5 Dec 1981 (fl), *D.C. Daly et al. 1729* (INPA). **PIAUI**: **Bom Jesus**, 30 Km de Bom Jesus, 27 Mai 1978 (fl), *J.S. Silva 675* (HUEFS,SP). **TOCANTINS**: **Almas**, RPPN – Fazenda Minehaha, Transição cerrado/cerradão, 11°08'31,6"S - 47°07'36,5"W, 21 Apr 2004 (fl), *J.M. Felfili et al. 567* (UB). **Mateiros**, Rio Novo, Estrada das dunas, 10°35'0"S – 45°39'0"W, 9 Mai 2001 (fl,fr), *L.H. Soares et al. 932* (CEN). Rio Novo, 10°33'S – 46°39'W, 469m altitude, 4 Mai 2001 (fl,fr), *R. Farias et al. 427* (UB).

**Chave para a identificação das espécies incluídas inicialmente no complexo *Anemopaegma arvense***

1. Arbustos de grande porte, eretos, alcançando mais de 2 metros de altura, com ramos apresentando crescimento indeterminado, ou seja, sem morte destes ramos após o período reprodutivo ..... *A. scabriusculum*
- 1'. Subarbustos ou arbustos de pequeno porte, eretos, sarmentosos ou formando touceira, com menos de 1 metro de altura, com ramos apresentando crescimento determinado, ou seja, havendo morte destes após o período reprodutivo..... 2
2. Inflorescências axilares reduzidas a uma única flor ..... *A. arvense*
- 2'. Inflorescências axilares ou terminais com várias flores, paucifloras ..... 3
3. Folíolos estreitamente oblanceolados, elípticos ou espatulados com razão comprimento/largura entre 2,2 e 9,86, região marginal reta a repanda ..... *A. acutifolium*
- 3'. Folíolos largamente oblanceolados com razão comprimento/largura entre 2,13 e 6,47 ou oblongos a obovados com razão comprimento/largura 1,47 e 3,95, região marginal reta ..... *A. glaucum*

*Análise morfométrica*

Os resultados das análises de ordenação e de agrupamento estão representados nas Figuras 15-31. Para representar os resultados da análise de agrupamento foram escolhidos, na maioria dos casos, os dendrogramas gerados com UPGMA e coeficiente Distância Euclidiana Simples. Porém, quando os dois coeficientes de similaridade escolhidos, Distância Euclidiana Simples e Gower, formaram agrupamentos distintos a análise de agrupamento foi representada pelos dois dendrogramas.

## Caracteres vegetativos

Por meio das observações realizadas em material herborizado e, dos espécimes no campo, foi possível verificar grande diversidade de formas foliares nos indivíduos do complexo *Anemopaegma arvense*. Devido à variação constatada e, por ter constituído o principal elemento para a criação das variedades de *A. arvense* por DE CANDOLLE (1845) e por BUREAU & SCHUMANN (1896) e de *A. glaucum* por BUREAU & SCHUMANN (1896), os caracteres quantitativos foliares foram utilizados para verificar a relação morfológica dos espécimes quando agrupados de acordo com as classificações anteriores e quando agrupados de acordo com a classificação proposta neste estudo a partir dos caracteres morfológicos.

Nas análises de agrupamento (UPGMA) envolvendo todas as espécies (Figura 15), nota-se a existência de dois grupos, sendo um formado por indivíduos de *A. arvense* “típica” caracterizados por limbo foliolar linear e outro formado principalmente por indivíduos de *A. glaucum* com folíolos oblongos a obovados. Os demais indivíduos que apresentam limbo foliolar elíptico a oblanceolado, formaram agrupamentos independentemente da classificação taxonômica. A ausência de um grupo constituído por indivíduos de *A. scabriusculum*, espécie bastante distinta das demais do complexo, mostra que os caracteres quantitativos da folha não são úteis para a separação desta espécie das demais, sendo necessária a utilização dos caracteres qualitativos.

A análise de ordenação (PCA), realizada com todas as espécies (Figuras 16A e B), mostrou resultado semelhante ao encontrado nas análises de agrupamento. Como observado nas Figuras 16A e B, indivíduos de *Anemopaegma arvense* formaram um grupo no lado esquerdo do gráfico, denominado G1, e os indivíduos de *A. glaucum* formaram outro grupo no lado direito (G2). *Anemopaegma acutifolium*, considerada uma espécie híbrida entre *A. arvense* e *A. glaucum*, juntamente com alguns membros destas duas últimas espécies que possuem delimitação duvidosa,

formaram um agrupamento entre os grupos G1 e G2, resultado que pode ser utilizado para confirmar a natureza híbrida destes indivíduos.

A Figura 17 representa o dendrograma gerado com indivíduos correspondentes às morfoespécies identificadas, por outros pesquisadores, como *Anemopaegma arvense*. A partir da análise de agrupamento é possível notar a formação de dois grupos distintos, sendo o primeiro constituído principalmente por *A. arvense* “típica” e, o segundo composto pelas demais morfoespécies. Tal descontinuidade morfológica revelada pelo agrupamento de indivíduos de *A. arvense* “típica” com folíolos lineares separado das morfoespécies com folíolos elípticos a oblanceolados corrobora a classificação apresentada neste trabalho que posiciona indivíduos com folíolos lineares em *A. arvense* e indivíduos com folíolos elípticos a estreitamente oblanceolados em *A. acutifolium*. O posicionamento variado dos indivíduos da morfoespécie aqui denominada *A. arvense* “lanceifolia” mostra a condição híbrida desta morfoespécie que possui folíolos semelhantes aos de *A. acutifolium* “típica” e hábito e o tipo de inflorescência semelhantes aos de *A. arvense*. Os eixos 1 e 2 da análise de ordenação confirmam tais agrupamentos e mostram a condição intermediária de *A. arvense* “lanceifolia” (Figuras 18A e B).

Analisando somente as morfoespécies designadas neste trabalho como *Anemopaegma acutifolium*, é possível notar uma continuidade morfológica representada pela ausência de grupos que correspondem aos indivíduos de uma mesma morfoespécie ou, a formação de pequenos grupos de determinada morfoespécie, mas que não reúnem todos os indivíduos (Figura 21). Tal resultado confirma a classificação adotada neste trabalho, ou seja, o posicionamento de indivíduos com folíolos elípticos a estreitamente oblanceolados em *A. acutifolium*. Ao contrário do verificado em *Anemopaegma acutifolium*, os indivíduos identificados neste trabalho como *A. arvense* formam grupos distintos, apesar da existência de indivíduos intermediários (Figura 19). Assim como a análise de agrupamento, os gráficos de PCA com as morfoespécies de *Anemopaegma acutifolium* mostram pequenos agrupamentos (Figuras 22A e B), como o representado pelos indivíduos de *A.*

*acutifolium* sarmentoso, porém que não englobam todos os indivíduos pertencentes àquela dada morfoespécie. Já para *Anemopaegma arvense*, a variável razão comprimento/largura dos folíolos separou as duas morfoespécies em grupos distintos (Figuras 20A e B).

Para as morfoespécies de *Anemopaegma glaucum* identificadas anteriormente por outros pesquisadores, os agrupamentos não foram conclusivos, ou seja, houve uma continuidade na morfologia foliar, estando os indivíduos da mesma morfoespécie, dispostos em posições distintas no dendrograma (Figura 23). Apesar da ausência de grupos correspondentes às variedades, indivíduos de *A. glaucum* com folíolos elípticos ou oblanceolados, neste trabalho identificado como *A. acutifolium* “sarmentosa”, formaram pequenos agrupamentos ao longo do dendrograma. No PCA, nota-se a presença de dois grupos discretos que correspondem à forma do limbo foliolar, sendo o lado direito do gráfico ocupado por indivíduos com folíolos elípticos a oblanceolados e o lado esquerdo por indivíduos com folíolos oblongos a obovados (Figuras 24A e B). No eixo 1, as variáveis razão comprimento/largura dos folíolos separou os espécimes com folíolos mais estreitos e a largura explicou a separação principalmente de indivíduos de *A. glaucum* com folíolos oblongos a obovados. Quando somente as morfoespécies designadas no presente trabalho como *Anemopaegma glaucum* são utilizadas nas análises de agrupamento e ordenação (Figuras 25-26; Figuras 27A e B, respectivamente), nota-se uma continuidade morfológica com a formação de pequenos grupos constituídos predominantemente por indivíduos com folíolos largamente oblanceolados, representados pela morfoespécie *A. glaucum* “triplinérvea”.

### **Caracteres reprodutivos**

O dendrograma gerado a partir dos caracteres quantitativos florais está representado na Figura 28. A análise de agrupamento mostra a existência de quatro grupos formados por *A. scabriusculum*, pelas morfoespécies de *A. glaucum* (*A. glaucum s.l.*), por *A. arvense* “típica” (com folíolos lineares) e por indivíduos de *A. glaucum* “típica” coletados no estado da Bahia. Nas Figuras

29A e B, que apresentam os resultados de PCA, estão discriminados apenas dois grupos formados por representantes de *A. arvense* “típica” e de *A. scabriusculum*. No eixo 1, que explica 25,09% da variação, a variável comprimento do tubo da corola influenciou positivamente a separação de flores com tubos maiores no lado direito do gráfico, sendo destacadas as flores de *A. scabriusculum*. No eixo 2, a largura da porção basal da corola, que corresponde à região da câmara nectarífera, e as dimensões do ovário (comprimento e largura) influenciaram negativamente a separação das morfoespécies, tendo as flores de *A. arvense* “típica” câmaras nectaríferas mais estreitas e ovário com menores dimensões. As variáveis comprimento da porção basal da corola e do estaminódio explicam negativamente o eixo 3, estando os maiores estaminódios nas flores de *A. arvense* “típica”.

Apesar da separação de grupos nas análises de agrupamento e ordenação, as espécies possuem flores morfológicamente semelhantes. A constância nos caracteres florais das espécies e morfoespécies do complexo *Anemopaegma arvense* como tamanho, cor e recursos produzidos promove a atração dos mesmos polinizadores (FIRETTI-LEGGIERI Capítulo 6) que culmina no fluxo gênico entre as populações simpátricas destes táxons. Segundo GRANT (1949, 1992), o isolamento floral (mecânico e etológico) representa uma das principais formas de isolamento reprodutivo entre táxons geneticamente próximos e, conseqüentemente um dos principais elementos geradores de novas espécies (SCOTT *et al.* 2003). Além da similaridade floral, os táxons do complexo *Anemopaegma arvense*, assim como outras espécies de Bignoniaceae, são intercompatíveis, ou seja, não possuem barreiras genéticas ou pós-zigóticas que impedem a formação de híbridos (BARROS 2001, BITTENCOURT Jr. 2003, BITTENCOURT Jr. & SEMIR 2005, FIRETTI-LEGGIERI Capítulo 6). Portanto, o fluxo de pólen proporcionado pela ausência de isolamento floral e a formação de progênie híbrida devido à inter-compatibilidade dos táxons têm papel fundamental na grande variação morfológica encontrada nestes táxons, o que acarreta a difícil delimitação taxonômica do grupo.

Na análise de agrupamento, envolvendo caracteres quantitativos de frutos e sementes das espécies e morfoespécies do complexo *Anemopaegma arvense*, foi possível reconhecer dois grupos separados pelo comprimento e pela largura dos frutos e das sementes (Figura 30). Apesar da formação de grupos, estes não corresponderam às espécies e sim, às dimensões apresentadas por tais elementos reprodutivos.

Assim como no agrupamento, podem ser reconhecidos dois grupos distintos nos gráficos de PCA (Figuras 31A e B). O Grupo I, formado por *A. arvense* “típica” e *A. scabriusculum*, é constituído por frutos e sementes com as menores dimensões, tendo *A. arvense* “típica” frutos com comprimento entre 4,9 e 7,2 (8,8) cm. Já *A. scabriusculum* pode ser separada das demais espécies por apresentar sementes diminutas, 2,4-2,5 x 2,6-3,1 cm, quando comparadas às das demais espécies com comprimento acima de 2,9 cm.

No eixo 1, as variáveis comprimento e largura do fruto e da semente explicaram positivamente a separação de *A. arvense* “típica”, que possuem frutos com até 5 cm de comprimento e de *A. scabriusculum* que apresentam as menores sementes quando comparadas às demais espécies. No eixo 2, as dimensões do embrião explicaram negativamente a separação de alguns exemplares de *A. arvense* e de *A. glaucum*. Da mesma forma que os caracteres florais, as dimensões do fruto e da semente não são informativos para a separação das espécies de *Anemopaegma* aqui abordadas, resultado que confirma o estado conservativo dos elementos reprodutivos neste grupo.

**Tabela 4.** Autovalores obtidos na análise de PCA a partir de dados padronizados dos caracteres vegetativos. Análise feita com todos os táxons. **1** = todas as espécies, **2**. variedades de *A. arvense* designadas na Flora Brasiliensis. **3**. *A. acutifolium* de acordo com o presente trabalho. **4**. *A. arvense* de acordo com o presente trabalho. **5**. variedades de *A. glaucum* designadas na Flora Brasiliensis. **6**. *A. glaucum* de acordo com o presente trabalho. **7**. Caracteres florais = análise com todas as espécies. **8**. Caracteres do fruto e da semente = análise com todas as espécies.

	Autovalores			% Variância obtida			% Variância esperada		
	1°	2°	3°	1°	2°	3°	1°	2°	3°
<b>1</b>	6,601483	2,595326	1,805640	50,68064	19,96405	13,88954	24,46257	16,77026	12,92411
<b>2</b>	8,020841	2,091160	1,562397	61,69878	16,08585	12,01844	24,46257	16,77026	12,92411
<b>3</b>	5,727862	3,257747	2,736642	44,06047	25,05959	21,05110	24,46257	16,77026	12,92411
<b>4</b>	7,562752	2,743342	0,675565	63,02294	22,86119	5,62970	25,86009	17,52676	13,36009
<b>5</b>	6,695634	2,864437	1,423040	51,50487	22,03413	10,94646	24,46257	16,77026	12,92411
<b>6</b>	6,145600	3,122438	1,482108	47,27385	24,01876	11,40083	24,46257	16,77026	12,92411
<b>7</b>	5,017908	2,746385	2,240612	25,08954	13,73192	11,20306	17,98870	12,98870	10,48870
<b>8</b>	3,196285	2,094400	1,564897	35,51428	23,27111	17,38775	31,43298	20,32187	14,76632

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

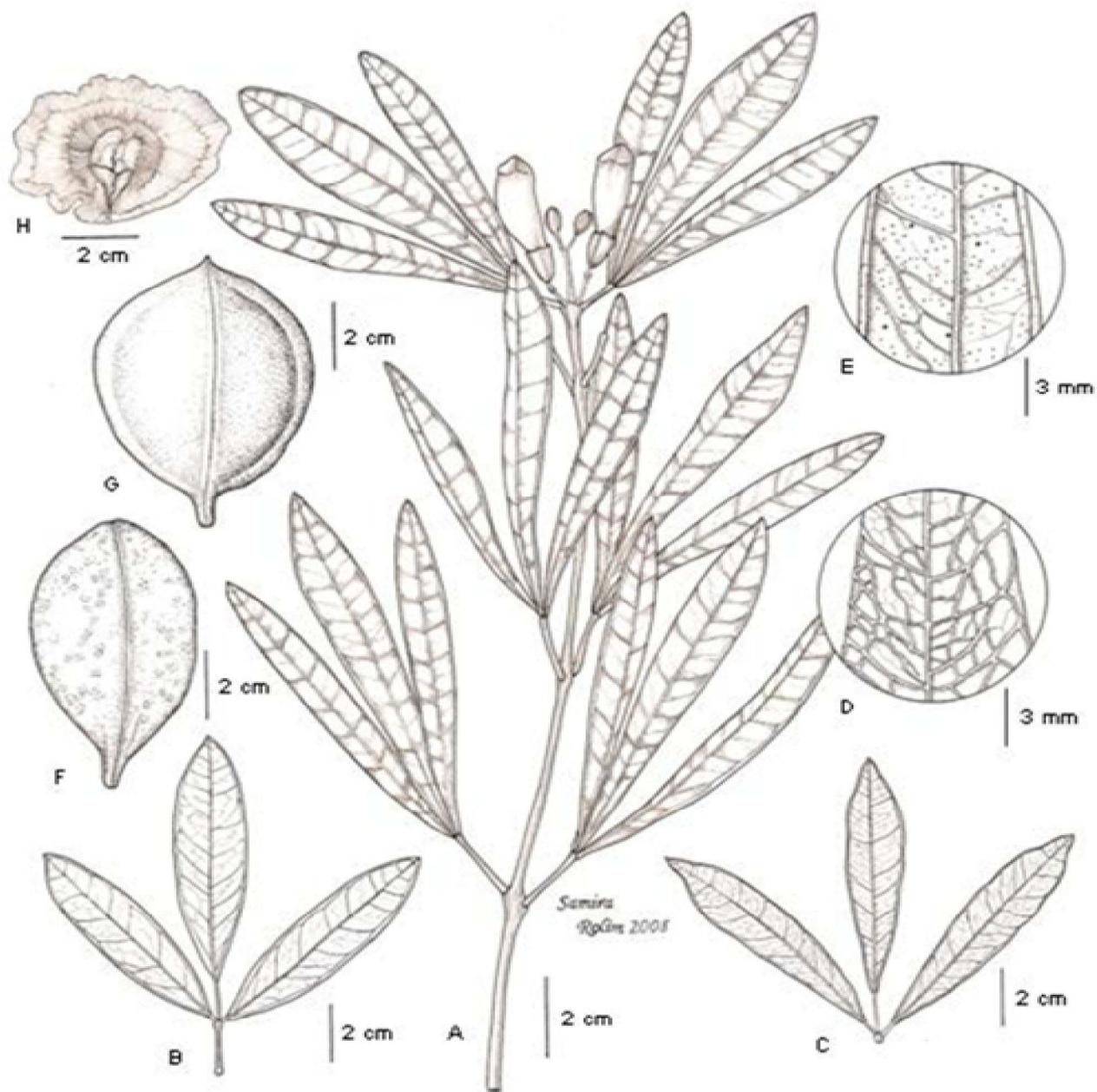
- Anderson E. 1949.** *Introgressive Hybridization*. John Wiley, New York.
- Batistini AP. 2006.** *Diversidade Morfológica, Genética e Química de Populações Naturais de Anemopaegma arvense (Vell.) Steff.* Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista, UNESP, Jaboticabal.
- Bittencourt Jr NS. 2003.** *Auto-incompatibilidade de ação tardia e outros sistemas reprodutivos em Bignoniaceae*. Tese de doutorado. UNICAMP. Campinas, São Paulo.
- Bittencourt Jr NS, Semir J. 2005.** Late-acting self-incompatibility and other breeding systems in *Tabebuia* (Bignoniaceae). *International Journal of Plant Science* **166**: 493-506.

- Borba EL, Shepherd GJ, van der Berg C, Semir J. 2002.** Floral and Vegetative Morphometrics of Five *Pleurothallis* (Orchidaceae) Species: Correlation with Taxonomy, Phylogeny, Genetic Variability and Pollination Systems. *Annals of Botany* **90**: 219-230.
- Bureau, E. & C. Schumann 1896.** Bignoniaceae. *Flora Brasiliensis*. Vol. VIII. Part. II. In: Martius, C.P.F., A.G. Eichler & I. Urban (eds). Págs. 1-228.
- De Candolle A. 1845.** Bignoniaceae. *Prodomus Systematis Naturalis regnis vegetabilis*. Paris, Treuttel et Wurtz. Paris IX. P.187-192.
- Duncan T, Baum BR. 1981.** Numerical phenetics: its uses in botanical systematics. *Annual Review of Ecology and Systematics* **12**: 387-404.
- Ferreira MB. 1973.** Bignoniaceae do Distrito Federal – I O Gênero *Anemopaegma* Mart. *Oréades* **6**: 28-39.
- Fischer E, Theisen I, Lohmann L.G. 2004.** Bignoniaceae. In: Kadereit JW, Kubitzki K. (Org.). *The families and genera of vascular plants*. 1 ed. Heidelberg, vol. 7 p.9-98.
- Gentry AH. 1973.** Bignoniaceae. *Flora do Panamá* **60**: 781-977.
- Grant V. 1949.** Pollination systems as isolating mechanisms in Angiosperms. *Evolution* **3**: 82-97.
- Grant V. 1971.** *Plant Speciation*. Columbia University Press. New York and London.
- Grant V. 1992.** Floral Isolation between Ornithophilous and Sphingophilous Species of *Ipomopsis* and *Aquigelia*. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **89**: 11828-11831.
- James FC, McCulloch CE. 1990.** Multivariate analysis in ecology and systematics: panacea or pandora's box? *Annual Review of Ecology and Systematics* **21**: 129-166.
- Lohmann LG, Pirani JR. 2003.** Flora de Grão-Mogol, Minas Gerais: Bignoniaceae. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo* **21**: 109-121.
- Lohmann LG. 2006.** Untangling the Phylogeny of Neotropical Lianas (Bignoniaceae-Bignoniaceae). *American Journal of Botany* **93**: 304-318.
- Lohmann LG.** no prelo. A New Generic Classification of Bignoniaceae (Bignoniaceae) Based on Molecular Phylogenetic Data and Morphological Synapomorphies.
- Perez APF. 2005.** Estudos anatômicos e fenéticos subsidiando a taxonomia no complexo *Zornia diphylla* (L.) Pers. (Leguminosae, Papilionoideae, Aeschynomeneae). Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP.
- Pinheiro F. 2005.** Avaliação das relações intra e interespecíficas no complexo *Epidendrum secundum* e espécies afins (Orchidaceae) através de AFLP. Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo (USP), São Paulo, SP.

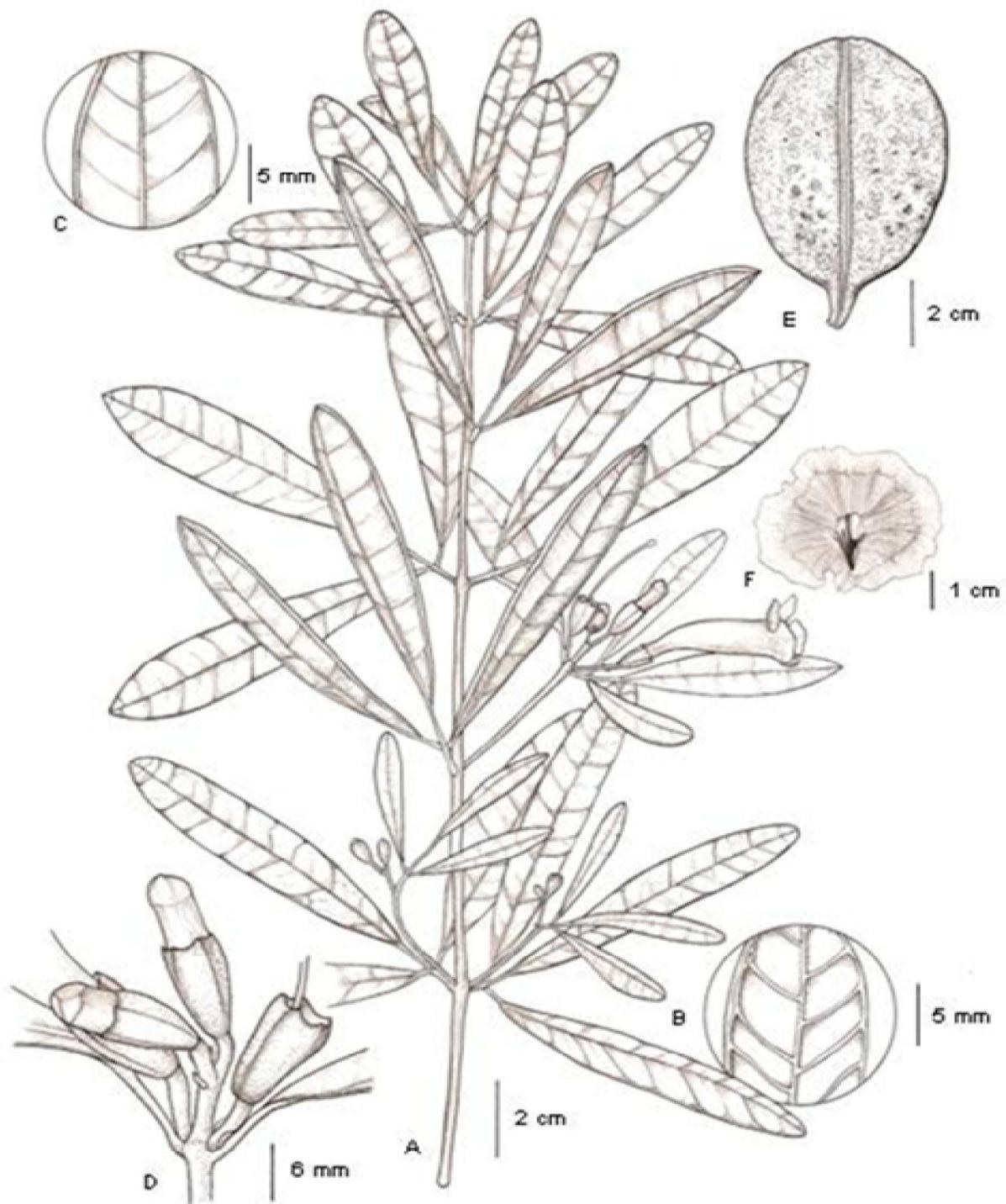
- Rieseberg LH. 1997.** Hybrid origins of plant species. *Annual Review of Ecology and Systematics* **28**: 359-389.
- Sampaio DS, Bittencourt Jr. NS, Oliveira PE. 2008.** Reproductive Biology and Hybridization of Two Cerrado *Adenocalymma* Species (Bignoniaceae). XX International Congress on Sexual Plant Reproduction. Brasília, DF.
- Sandwith NY, Hunt DR. 1974.** Bignoniáceas. In: Reitz R. (ed.). *Flora ilustrada catarinense*. Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí.
- Shepherd GJ. 2008.** FITOPAC 2. Departamento de Botânica, Universidade Estadual de Campinas.
- Silva, M.M. & L.P. Queiroz 2003.** A família Bignoniaceae na região de Catolés, Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. *Sitientibus Série Ciências Biológicas* **3**: 3-21.
- Sneath PHA, Sokal RR. 1973.** *Numerical taxonomy: the principals and practice of numerical classification*. San Francisco. 573 p.
- Scott AH, Fulton M, Yang JY, Whittall JB. 2003.** Verne Grant and evolutionary studies of *Aquigelia*. *New Phytologist* **161**: 113-120.
- Tovar-Sanchez E, Oyama K. 2004.** Natural hybridization and hybrid zones between *Quercus crassifolia* and *Quercus crassipes* (Fagaceae) in Mexico: Morphological and molecular evidence. *American Journal of Botany* **91**: 1352-1363.
- Tsukaya H, Fukuda T, Yokoyama J. 2003.** Hybridization and introgression between *Callicarpa japonica* and *C. mollis* (Verbenaceae) in central Japan, as inferred from nuclear and chloroplast DNA sequences. *Molecular Ecology* **12**: 3003-3011.
- Vanderhoeven S, Hardy O, Vekemans X, Lefébre C, Loose M, Lambinon J, Meerts P. 2002.** A morphometric study of populations of the *Centaurea jacea* complex (Asteraceae) in Belgium. *Plant Biology* **4**: 403-412.
- Weeks A, Simpsons B. 2004.** Molecular genetic evidence for interspecific hybridization among endemic hispaniolan *Bursera* (Burseraceae). *American Journal of Botany* **9**: 976-984.



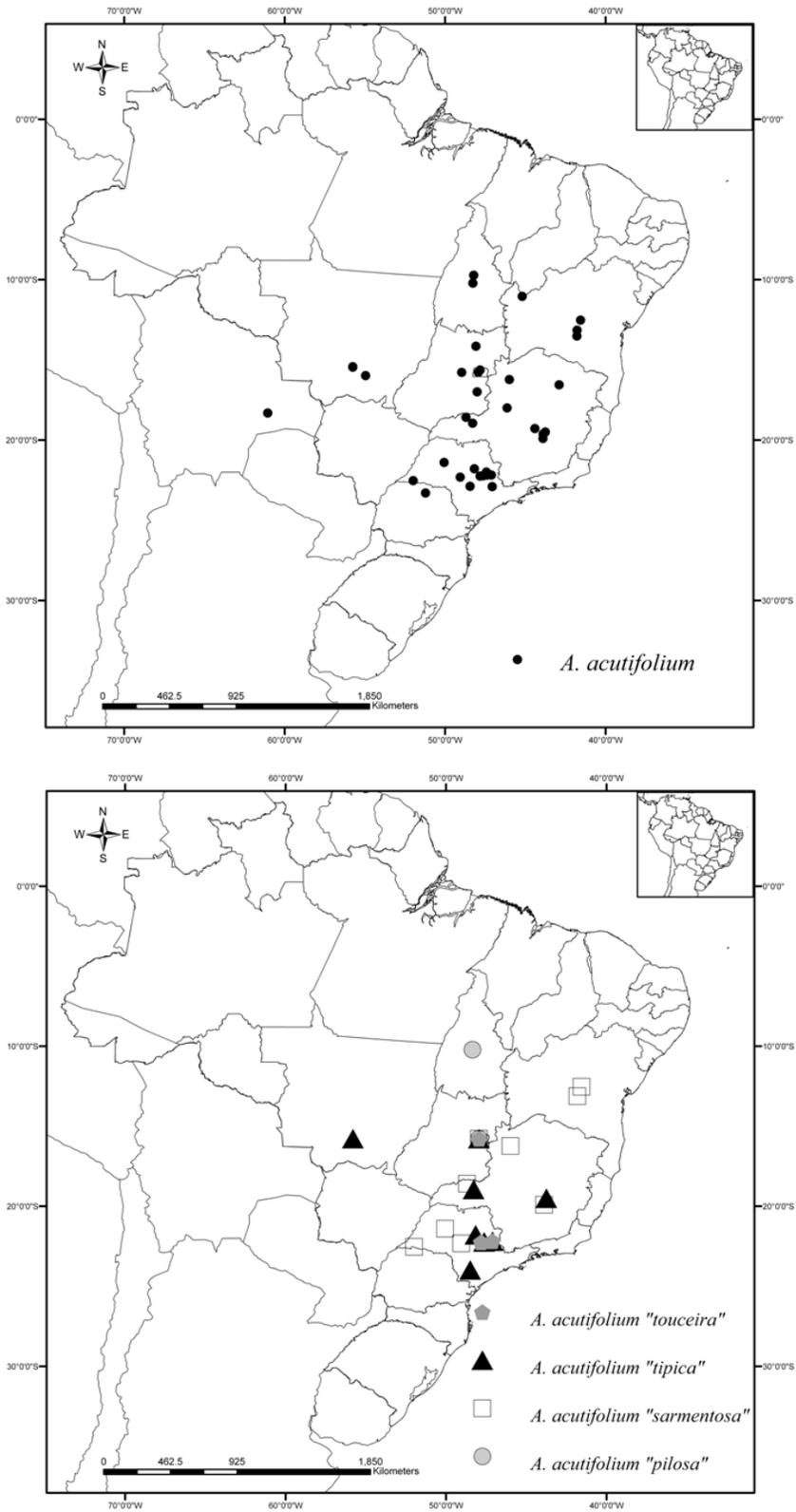
**Figura 1.** *Anemopaegma acutifolium* DC. **A-B.** *A. acutifolium* "típica". **A.** Hábito arbustivo. **B.** Flor jovem. **C-D.** *A. acutifolium* "touceira". **C.** Hábito. **D.** Detalhe de folhas e fruto imaturo. **E-H.** *A. acutifolium* "sarmentosa". **E.** Frutos imaturos. **F.** Aspecto geral de indivíduo estéril; ramos escandentes. **G.** Aspecto geral de indivíduo florido. **H.** Detalhe de inflorescência racemiforme pauciflora. **I-J.** *A. acutifolium* "pilosa". **I.** Detalhe de frutos imaturos; pericarpo indumentado. **J.** Aspecto geral de indivíduo florido; indivíduo formando touceira com ramos prostrados. **K-L.** *A. acutifolium*. **K.** Aspecto geral; ramos prostrados. **L.** Detalhe de folhas e frutos imaturos.



**Figura 2.** *Anemopaegma acutifolium* DC. **A.** Ramo florido; inflorescência terminal. **B-C.** Variação morfológica das folhas **B.** Folha peciolada. **C.** Folha séssil. **D.** Detalhe da venação da face adaxial. **E.** Detalhe da venação da face abaxial. **F-G.** Pericarpo do fruto maduro; variação no formato e no ápice. **H.** Semente alada.



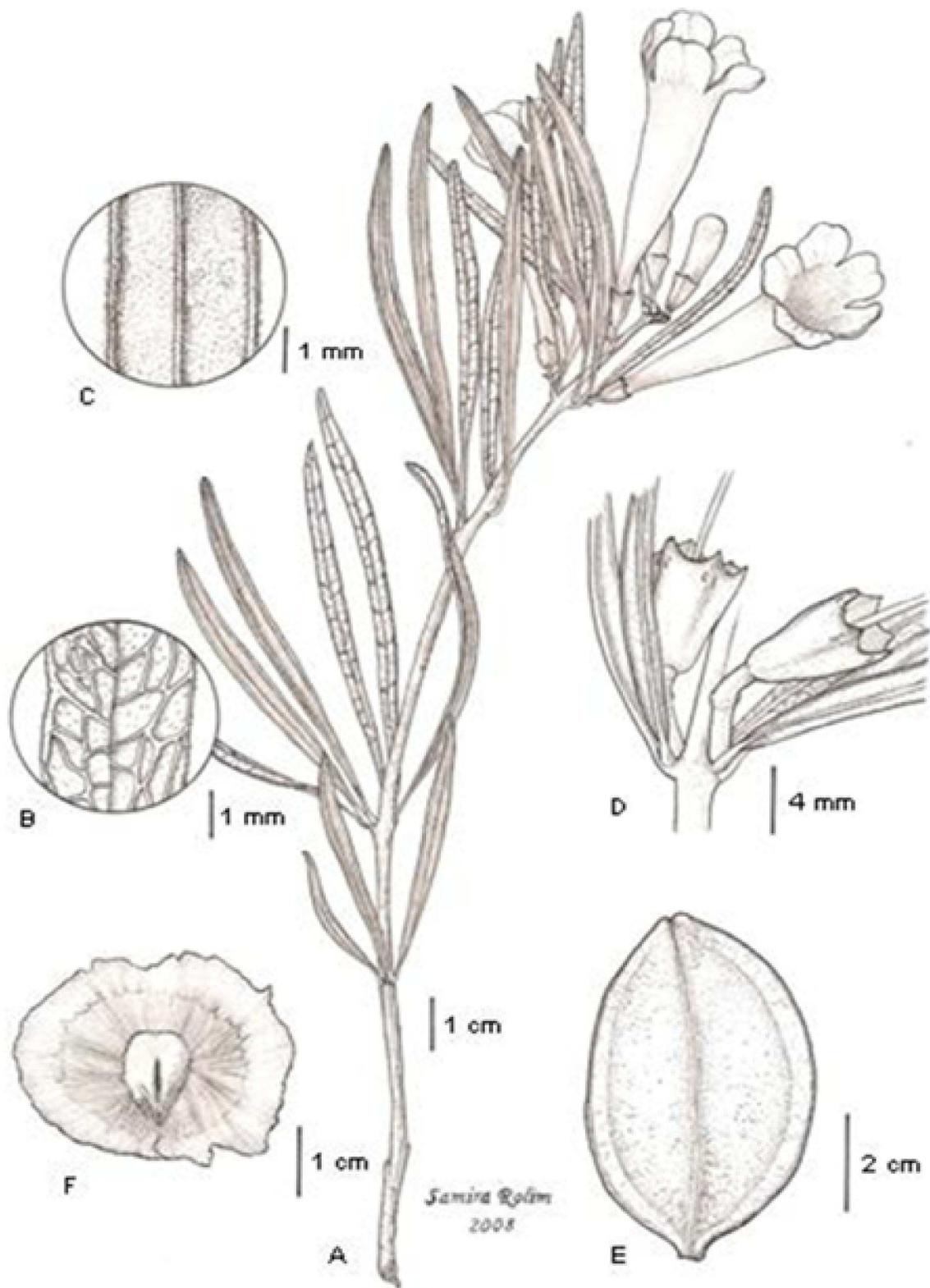
**Figura 3.** *Anemopaegma acutifolium* "pilosa". **A.** Ramo florido; inflorescências axilares. **B.** Detalhe da venação da face adaxial. **C.** Detalhe da venação da face abaxial. **D.** Detalhe da inflorescência racemiforme pauciflora. **E.** Fruto maduro. **F.** Semente alada.



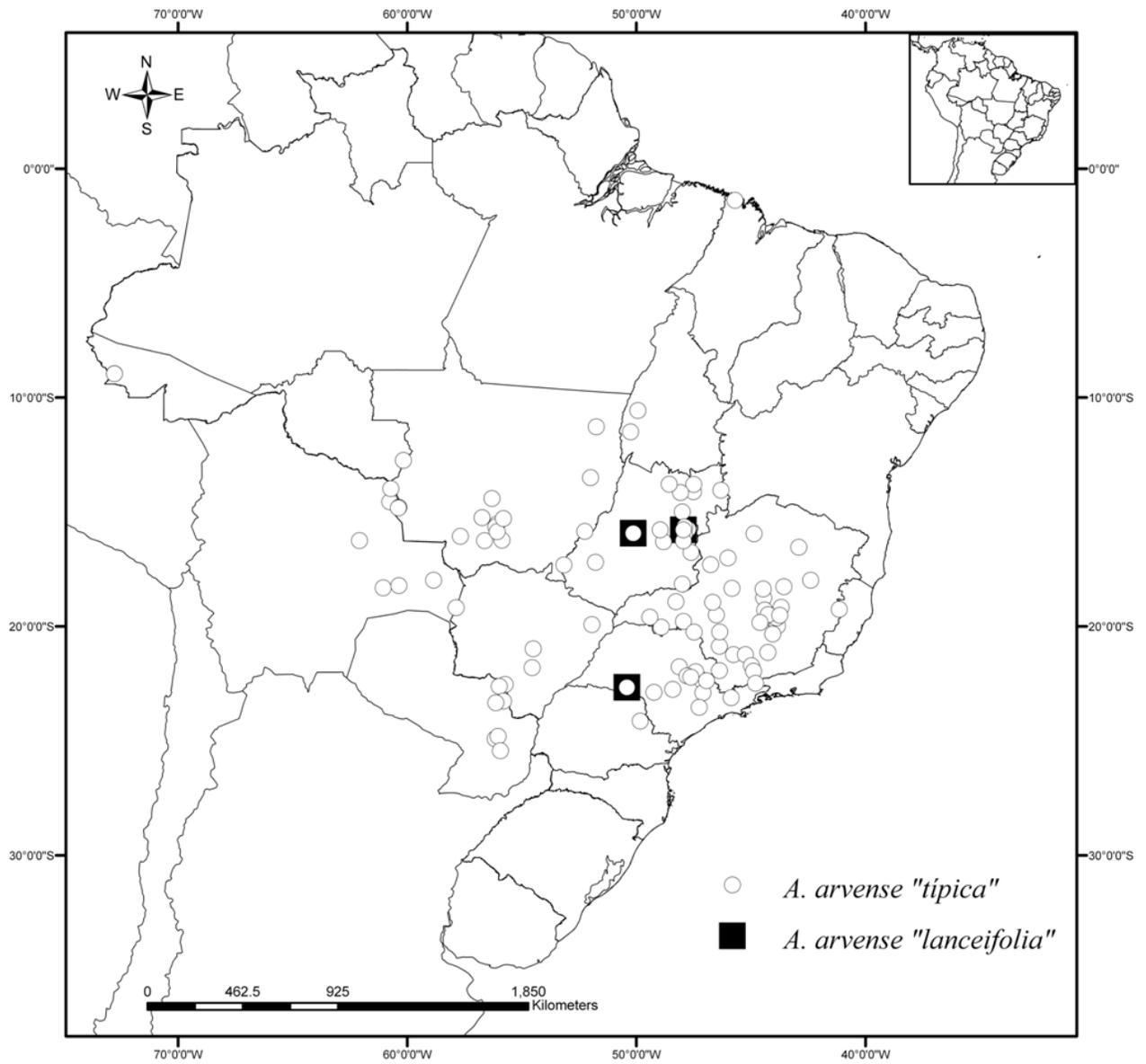
**Figura 4. A.** Distribuição geográfica de *Anemopaegma acutifolium* DC. **B.** Distribuição geográfica das morfoespécies de *A. acutifolium*.



**Figura 5.** *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza. **A.** Aspecto geral de indivíduo florido após passagem de fogo. **B.** Detalhe de ramo florido mostrando inflorescências axilares reduzidas a uma única flor. **C.** Aspecto geral de indivíduo em época de frutificação. **D.** Detalhe de fruto imaturo com pericarpo glabro. **E.** Detalhe de frutos imaturos com pericarpo indumentado. **F-G.** *Anemopaegma arvense* "lanceifolia". **F.** Aspecto geral de indivíduo em período de floração. **G.** Ramo florido; detalhe de folhas oblanceoladas e inflorescências axilares reduzidas a uma única flor.



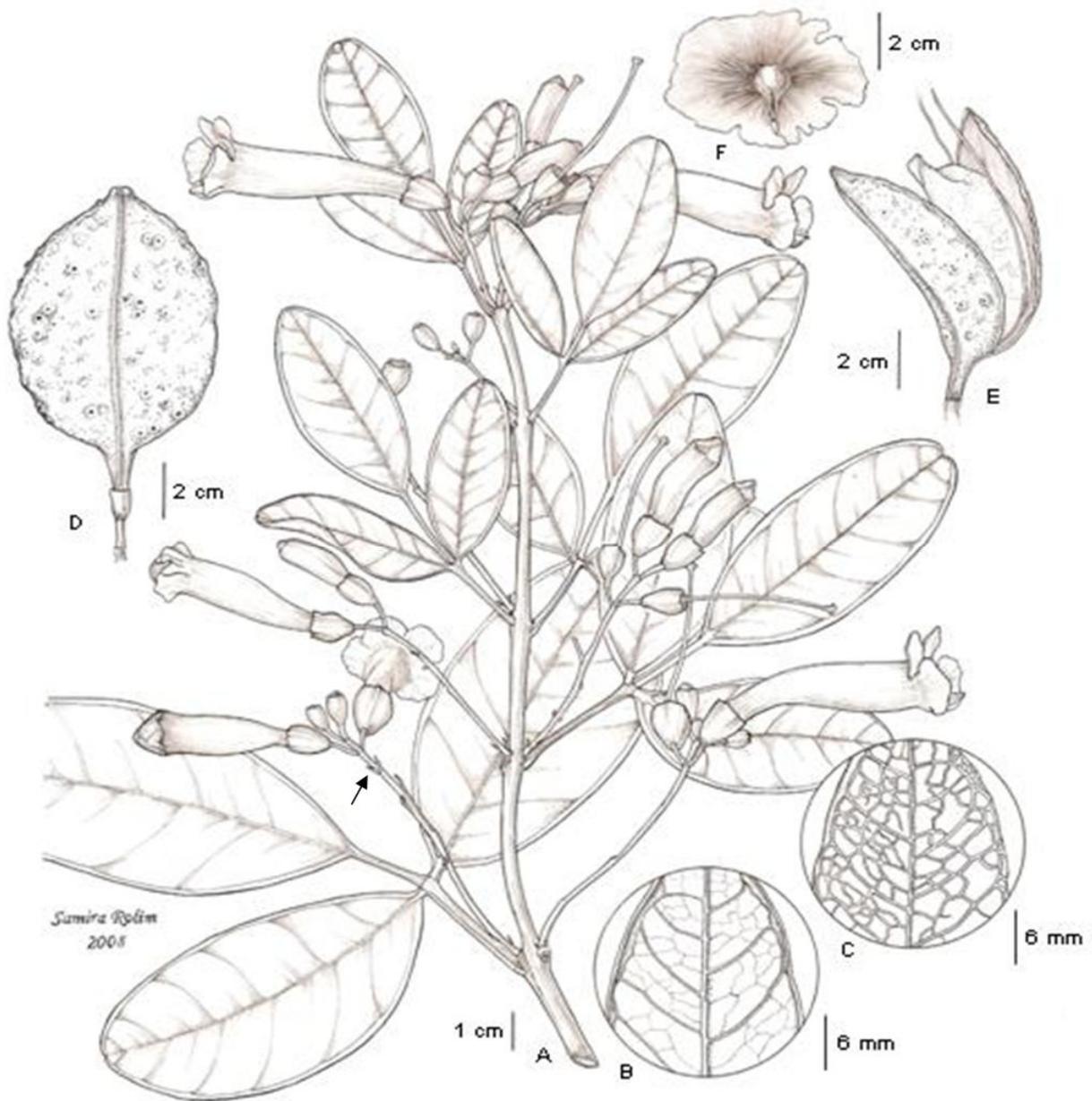
**Figura 6.** *Anemopaegma arvense* (Vell.) Steff. ex de Souza. **A.** Ramo florido. **B.** Detalhe da venação na face adaxial. **C.** Detalhe da venação na face abaxial e margem revoluta. **D.** Detalhe das inflorescências axilares reduzidas a uma única flor. **E.** Pericarpo do fruto maduro. **F.** Semente alada.



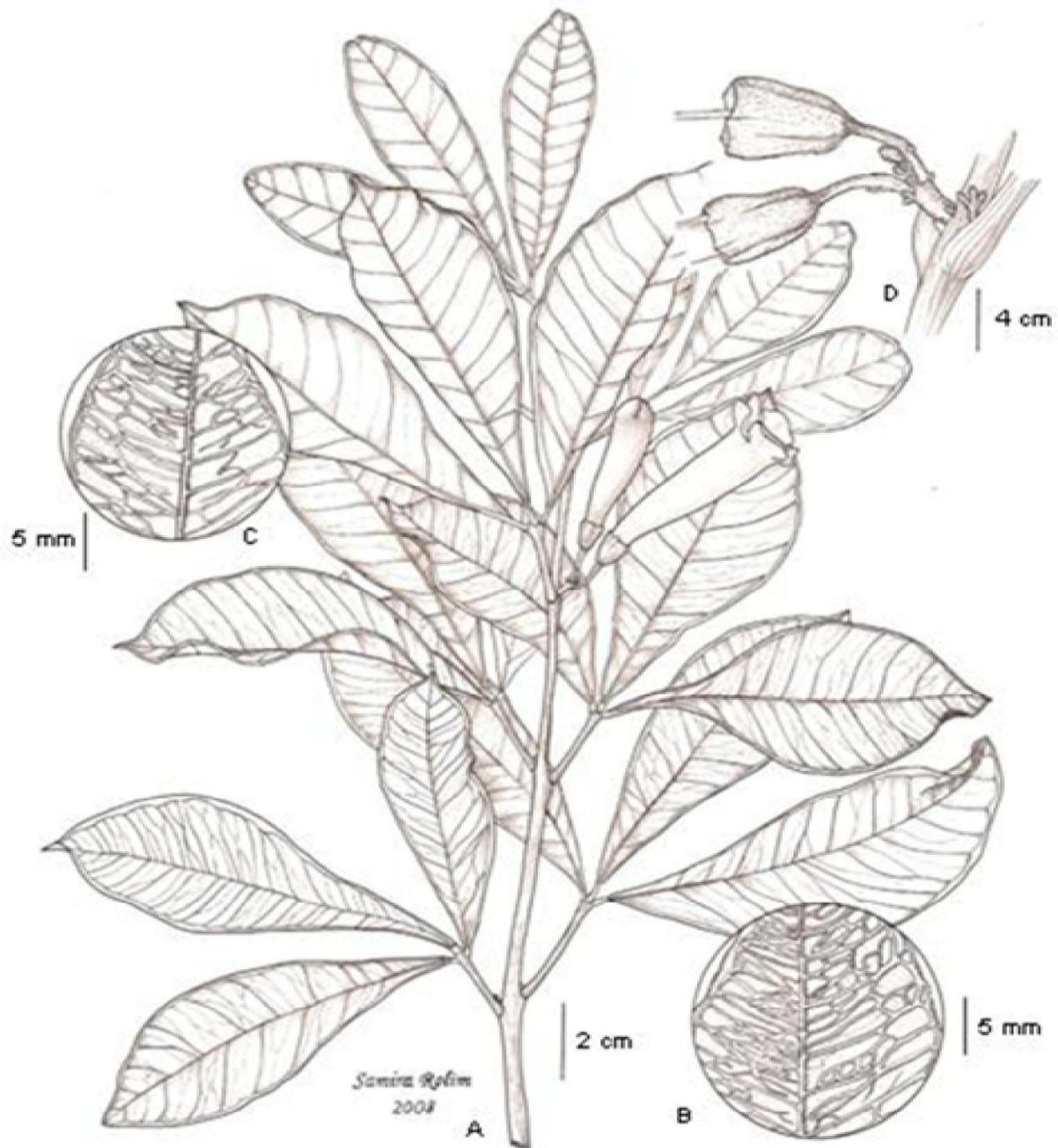
**Figura 7.** Distribuição geográfica de *Anemopaegma arvense* (Vell). Stelf. ex de Souza.



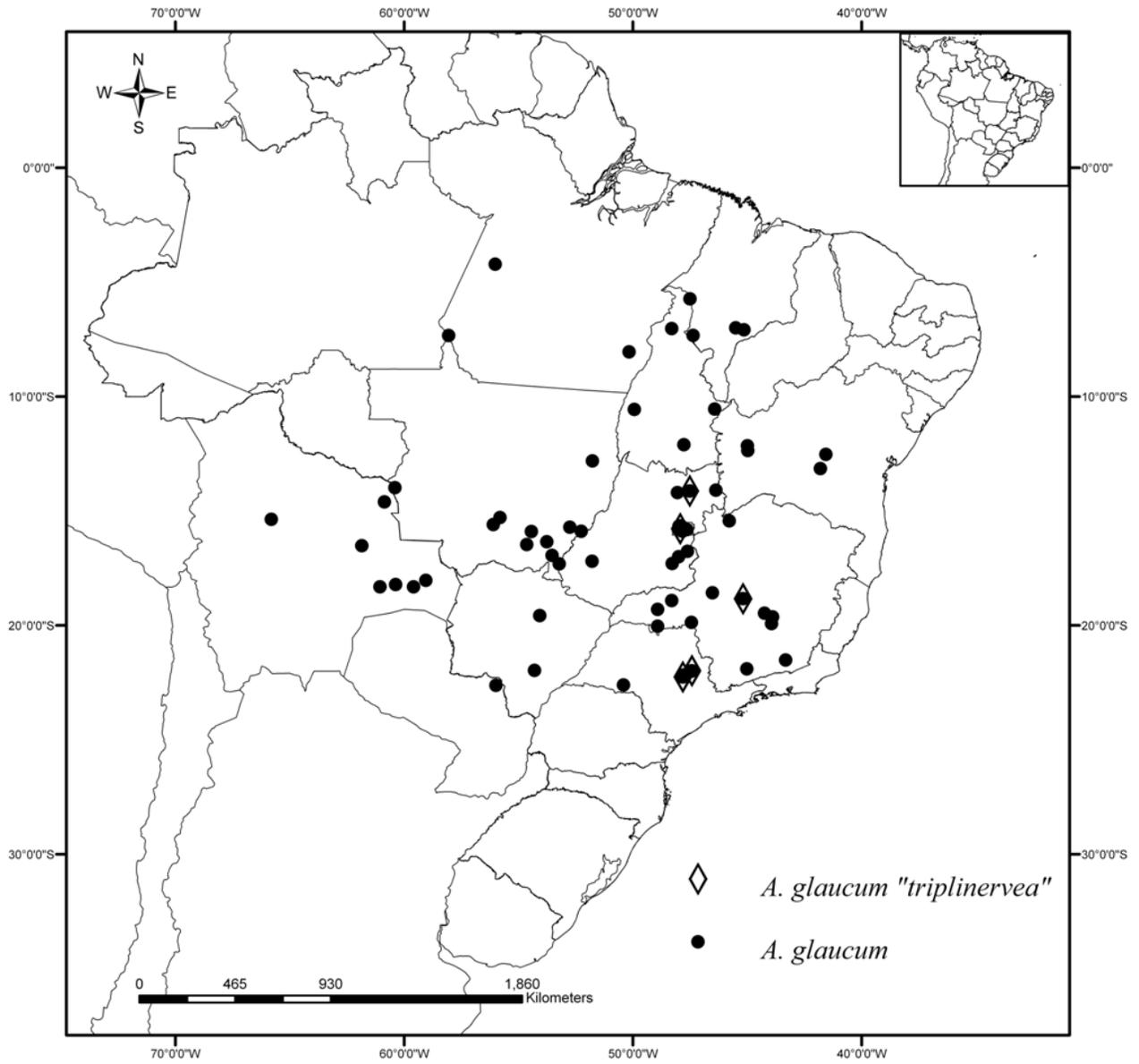
**Figura 8.** *Anemopaegma glaucum* Mart. ex DC. **A e C.** Aspecto geral de *A. glaucum* “típica”; hábito arbustivo, caule e folhas glaucas. **B, D e I.** Aspecto geral de indivíduos floridos de *A. glaucum* “não glauca”. **E.** *A. glaucum* “triplinérvea”; aspecto geral de indivíduo florido. **F.** Detalhe de inflorescência de *A. glaucum*; flores abertas e botões em diferentes fases de desenvolvimento. **G.** Frutos imaturos de *A. glaucum* “não glauca” sem pruinose. **H.** Frutos imaturos de *A. glaucum* “típica”; pericarpo com pruinose. **J.** Fruto maduro de *A. glaucum*; pericarpo lenhoso com pruinose; eixo seminífero e réplum; sementes aladas.



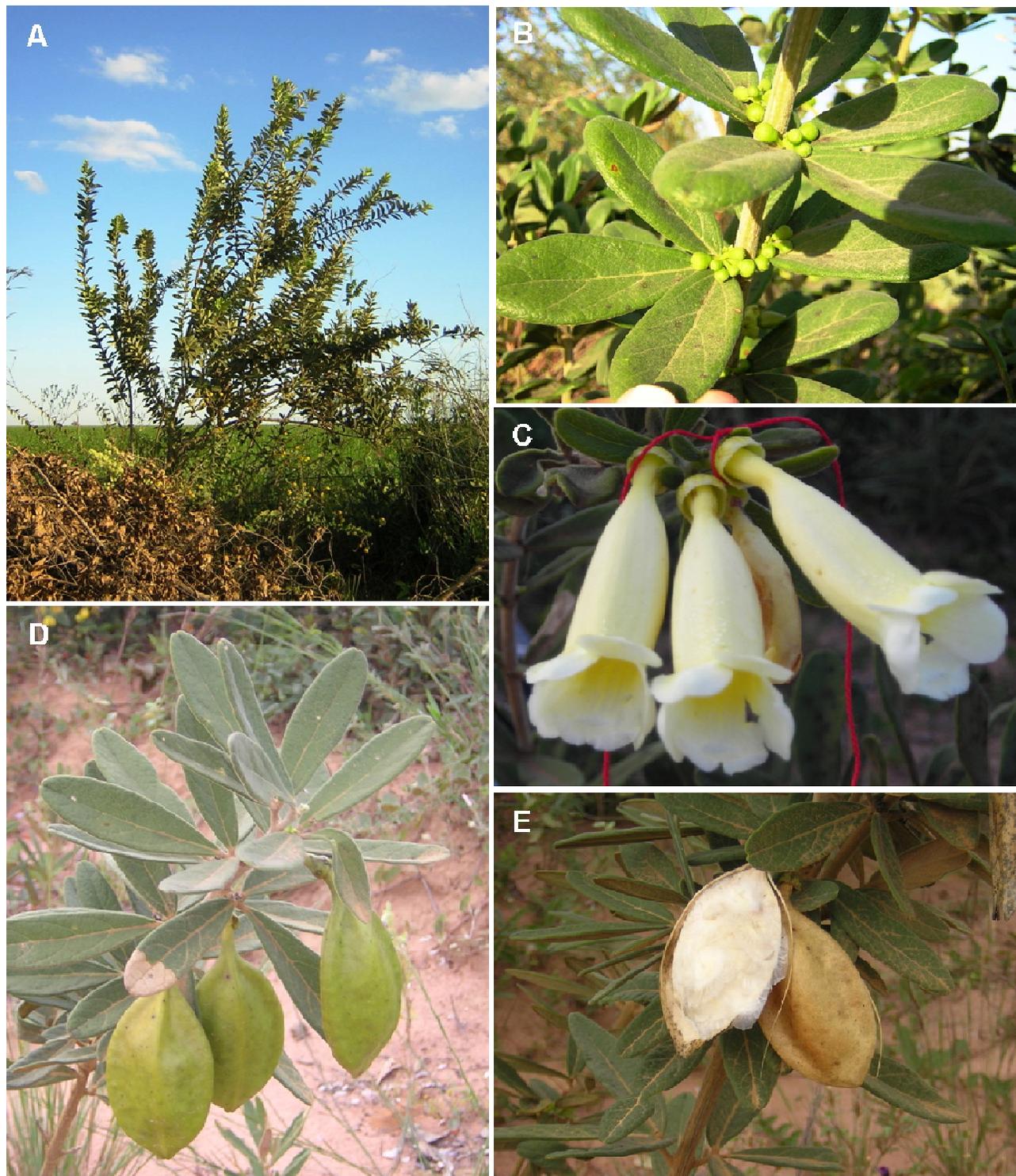
**Figura 9.** *Anemopaegma glaucum* Mart. ex DC. **A.** Ramo florido; inflorescências axilares e terminal; detalhe de brácteas sésseis e simples (seta). **B.** Face adaxial; nervuras principal e secundárias proeminentes nesta face. **C.** Face abaxial; detalhe da venação. **D.** Fruto maduro estipitado; pericarpo lenhoso com nectários. **E.** Fruto maduro deiscente; detalhe eixo seminífero e réplum fibroso. **F.** Semente alada.



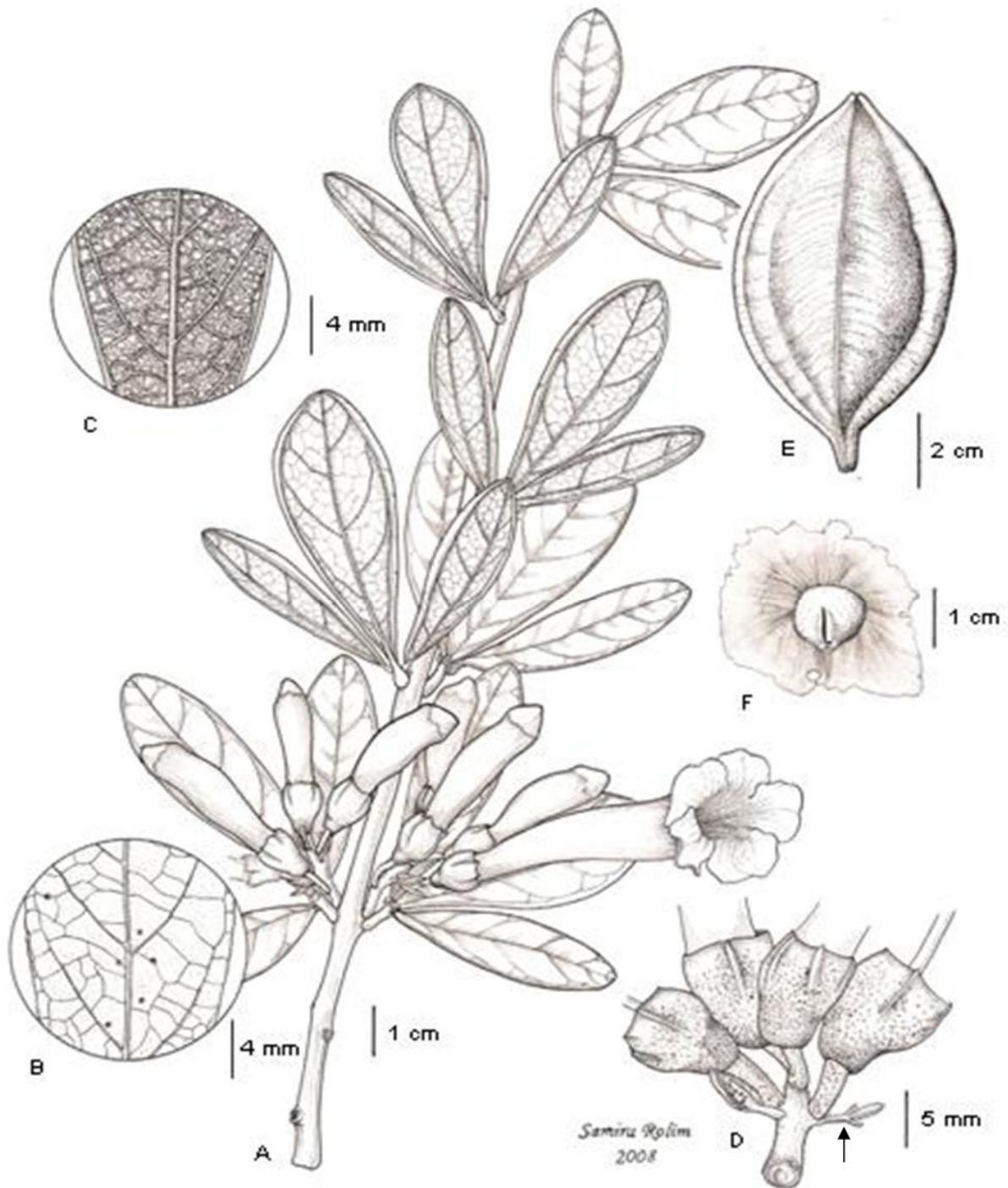
**Figura 10.** *Anemopaegma glaucum* "triplinérvea pilosa". **A.** Ramo florido. **B.** Detalhe da venação da face adaxial. **C.** Detalhe da venação da face abaxial. **D.** Detalhe da inflorescência.



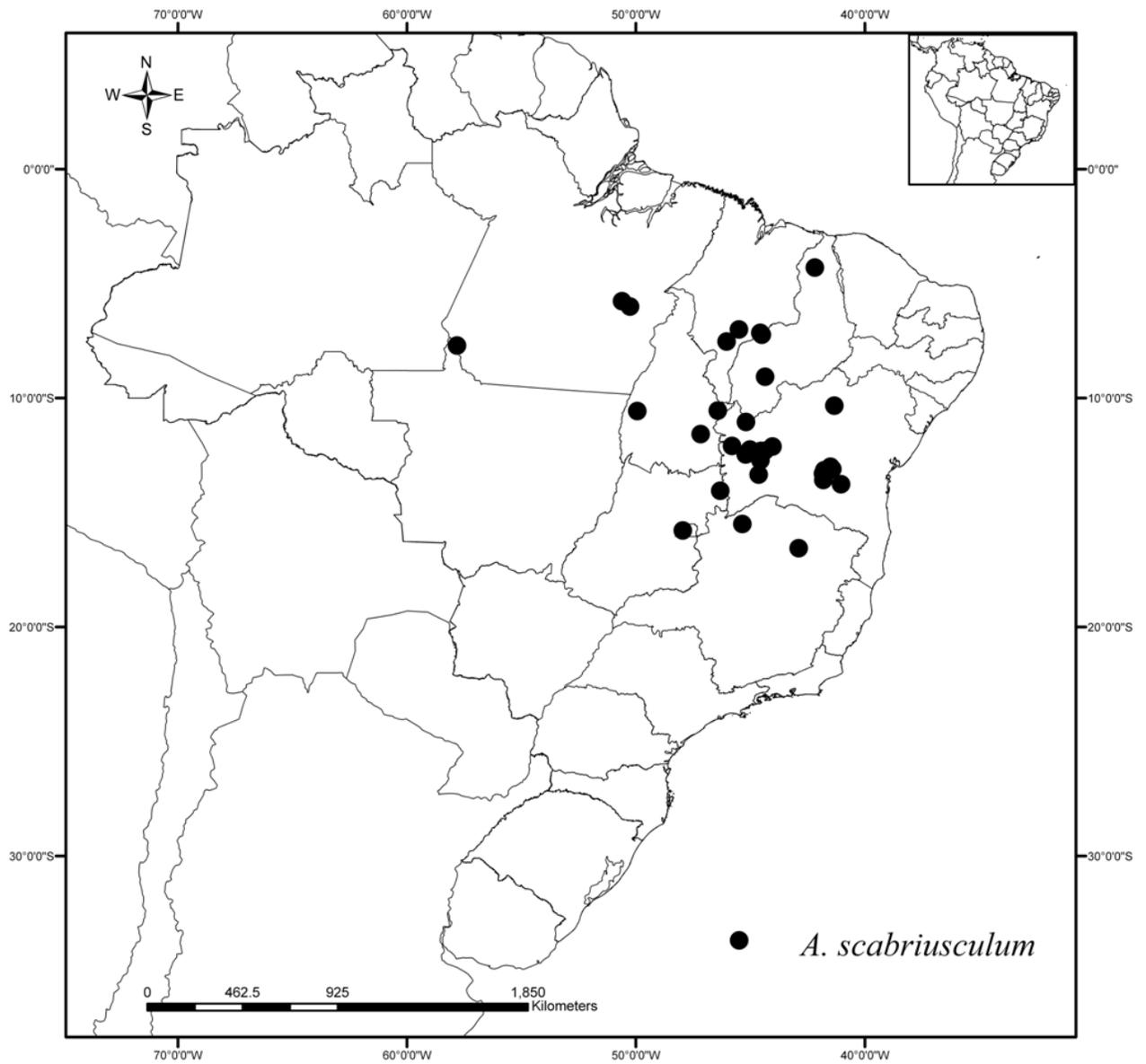
**Figura 11.** Distribuição geográfica de *Anemopaegma glaucum* Mart. ex DC.



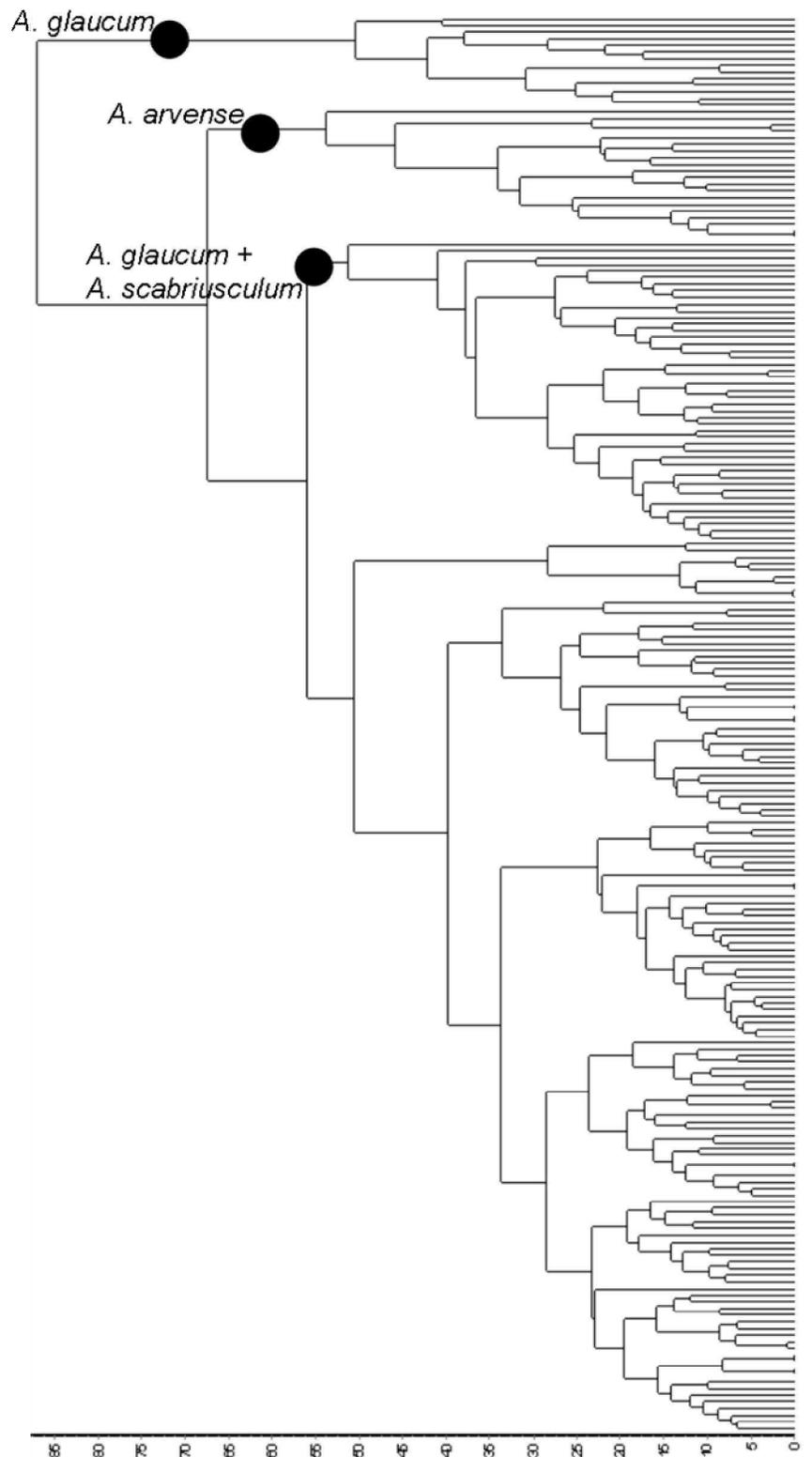
**Figura 12.** *Anemopaegma scabriusculum* Mart. ex DC. **A.** Aspecto geral da planta. **B.** Inflorescências axilares; flores em estágio de botão. **C.** Flores abertas. **D.** Frutos imaturos; pericarpo liso e glabro. **E.** Frutos maduros dispersando sementes aladas.



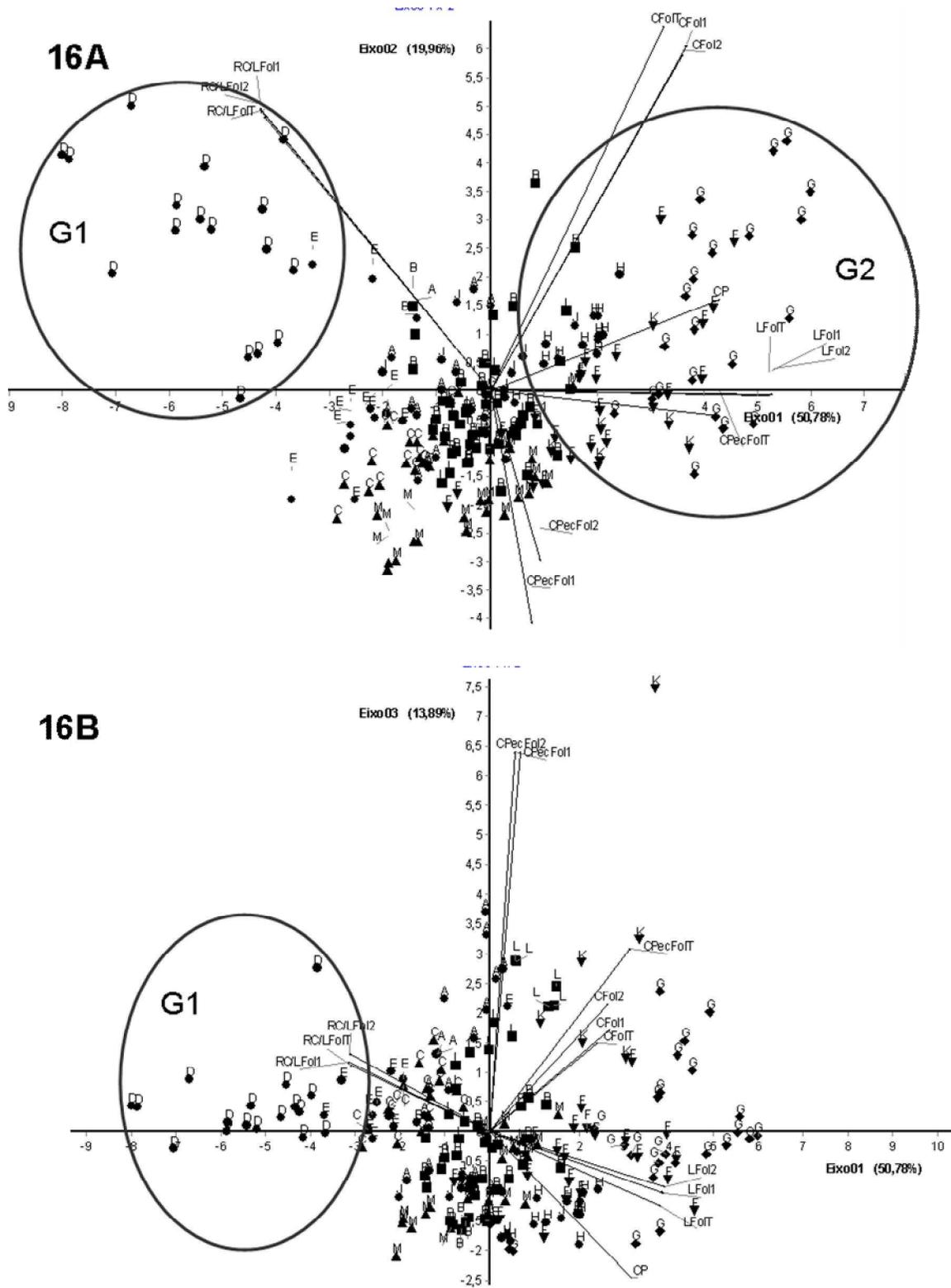
**Figura 13.** *Anemopaegma scabriusculum* Mart. ex DC. **A.** Ramo florido; inflorescências axilares. **B.** Face adaxial; detalhe da venação e pontuações. **C.** Face abaxial; detalhe da venação. **D.** Inflorescência; detalhe brácteas pecioladas e 3-laminadas (seta). **E.** Fruto maduro; pericarpo abaulado na região mediana. **F.** Semente alada.



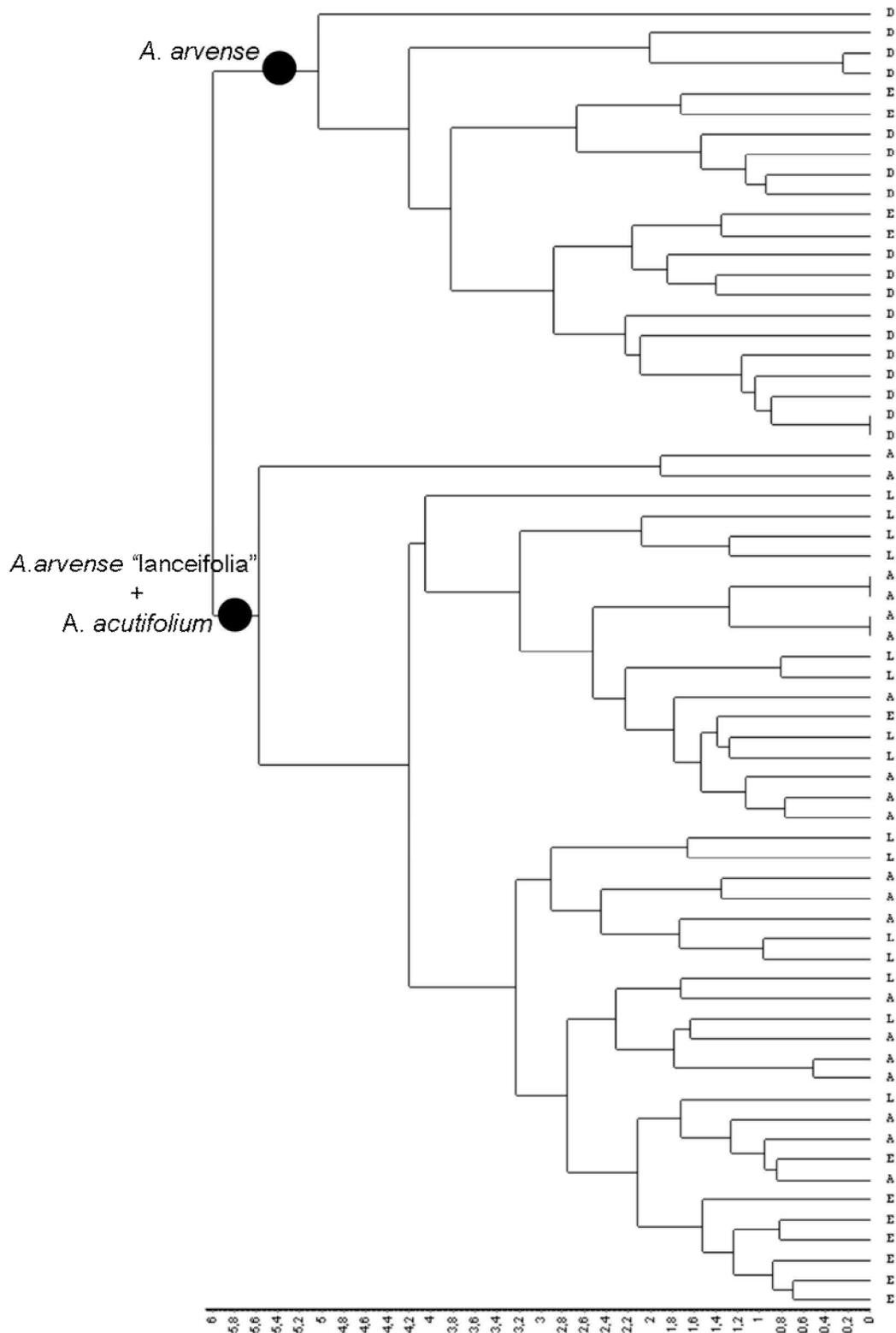
**Figura 14.** Distribuição geográfica de *Anemopaegma scabriusculum* Mart. ex DC.



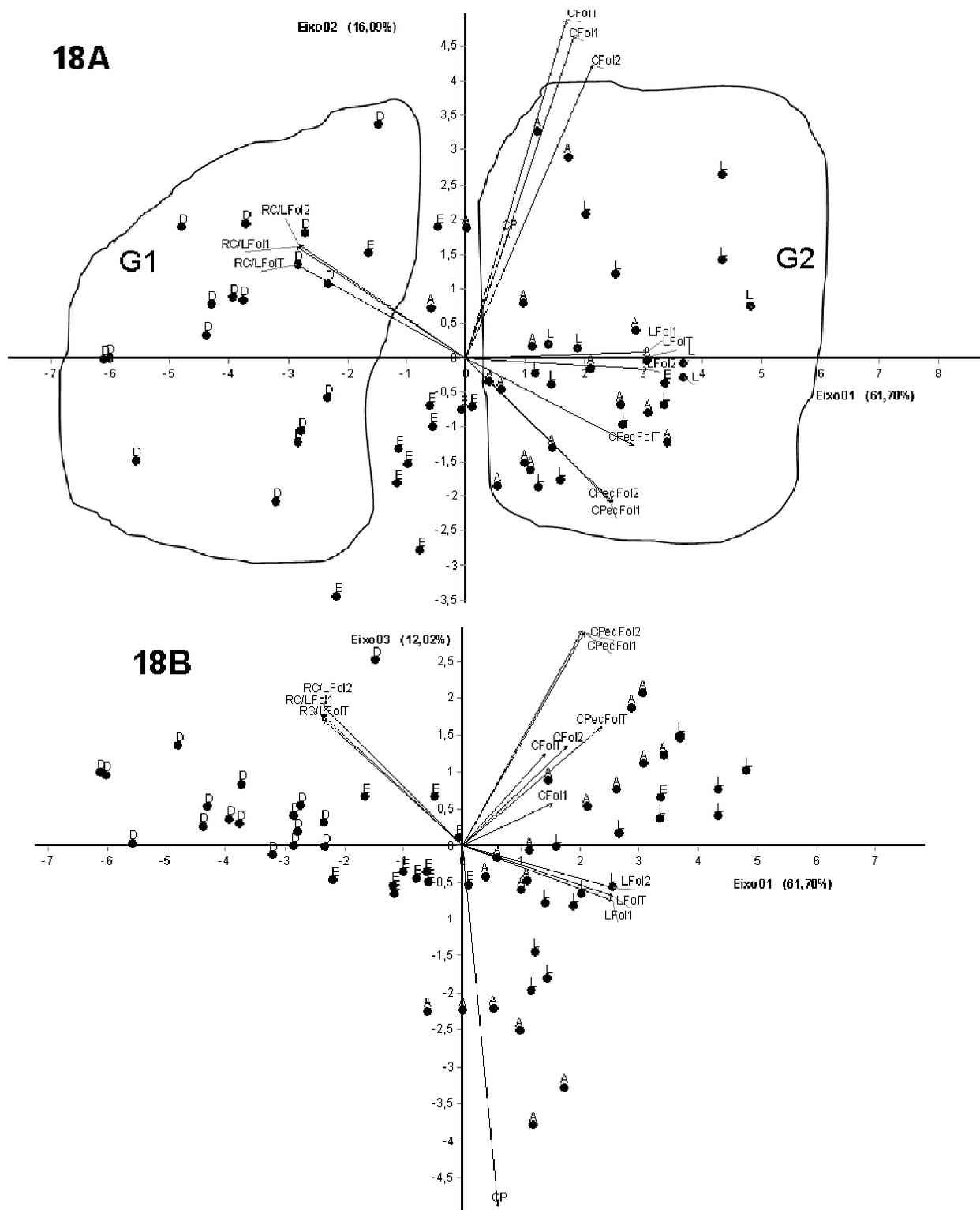
**Figura 15.** Dendrograma gerado a partir de caracteres foliares das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*. Análise de agrupamento UPGMA com coeficiente Distância Euclidiana Simples utilizando dados estandardizados. Correlação cofenética = 0,7384. **A** = *A. acutifolium* "típica". **B**. *A. acutifolium* "sarmentosa". **C**. *A. acutifolium* "touceira". **D**. *A. arvense* "típica". **E**. *A. arvense* "lanceifolia". **F**. *A. glaucum* "não glauca". **G**. *A. glaucum* "típica". **H**. *A. glaucum* "triplínervia glabra". **J**. *A. glaucum* "triplínervia pilosa". **K**. *A. glaucum* "pubescente". **L**. *A. acutifolium* "pilosa". **M**. *A. scabriusculum*.



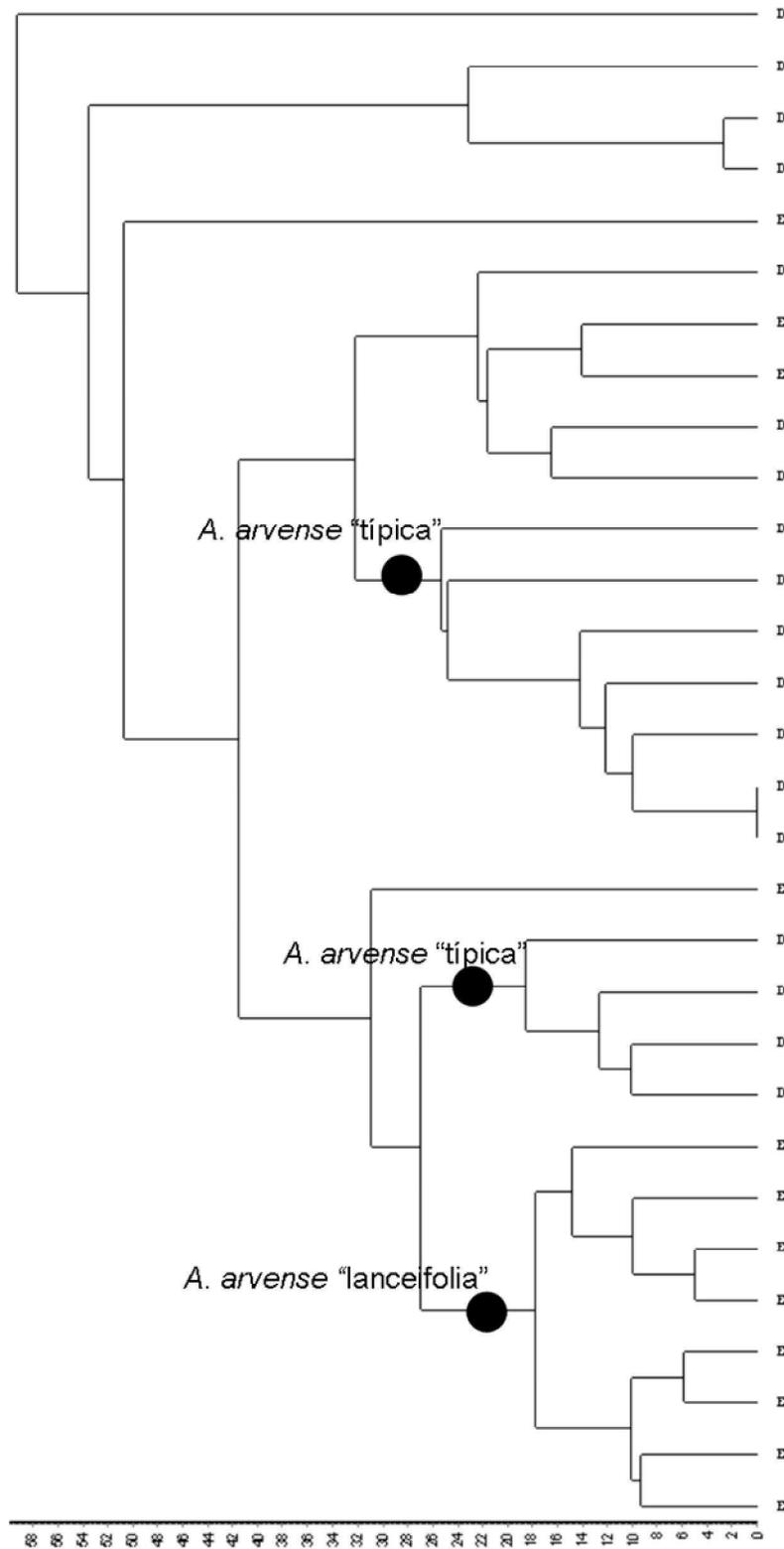
**Figura 16.** Análise de ordenação PCA. Biplot. Caracteres foliares das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*. Dados estandarizados. **16A.** Eixos 1 e 2. **16B.** Eixos 1 e 3. Símbolos das morfoespécies: **A** = *A. acutifolium* “típica”. **B.** *A. acutifolium* “sarmentosa”. **C.** *A. acutifolium* “touceira”. **D.** *A. arvense* “típica”. **E.** *A. arvense* “lanceifolia”. **F.** *A. glaucum* “não glauca”. **G.** *A. glaucum* “típica”. **H.** *A. glaucum* “triplínervia glabra”. **J.** *A. glaucum* “triplínervia pilosa”. **K.** *A. glaucum* “pubescente”. **L.** *A. acutifolium* “pilosa”. **M.** *A. scabriusculum*. **G1** = Grupo *A. arvense*. **G2** = Grupo *A. glaucum*.



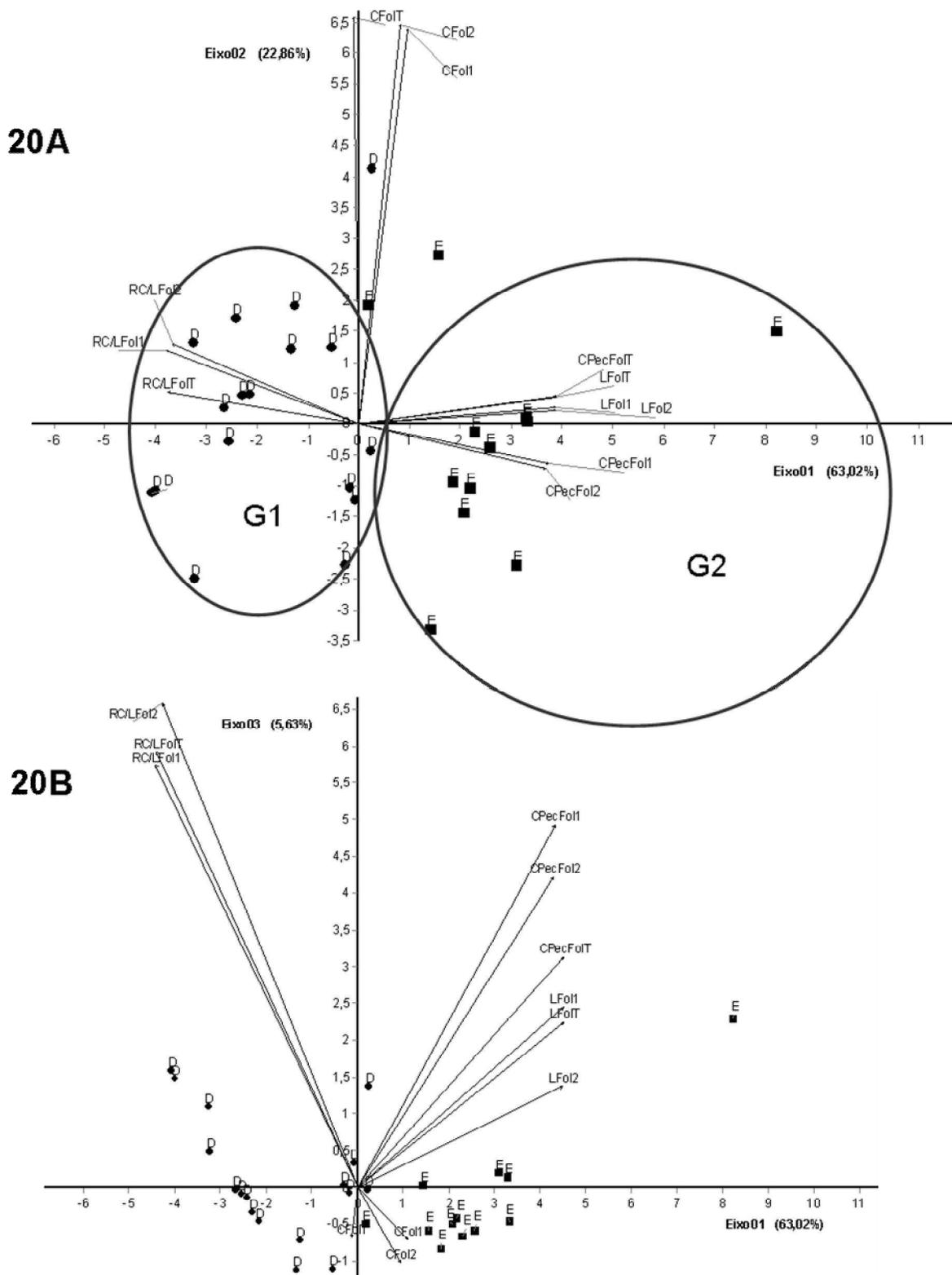
**Figura 17.** Dendrograma gerado a partir de caracteres foliares de morfoespécies identificadas por outros pesquisadores como *Anemopaegma arvense* e separadas, neste trabalho, em *A. acutifolium* e *A. arvense*. Análise de agrupamento UPGMA com Distância Euclidiana Simples. Dados estandardizados. Correlação cofenética = 0,7173. **A** = *A. acutifolium* “típica”. **C**. *A. acutifolium* “touceira”. **D**. *A. arvense* “típica”. **E**. *A. arvense* “lanceifolia”. **L**. *A. acutifolium* “pilosa”.



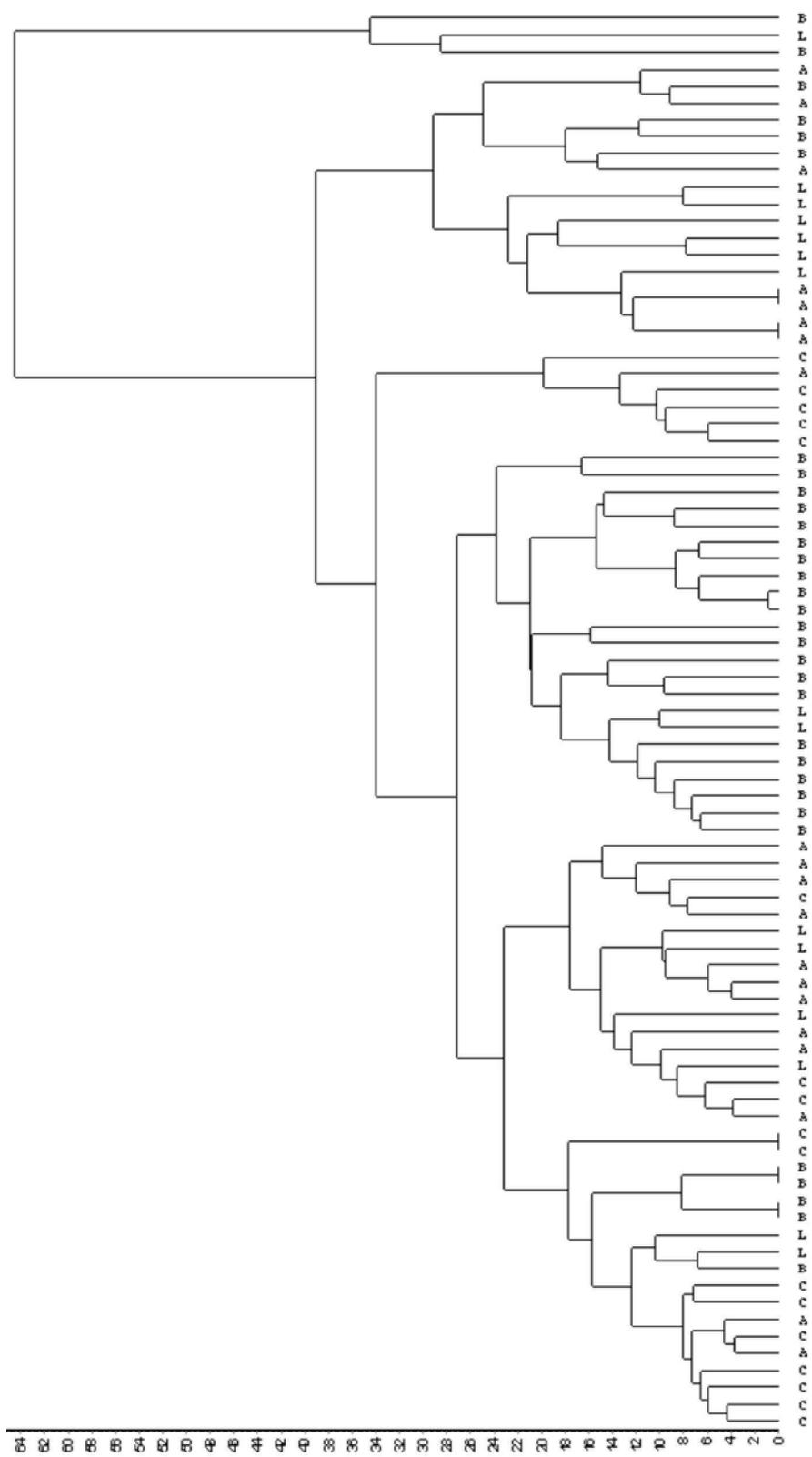
**Figura 18.** Análise de ordenação PCA. Biplot. Caracteres foliares das morfoespécies identificadas por outros pesquisadores como *Anemopaegma arvense* e separadas, neste trabalho, em *A. acutifolium* e *A. arvense*. Dados padronizados. **18A.** Eixos 1 e 2. **18B.** Eixos 1 e 3. Símbolos das morfoespécies: **A.** *A. acutifolium* "típica". **D.** *A. arvense* "típica". **E.** *A. arvense* "lanceifolia". **L.** *A. acutifolium* "pilosa".



**Figura 19.** Dendrograma gerado a partir de caracteres vegetativos das morfoespécies designadas, neste trabalho, como *Anemopaegma arvense*. Análise de agrupamento UPGMA com coeficiente Distância Euclidiana Simples. Dados estandarizados. Correlação cofenética = 0,7612. **D.** *A. arvense* "típica". **E.** *A. arvense* "lanceifolia".

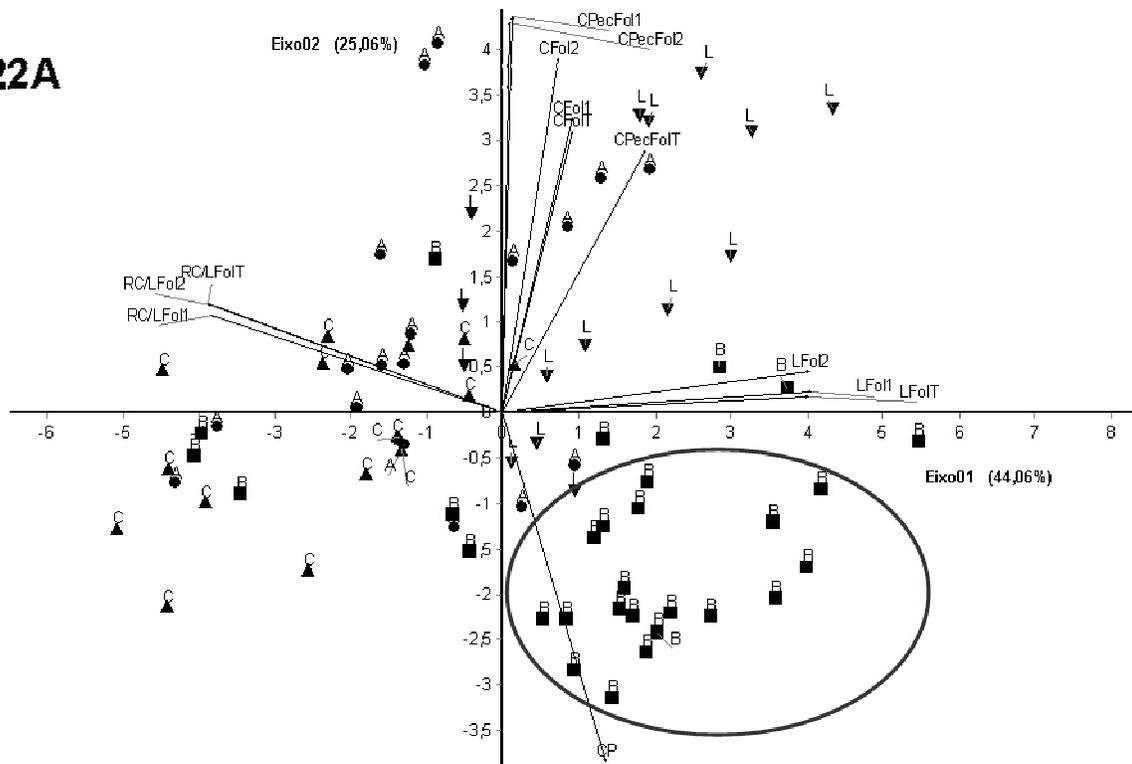


**Figura 20.** Análise de ordenação PCA. Biplot. Caracteres foliares das morfoespécies de *Anemopaegma arvense* designadas, neste estudo, com base nos caracteres morfológicos. Dados estandarizados. **20A.** Eixos 1 e 2. **20B.** Eixos 1 e 3. Símbolos das morfoespécies: **D.** *A. arvense* "típica". **E.** *A. arvense* "lanceifolia". **G1** = *A. arvense* "típica". **G2** = *A. arvense* "lanceifolia".

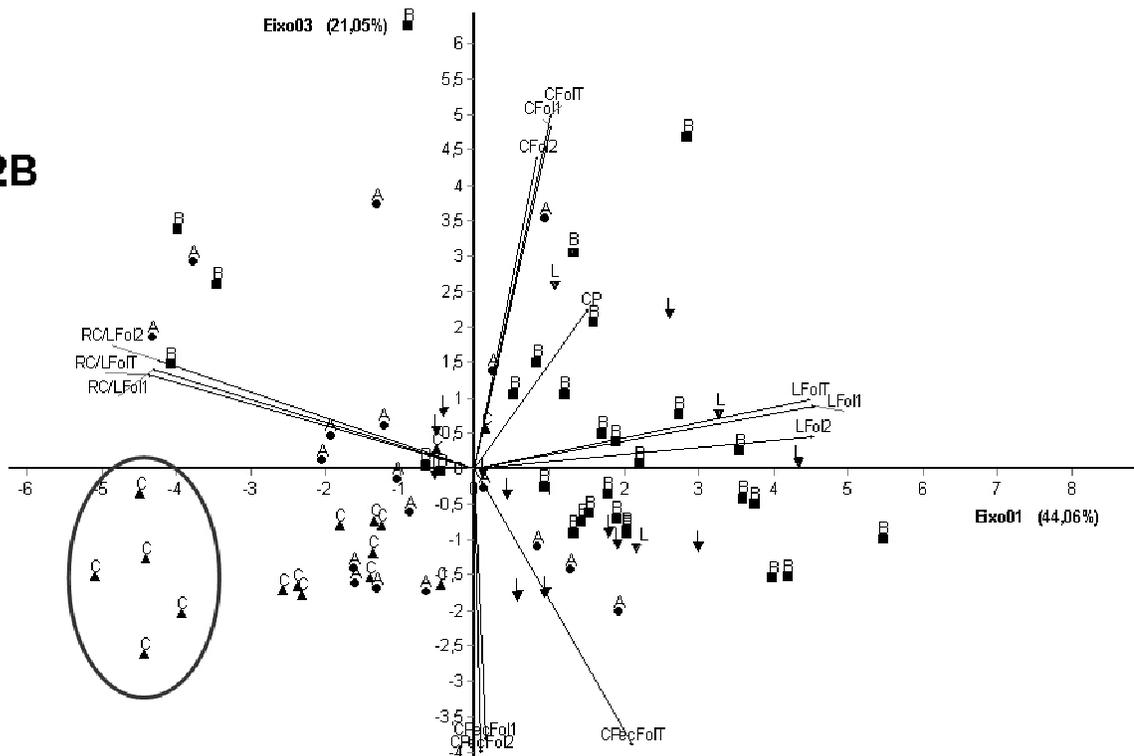


**Figura 21.** Dendrograma gerado a partir de caracteres foliares das morfoespécies designadas, neste trabalho, como *Anemopaegma acutifolium*. Análise de agrupamento UPGMA com coeficiente Distância Euclidiana Simples. Dados standardizados. Correlação cofenética = 0,7796. **A.** *A. acutifolium* “típica”. **B.** *A. acutifolium* “sarmentosa”. **C.** *A. acutifolium* “touceira”. **L.** *A. acutifolium* “pilosa”.

22A



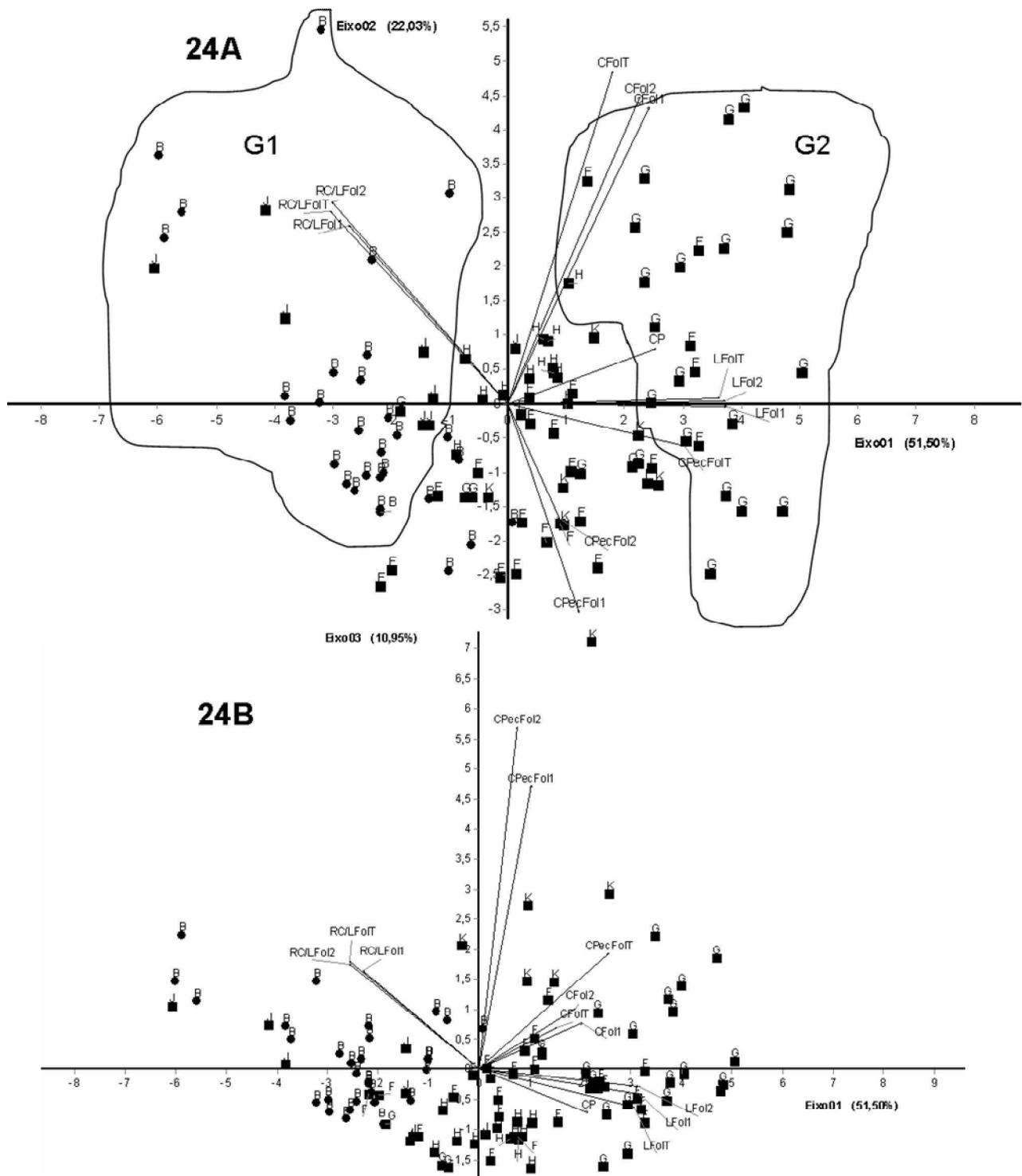
22B



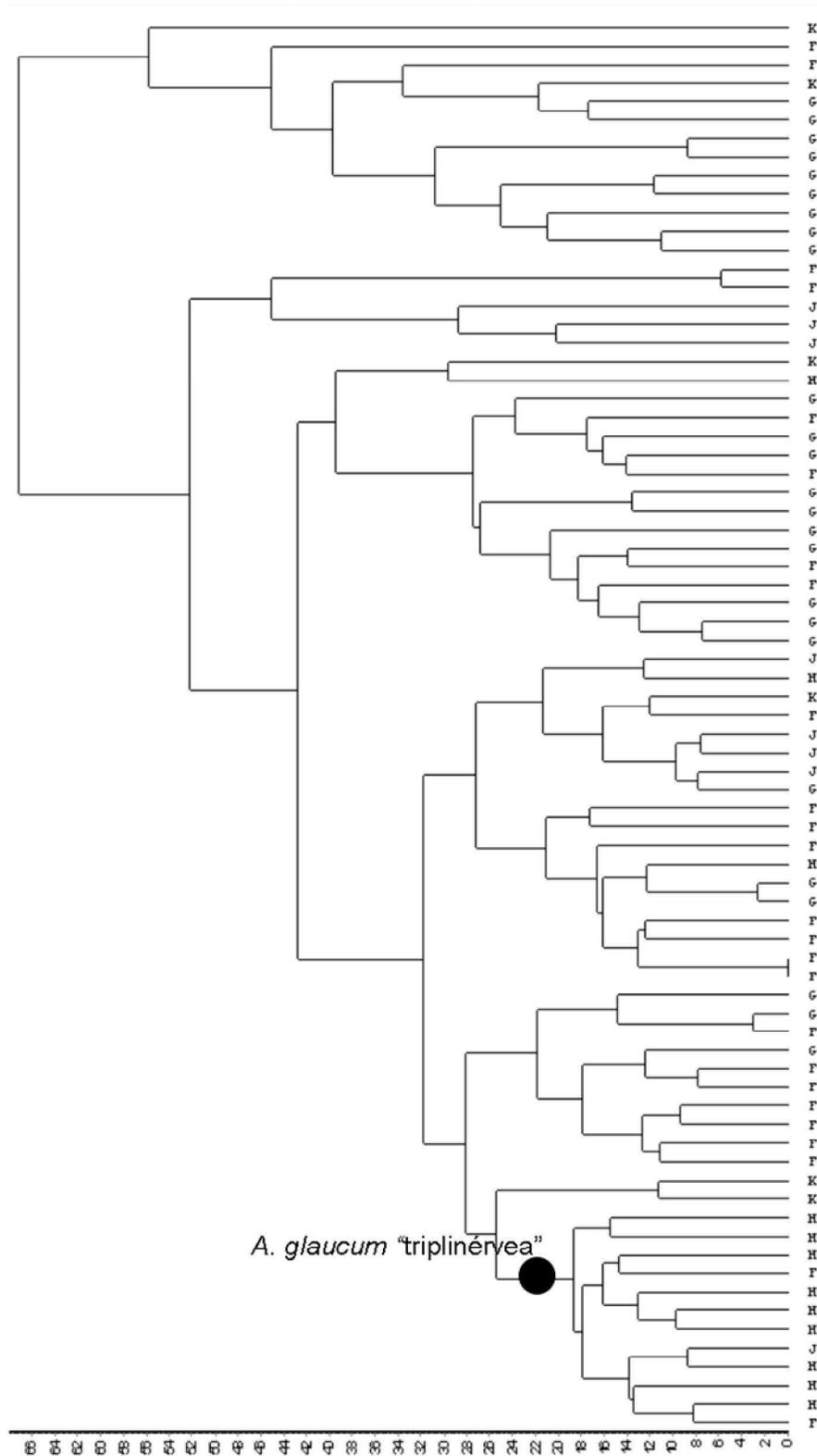
**Figura 22.** Análise de ordenação PCA. Biplot. Caracteres foliares das morfoespécies de *Anemopaegma acutifolium*, designadas neste estudo, com base nos caracteres morfológicos. Dados estandarizados. **22A.** Eixos 1 e 2. **22B.** Eixos 1 e 3. Símbolos das morfoespécies: **A** = *A. acutifolium* “típica”. **B.** *A. acutifolium* “sarmentosa”. **C.** *A. acutifolium* “touceira”. **L.** *A. acutifolium* “pilosa”.



**Figura 23.** Dendrograma gerado a partir de caracteres foliares das morfoespécies identificadas por outros pesquisadores como variedades de *Anemopaegma glaucum* e separadas, neste trabalho, em *A. acutifolium* "sarmentosa" e *A. glaucum*. Análise de agrupamento UPGMA com Distância Euclidiana Simples. Dados standardizados. Correlação cofenética = 0,7980. **B.** *A. acutifolium* "sarmentosa". **F.** *A. glaucum* "não glauca". **G.** *A. glaucum* "típica". **H.** *A. glaucum* "triplínervia glabra". **J.** *A. glaucum* "triplínervia pilosa". **K.** *A. glaucum* "pubescente".



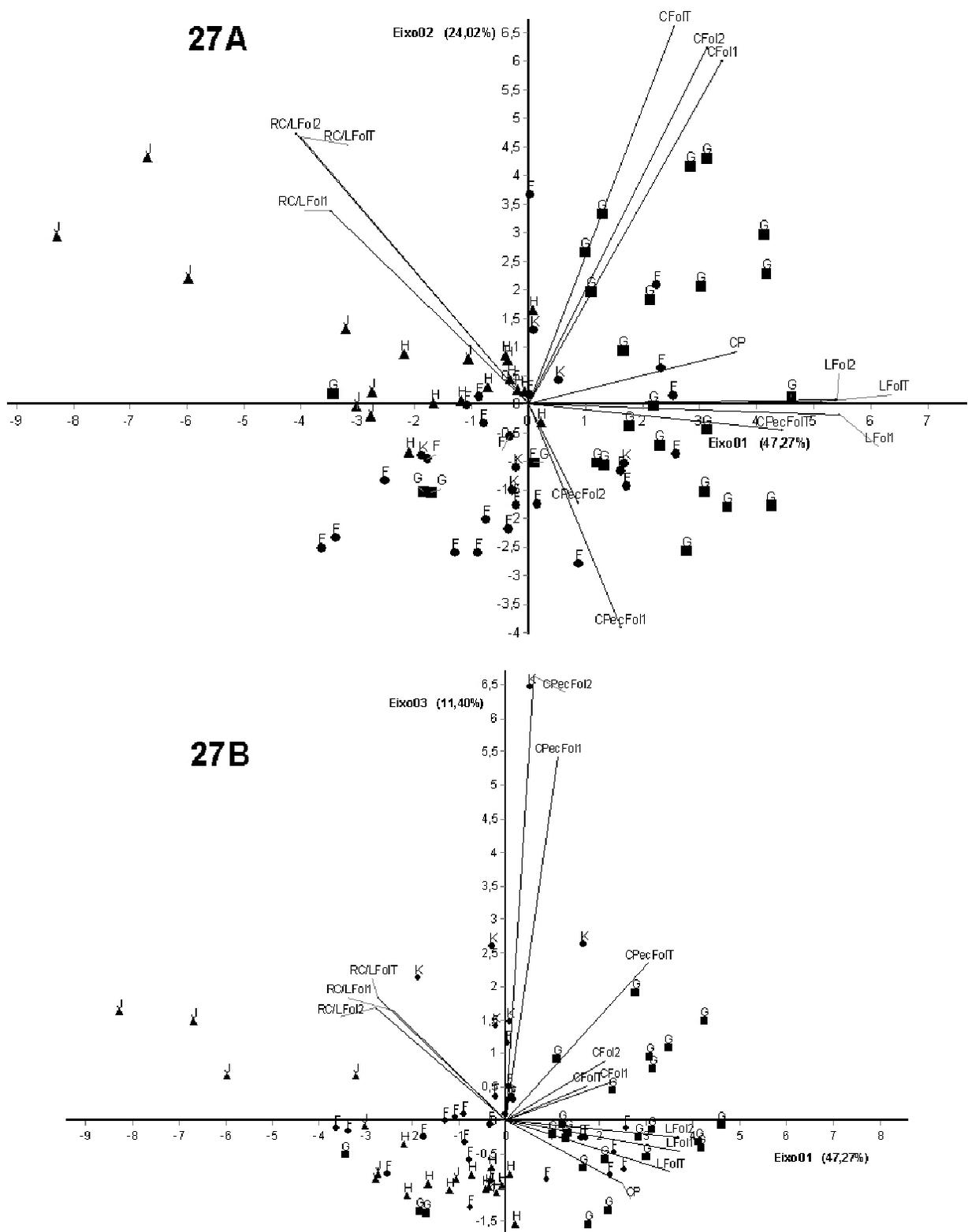
**Figura 24.** Análise de ordenação PCA. Biplot. Caracteres foliares das morfoespécies identificadas por outros pesquisadores como variedades de *Anemopaegma glaucum* e separadas, neste trabalho, em *A. acutifolium* “sarmentosa” e *A. glaucum*. Dados estandardizados. **24A.** Eixos 1 e 2. **24B.** Eixos 1 e 3. Símbolos das morfoespécies: **B** = *A. acutifolium* “sarmentosa”. **F** = *A. glaucum* “típica”. **G**. *A. glaucum* “não glauca”. **H** = *A. glaucum* “triplinérvea glauca” **J** = *A. glaucum* “triplinérvea pilosa”. **K** = *A. glaucum* “pubescente”. **G1** = Indivíduos com folíolos elípticos a oblanceolados. **G2** = indivíduos com folíolos oblongos a obovados.



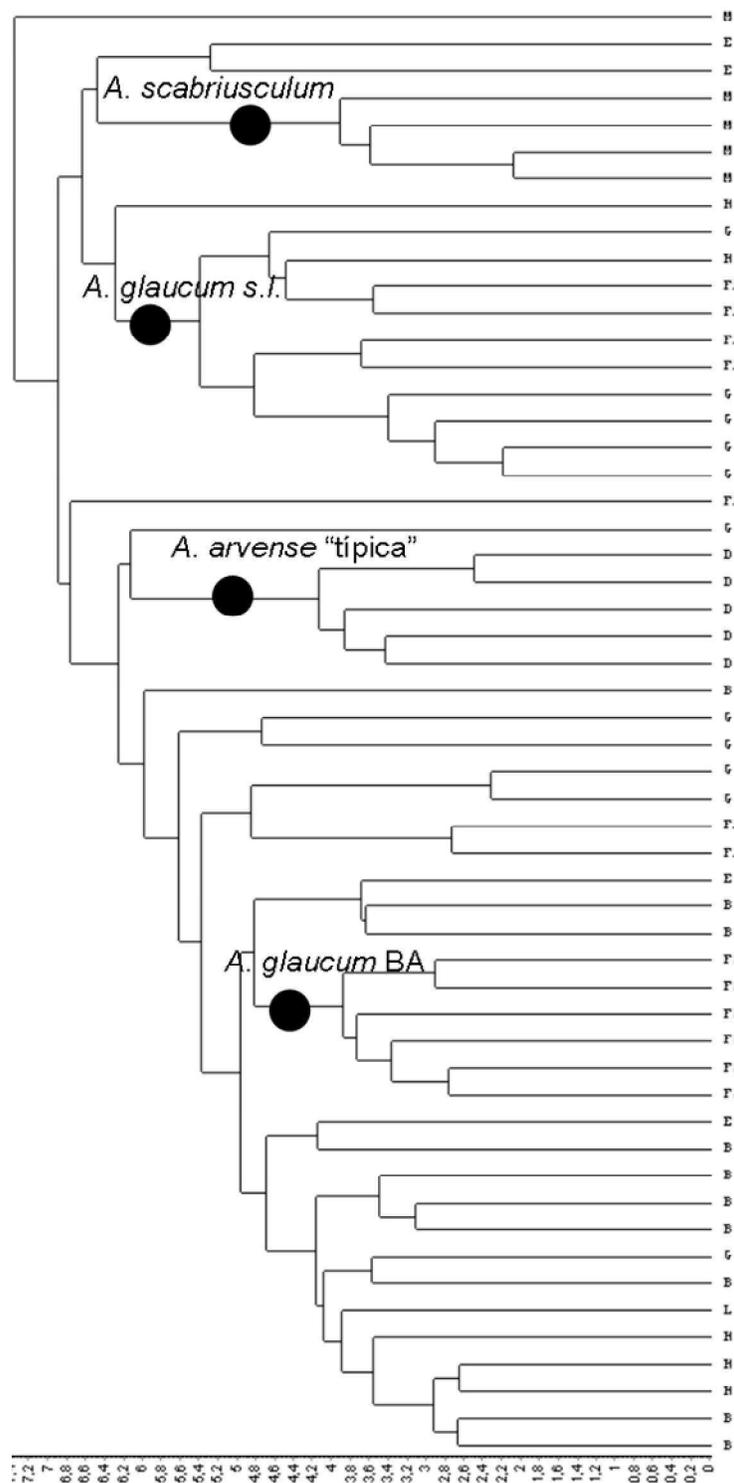
**Figura 25.** Dendrograma gerado a partir de caracteres vegetativos das morfoespécies de *Anemopaegma glaucum*, designadas neste estudo, com base nos caracteres morfológicos. Análise de agrupamento UPGMA com coeficiente Distância Euclidiana Simples. Dados estandardizados. Correlação cofenética = 0,7414. **F.** *A. glaucum* “não glauca”. **G.** *A. glaucum* “típica”. **H.** *A. glaucum* “triplinévea glabra”. **J.** *A. glaucum* “triplinévea pilosa”. **K.** *A. glaucum* “pubescente”.



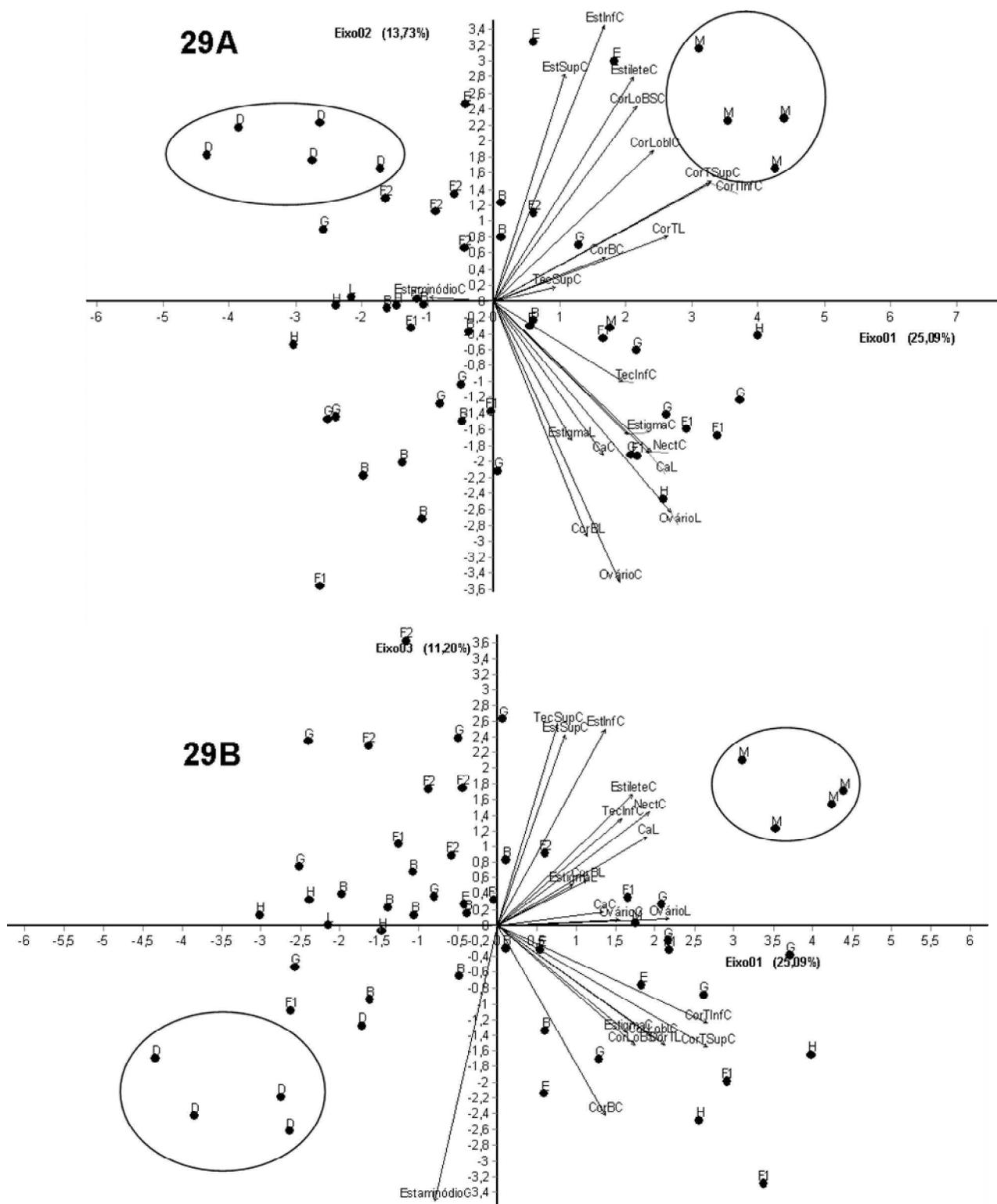
**Figura 26.** Dendrograma gerado a partir de caracteres vegetativos das morfoespécies de *Anemopaegma glaucum*, designadas neste estudo, com base nos caracteres morfológicos. Análise de agrupamento UPGMA com coeficiente de Gower. Dados estandardizados. Correlação cofenética = 0,7417. **F.** *A. glaucum* "não glauca". **G.** *A. glaucum* "típica". **H.** *A. glaucum* "triplinérvéa glabra". **J.** *A. glaucum* "triplinérvéa pilosa". **K.** *A. glaucum* "pubescente".



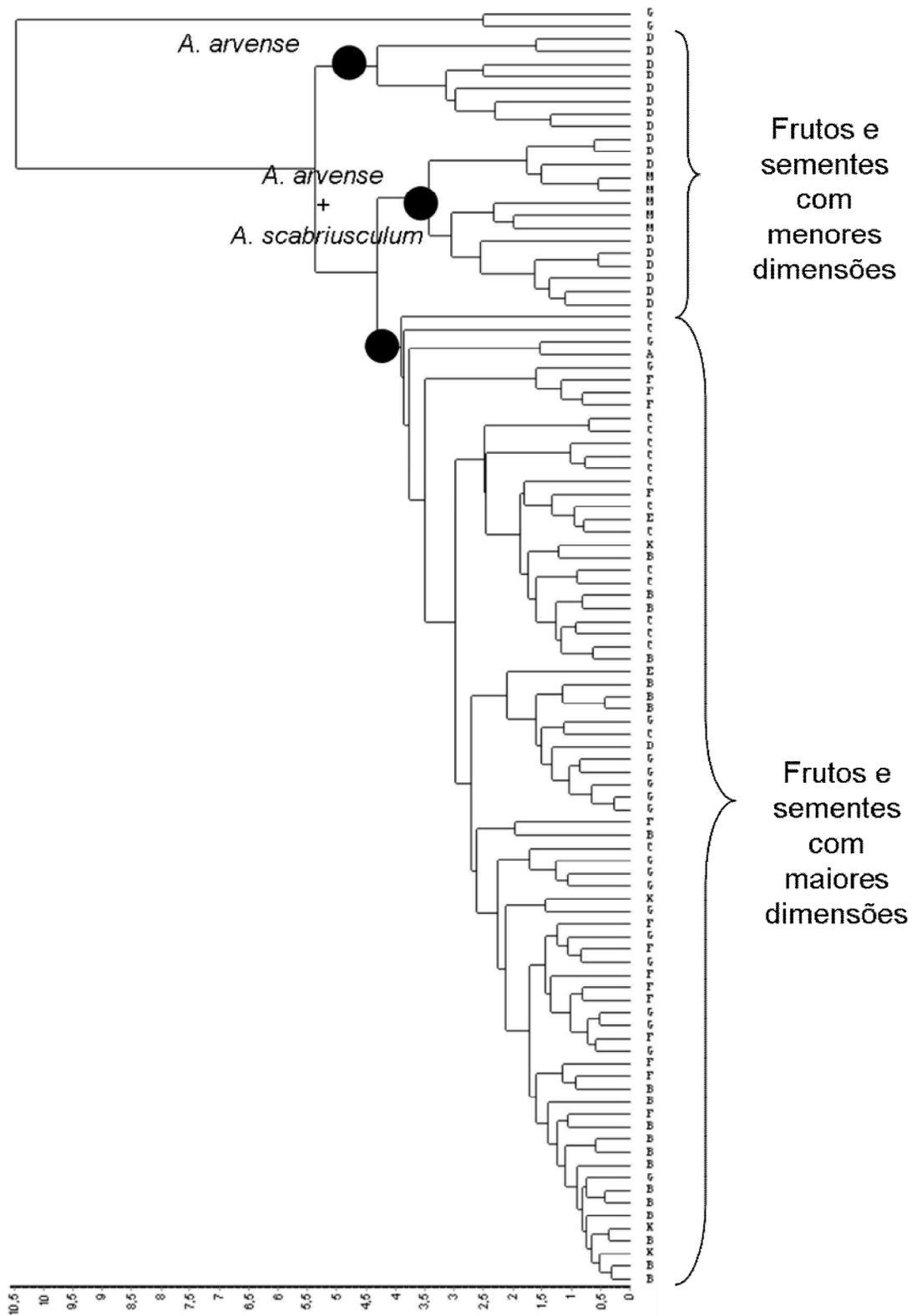
**Figura 27.** Análise de ordenação PCA. Biplot. Caracteres foliares das morfoespécies de *Anemopaegma glaucum* designados, neste estudo, com base nos caracteres morfológicos. Dados estandardizados. **27A.** Eixos 1 e 2. **27B.** Eixos 1 e 3. Símbolos das morfoespécies: **F.** *A. glaucum* “típica”. **G.** *A. glaucum* “não glauca”. **H.** *A. glaucum* “triplinérvea glabra”. **J.** *A. glaucum* “triplinérvea pilosa”. **K.** *A. glaucum* “pubescente”.



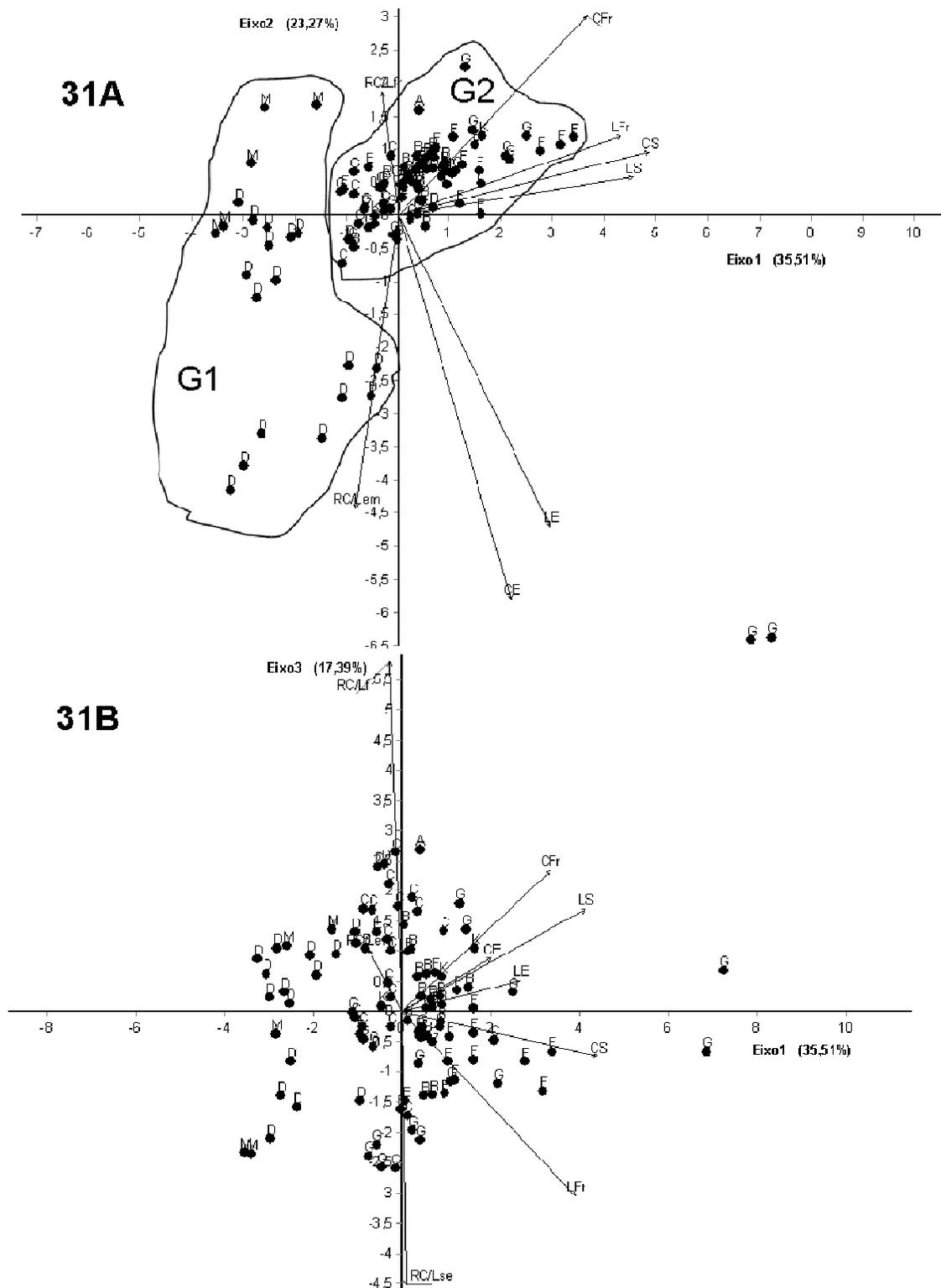
**Figura 28.** Dendrograma gerado a partir de caracteres florais das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*. Análise de agrupamento UPGMA com coeficiente Distância Euclidiana Simples utilizando dados estandardizados. Correlação cofenética = 0,7081. **B** = *A. acutifolium* "sarmentosa". **D** = *A. arvense* "típica". **E** = *A. arvense* "lanceifolia". **F1** = *A. glaucum* "típica" do DF. **F2** = *A. glaucum* "típica" da BA. **G** = *A. glaucum* "não glauca". **H** = *A. glaucum* "triplinérvea". **L** = *A. acutifolium* "pilosa". **M** = *A. scabriusculum*.



**Figura 29.** Análise de ordenação PCA. Biplot. Caracteres florais das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*. Dados estandardizados. **29A.** Eixos 1 e 2. **29B.** Eixos 1 e 3. Símbolos das morfoespécies: **B.** *A. acutifolium* "sarmentosa". **D.** *A. arvense* "típica". **E.** *A. arvense* "lanceifolia". **F1.** *A. glaucum* "típica" do DF. **F2.** *A. glaucum* "típica" da BA. **G.** *A. glaucum* "não glauca". **H.** *A. glaucum* "triplinérvea". **M.** *A. scabriusculum*.



**Figura 30.** Dendrograma gerado a partir de caracteres do fruto e da semente das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*. Análise de agrupamento UPGMA com coeficiente Distância Euclidiana Simples utilizando dados estandardizados. Correlação cofenética = 0,8944. **A.** *A. acutifolium* “típica”. **B.** *A. acutifolium* “sarmentosa”. **C.** *A. acutifolium* “touceira”. **D.** *A. arvense* “típica”. **E.** *A. arvense* “lanceifolia”. **F.** *A. glaucum* “típica”. **G.** *A. glaucum* “não glauca”. **K.** *A. glaucum* “pubescente”. **M.** *A. scabriusculum*.



**Figura 31.** Análise de ordenação PCA. Biplot. Caracteres do fruto e da semente das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*. Dados estandarizados. **31A.** Eixos 1 e 2. **31B.** Eixos 1 e 3. Símbolos das morfoespécies: **A.** *A. acutifolium* “típica”. **B.** *A. acutifolium* “sarmentosa”. **C.** *A. acutifolium* “touceira”. **D.** *A. arvense* “típica”. **E.** *A. arvense* “anceifolia”. **F.** *A. glaucum* “típica”. **G.** *A. glaucum* “não glauca”. **K.** *A. glaucum* “pubescente”. **M.** *A. scabriusculum*. **G1** = espécies que possuem frutos e sementes de menores dimensões. **G2** = espécies que possuem frutos e sementes com maiores dimensões.

# **CAPÍTULO 2**

**Anatomia comparada da lâmina foliolar das espécies do  
complexo *Anemopaegma arvense* (Vell.) Steff. ex de Souza  
(Bignoniaceae, Bignonieae)**

## RESUMO

*Anemopaegma* Mart. ex Meisn, gênero monofilético incluído na tribo Bignonieae, é considerado taxonomicamente instigante devido à dificuldade na delimitação de suas espécies. Dentre as espécies de delimitação controversa incluem-se as pertencentes ao complexo *Anemopaegma arvense*. As opiniões dos taxonomistas, baseadas em caracteres morfológicos, são controversas em considerá-las uma única espécie altamente polimórfica ou separá-las. Dentro deste contexto, o presente trabalho visa levantar caracteres anatômicos foliolares que possam auxiliar na circunscrição das espécies e morfoespécies do complexo. Indivíduos de *Anemopaegma acutifolium*, *A. arvense*, *A. glaucum*, *A. scabriusculum* e de morfoespécies do complexo e, de *A. album*, espécie externa ao complexo, foram coletados em áreas de cerrado dos estados da Bahia, São Paulo e do Distrito Federal. Secções histológicas foram obtidas da região mediana do folíolo terminal, previamente incluída em parafina e/ou resina plástica e, estes corados com safranina e azul de Astra ou azul de toluidina, respectivamente. Secções a mão livre foram corados com safranina e azul de Astra e/ou Sudan IV. A disposição dos estômatos, o tipo de epiderme, a constituição do sistema vascular da nervura mediana e a composição da bainha dos feixes vasculares das nervuras laterais foram os caracteres anatômicos utilizados para a distinção entre as espécies e de algumas morfoespécies dentro da mesma espécie designadas pelos caracteres morfológicos. Duas morfoespécies de *Anemopaegma acutifolium*, espécie considerada produto da hibridação entre *A. arvense* e *A. glaucum*, podem ser separadas pelos caracteres anatômicos, associados aos morfológicos, *A. acutifolium* “típica” distingue-se das demais por possuir folíolos anfiestomáticos e, *A. acutifolium* “sarmentosa” é diferenciada pela epiderme com desdobramentos na face adaxial do folíolo. *Anemopaegma arvense* caracteriza-se pela ausência de cordões floemáticos no sistema vascular da nervura mediana e, por possuir a margem destituída de parênquima fundamental subepidérmico. Para *Anemopaegma glaucum*, a ausência de calota de fibras sobre o xilema dos feixes vasculares de grande e médio calibre pode ser utilizada para a separação de *A. glaucum* “típica” da Bahia e *A. glaucum* “não glauca” das demais morfoespécies. *Anemopaegma scabriusculum* exhibe caracteres anatômicos bastante distintos das espécies do complexo como: estômatos agrupados nos espaços internervurais, junção das câmaras subestomáticas formando grande espaço aéreo na região do parênquima lacunoso e presença de extensão de bainha. *Anemopaegma album*, espécie não pertencente ao complexo e utilizada como grupo externo, possui extensão de bainha e estômatos agrupados nas regiões internervurais como *A. scabriusculum* e, folíolos anfiestomáticos como *A. acutifolium* “típica”. De acordo com os resultados obtidos, pode-se afirmar que os caracteres

anatômicos distintivos associados aos morfológicos têm importância taxonômica e são úteis para a delimitação de *A. acutifolium* “típica” e *A. acutifolium* “sarmentosa”, *A. arvense*, *A. glaucum* “típica” da Bahia, *A. glaucum* “não glauca” e de *A. scabriusculum*.

**Palavras-chave:** anatomia foliolar, *Anemopaegma*, Bignoniaceae, Bignonieae, cerrado, complexo de espécies

## INTRODUÇÃO

*Anemopaegma* Mart. ex Meisn., um dos maiores gêneros da tribo Bignonieae, é composto por cerca de 45 espécies na América tropical, distribuídas em florestas úmidas, secas e savanas, desde o México até o nordeste da Argentina (LOHMANN 2006, no prelo). É fortemente sustentado como monofilético (LOHMANN 2006) e, tem *Anemopaegma mirandum* (Cham.) Mart. ex ADC., hoje denominada *Anemopaegma arvense* (Vell) Stellf. ex de Souza, uma das espécies aqui abordada, como espécie tipo. Segundo GENTRY (1973) este é um dos gêneros de Bignoniaceae mais difíceis com relação à sua taxonomia, pois é constituído por muitas espécies que apresentam grande plasticidade fenotípica e muitos fenótipos locais designados como espécies. Para este autor, há evidências morfológicas de que algumas espécies de *Anemopaegma* tiveram origem por hibridação e introgressão.

O complexo *Anemopaegma arvense* foi descrito inicialmente como sendo composto pelas espécies *Anemopaegma acutifolium* DC., *A. arvense* (Vell) Stellf. ex De Souza, *A. glaucum* Mart. ex DC e *A. scabriusculum* Mart. ex DC. e, pelas variedades descritas para as espécies *A. arvense* e *A. glaucum*. A distinção das espécies e das diversas variedades deste complexo foi realizada por vários autores, que se basearam principalmente nos caracteres morfológicos vegetativos. A partir das variações morfológicas, principalmente da morfologia foliar, DE CANDOLLE (1845) dividiu *A. arvense*, como *A. mirandum*, em quatro variedades: *A. mirandum* var. *angustifolium*, *A. mirandum* var. *glabrum*, *A. mirandum* var. *latifolium*, e *A. mirandum* var. *pubescens*. Na Flora Brasiliensis (1896), BUREAU & SCHUMANN mantiveram as variedades criadas por DE CANDOLLE e criaram mais duas variedades para esta espécie: *A. mirandum* var. *petiolatum* e *A. mirandum* var. *verticillatum*, ficando, então, *A. arvense* (como *A. mirandum*) dividida em *A. mirandum* tipo e mais seis variedades. Na mesma obra, os autores descreveram *A. glaucum* como sendo composta por *A.*

*glaucum* tipo e mais três variedades: *A. glaucum* var. *lanceifolia*, *A. glaucum* var. *triplinervia* e *A. glaucum* var. *pubescens*.

Outros autores, estudando as floras regionais, também dividiram *A. arvense* em variedades. FERREIRA (1973), seguindo a Flora Brasiliensis, identificou quatro variedades de *A. arvense* para o Distrito Federal. BATISTINI (2006), apesar da constatação de diferenças morfológicas e químicas entre as variedades de *A. arvense* do Estado de São Paulo, manteve a classificação anterior. Em seu recente tratamento taxonômico das espécies de Bignoniaceae, LOHMANN (no prelo) não realizou uma abordagem infra-específica, ficando, então, as variedades do complexo sem resolução taxonômica. Com base nos caracteres morfológicos e na distribuição geográfica, FIRETTI-LEGGIERI (Capítulo 1), excluiu *A. scabriusculum* do complexo e concluiu que as espécies que permaneceram no complexo são polimórficas, com variações principalmente nos caracteres foliares (Tabela 1).

A suposição de GENTRY (1973), sobre a existência de híbridos entre as espécies de *Anemopaegma*, foi confirmada por FIRETTI-LEGGIERI (Capítulo 6). A referida autora constatou a ausência de barreiras pré e pós-zigóticas para a formação de híbridos entre espécies simpátricas do gênero, por meio da observação do fluxo de pólen interespecífico constatado a partir das estratégias de floração das espécies, do comportamento dos polinizadores e dos cruzamentos interespecíficos controlados.

A correta identificação das espécies de difícil delimitação, como é o caso das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*, requer o uso de informações de naturezas variadas que complementem os dados morfológicos, comumente utilizados pelos taxonomistas para a caracterização de táxons de diversos níveis. Destas informações, a anatomia constitui importante ferramenta para auxiliar na circunscrição de tais espécies (METCALFE 1983, ENDRESS *et al.* 2001). Segundo GABRIELLI (1988), Bignoniaceae está entre as primeiras famílias na qual a estrutura anatômica de diferentes órgãos foi utilizada para a resolução taxonômica de táxons em

diversos níveis. Após o estudo pioneiro de BUREAU (1864 *apud* GABRIELLI 1988), vários autores fizeram uso de diferentes caracteres anatômicos para a delimitação de gêneros e espécies desta família. SEIBERT (1948) utilizou a morfologia e a posição no corpo da planta dos diferentes tipos de nectários extraflorais para a caracterização de vários gêneros de Bignoniaceae. TRIVEDI *et al.* (1977) construíram uma chave para a separação de 15 espécies a partir da variação encontrada na anatomia do pecíolo. GENTRY (1973) separou os gêneros da família com base na estrutura anômala do cilindro vascular. METCALFE & CHALK (1950) caracterizaram Bignoniaceae a partir da compilação de dados anatômicos, até então existentes, de órgãos vegetativos das espécies pertencentes aos vários gêneros da família. ARMSTRONG (1985) definiu a posição taxonômica de *Paulownia*, *Schlegelia* e *Gibsoniothamnus*, gêneros ora pertencentes à Bignoniaceae ora à Scrophulariaceae, a partir da anatomia floral, cujas características levaram o autor a considerá-los membros de Scrophulariaceae. Atualmente, os gêneros *Paulownia* e *Schlegelia* constituem famílias distintas, Paulowniaceae e Schlegeliaceae, respectivamente, de acordo com APG III (2009). LERSTEN *et al.* (2002) analisaram o espessamento parietal de elementos condutores do xilema presentes nas alas das sementes de 20 espécies de Bignoniaceae, representantes de cinco das oito tribos reconhecidas por GENTRY (1980). Neste estudo, os autores observaram uma grande variação desta característica entre espécies e na mesma espécie, constatando assim a irrelevância de tal caráter para a taxonomia dos membros desta família.

Além da abordagem taxonômica observada nos estudos anatômicos supracitados, várias espécies de Bignoniaceae interessantes economicamente, como espécies madeireiras, medicinais, tóxicas e invasoras, tiveram a estrutura anatômica de seus órgãos vegetativos e reprodutivos descrita. GUIMARÃES *et al.* (1979) descreveram a anatomia foliar de *Fridericia elegans*, como *Pseudocalymma elegans*, espécie altamente tóxica para o gado. GABRIELLI (1988) investigou os aspectos anatômicos de vários órgãos de *Pyrostegia venusta* para a caracterização desta espécie ornamental, amplamente distribuída no Brasil. ORTOLANI (2007) caracterizou várias espécies da

tribo Tecomeae a partir do estudo da anatomia dos órgãos vegetativos das plântulas de tais espécies. RENÓ *et al.* (2007) estudaram a anatomia do fruto e semente de *Tecoma stans*, espécie introduzida no Brasil como ornamental e, que se tornou invasora e bastante agressiva. MARTINS *et al.* (2008) estudaram a anatomia foliar de *Jacaranda puberula*, planta comumente utilizada na medicina popular.

Dentre as espécies que compõem o complexo aqui considerado, somente *Anemopaegma arvense* teve certos aspectos anatômicos relatados (HYAKUTAKE & GROTTA 1965, ELIAS & PRANCE 1978, MORRETES 1980, MAURO *et al.* 2004 *apud* PEREIRA *et al.* 2007, MAURO *et al.* 2007). Apesar da abordagem comparativa, utilizada por MAURO *et al.* (2004 *apud* PEREIRA 2007), da anatomia foliolar de *A. arvense* e a variedade *petiolata* desta espécie, tal estudo apresentou cunho taxonômico. Os demais estudos focaram na caracterização anatômica de órgãos vegetativos e reprodutivos de tal espécie, devido ao fato de *A. arvense* ser amplamente utilizada na medicina popular.

Devido à grande dificuldade na delimitação das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* a partir de caracteres morfológicos, o presente trabalho teve por objetivo levantar caracteres anatômicos foliulares que pudessem auxiliar na circunscrição das espécies e variedades constituintes de tal complexo. A escolha dos folíolos para o estudo anatômico deveu-se ao fato de estes apresentarem grande variação morfológica e porque tal variação foi utilizada anteriormente para a criação das variedades de *A. arvense* e *A. glaucum*. Além das espécies e das variedades (aqui denominadas morfoespécies) inicialmente inseridas no complexo (aqui inclui *A. scabriusculum*), o estudo contemplou a anatomia foliolar de *Anemopaegma album*, espécie externa ao complexo. A inclusão de uma espécie externa ao complexo e filogeneticamente próxima a este grupo teve como propósito verificar a existência de caracteres anatômicos próprios das espécies do complexo.

**Tabela 1.** Caracteres utilizados por FIRETTI-LEGGIERI (Capítulo 1) para a delimitação das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*.

<b>Espécies</b>	<b>Hábito</b>	<b>Crescimento do ramo</b>	<b>Folha</b>	<b>Forma do folíolo</b>	<b>Razão comprimento/largura do folíolo</b>	<b>Inflorescência</b>
<i>A. acutifolium</i>	Subarbusto ou arbusto de pequeno porte	Determinado	Séssil ou peciolada	Elíptico, estreitamente oblanceolado ou espatulado	3,5 – 18,5	Axilar ou terminal; pauciflora
<i>A. arvense</i>	Subarbusto	Determinado	Séssil	Linear ou estreitamente oblanceolado	22,2 a 45,5	Axilar ou terminal; axilar com uma única flor
<i>A. glaucum</i>	Arbusto	Determinado	Peciolada	Largamente oblanceolado, oblongo ou obovado	1,69-3,9	Axilar ou terminal; pauciflora
<i>A. scabriusculum</i> *	Arbusto de grande porte	Indeterminado	Peciolada	Oblanceolado a espatulado	1,75-3,3	Axilar; pauciflora

\* Excluída do complexo *Anemopaegma arvense*

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Espécies estudadas*

As espécies estudadas pertencem ao gênero *Anemopaegma*, sendo que quatro destas e oito morfoespécies pertencem ao complexo *Anemopaegma arvense* (Bignoniaceae-Bignoniaceae). As espécies escolhidas para este estudo foram: *A. acutifolium* DC., *A. arvense* (Vell) Stellf. ex de Souza, *A. glaucum* Mart. ex DC., *A. scabriusculum* Mart. ex DC do complexo e, *A. album* Mart. ex DC. externa ao complexo. Além de tais espécies foram utilizadas as seguintes morfoespécies: *A. acutifolium* “sarmentosa”, *A. acutifolium* “touceira”, *A. acutifolium* “pilosa”, *A. arvense* “lanceifolia pilosa” e *A. arvense* “lanceifolia glabra”, *A. glaucum* “não glauca”, *A. glaucum* “triplinérvea” e *A. glaucum* “pubescente”. Os exemplares, de algumas espécies e morfoespécies, foram coletados em distintas localidades (populações diferentes), como mencionado na Tabela 2. A escolha das espécies e morfoespécies teve como critério amostrar a maior diversidade morfológica possível dentro do complexo *Anemopaegma arvense* e utilizar uma espécie não pertencente a tal complexo para comparação dos caracteres anatômicos.

### *Material utilizado*

Ramos de um a cinco indivíduos das espécies e morfoespécies supracitadas foram coletados em áreas de cerrado dos estados da Bahia, São Paulo e do Distrito Federal. Exemplares de mais de uma população foram amostrados, dependendo da disponibilidade de material. O material testemunha, das espécies e das morfoespécies, foi depositado no herbário UEC da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP) (Tabela 2).

Folhas adultas, saudáveis (sem sinais de predação) e localizadas no segundo ou terceiro nó do ramo, foram coletadas e fixadas em FAA (JOHANSEN 1940), por 24 horas. Após análise prévia do material fixado em FAA, folhas de *A. acutifolium* “típica” da população da Fazenda Campininha

(Mogi Guaçu, SP) foram coletadas novamente e fixadas em SFF (sulfato ferroso em formalina) por 48 horas (JOHANSEN 1940). Todo o material fixado foi mantido em vácuo e, depois estocado em etanol 70%. O folíolo terminal de cada folha foi selecionado e a região mediana do mesmo foi isolada para o estudo anatômico.

#### *Análise epidérmica da lâmina foliolar*

Na análise epidérmica considerou-se todo o folíolo terminal adulto. O folíolo terminal foi submetido ao processo de clarificação que constou da imersão deste em placa de Petri contendo hipoclorito de sódio 5%. Os folíolos das espécies e morfoespécies apresentaram tempo variável de permanência no hipoclorito de sódio até a total clarificação. Quando o folíolo apresentou-se translúcido ou esbranquiçado, a epiderme de ambas as faces foi retirada, lavada em água destilada para a retirada do hipoclorito de sódio e acondicionada em frascos de vidro com etanol 70% (frascos separados para as faces adaxial e abaxial). Folhas da morfoespécie *A. arvense lanceifolia pilosa* e da espécie *A. scabriusculum* foram submetidas ao processo de reversão de material herborizado (SMITH & SMITH 1942), pois não houve desprendimento da epiderme destas com o método de clarificação. Neste processo, folíolos de material herborizado foram hidratados, permaneceram em hidróxido de potássio 2% por, no mínimo, duas horas e, após a lavagem, fragmentos de epiderme foram destacados e acondicionados em etanol 70%.

No momento da observação, a epiderme foi corada com safranina aquosa 1% e, as faces adaxial e abaxial foram montadas separadamente em lâminas com água. As epidermes das espécies e morfoespécies foram analisadas em microscópio Olympus BX51 e, fotografadas em câmera digital Olympus DP71 acoplada ao equipamento. Nesta análise foram considerados os seguintes caracteres: (1) Presença/ausência de estômatos; (2) Tipo de estômato; (3) presença/ausência de tricomas; (4) tipos de tricomas; (5) tipo de cutícula.

### *Estrutura anatômica da lâmina foliolar*

A estrutura da lâmina foliolar das espécies e morfoespécies foi estudada a partir de secções a mão livre da região mediana dos folíolos e, de secções de material incluído em parafina ou resina plástica. Para o material a ser incluído em parafina ou resina plástica, as folhas adultas foram fixadas em FAA (JOHANSEN 1940), onde permaneceram por, no mínimo, um dia (24 horas) e, no máximo, uma semana. Todo o material fixado foi estocado em etanol 70%. Folíolos terminais com largura igual a 0,5 cm ou inferior tiveram toda a parte mediana amostrada (uma única peça). Em folíolos com largura superior a 0,5 cm, a parte mediana deste foi dividida em duas partes, a parte central constituída pela nervura mediana e lâmina foliolar adjacente e, região marginal do folíolo.

As peças isoladas dos folíolos foram transferidas para álcool butílico 70%, desidratadas em série butílica (JOHANSEN 1940) e incluídas em parafina Histosec. Secções seriadas longitudinais e transversais, com espessura de 14 a 16  $\mu\text{m}$ , foram obtidas em micrótomo rotativo Leica, coradas com safranina 1% alcoólica e azul de astra aquoso e, as lâminas montadas em resina sintética Permout.

Peças foliares de algumas espécies e morfoespécies foram também incluídas em resina plástica (GERRITS 1991). Secções com 10  $\mu\text{m}$  de espessura foram obtidas em micrótomo rotativo Leica e, coradas com azul de toluidina 0,05% pH 4,7 (O'BRIEN *et al.* 1964).

Além do material incluído em parafina e resina plástica, secções a mão livre de material mantido em etanol 70% foram obtidas. Para a análise, estas secções foram coradas com safranina 1% alcoólica e azul de astra aquoso ou em Sudan IV e, montadas em lâmina com água.

As imagens foram obtidas em câmera digital DP71 acoplada ao microscópio Olympus BX51.

**Tabela 2.** Relação de espécimes do complexo *Anemopaegma arvense* e de *A. album*.

<b>Espécie/morfotipo</b>	<b>Procedência (estado/local)</b>	<b>Data da coleta</b>	<b>Coletor e N°</b>
<i>A. acutifolium</i> “típica”	SP – Campininha	29/9/2007 24/7/2008 24/7/2008 24/7/2008 24/7/2008	<i>F. Firetti &amp; W. Leggieri</i> 128 <i>F. Firetti et al.</i> 161 <i>F. Firetti et al.</i> 162 <i>F. Firetti et al.</i> 163 <i>F. Firetti et al.</i> 164
<i>A. acutifolium</i> “sarmentosa”	DF - IBGE	8/8/2008 8/8/2008	<i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 188 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 194
<i>A. acutifolium</i> “touceira”	DF – UnB	2/8/2007 6/8/2008 6/8/2008	<i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 72 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 186 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 187
<i>A. acutifolium</i> “pilosa”	DF - UnB	2/8/2007	<i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 75
<i>A. album</i>	BA - Mucugê	21/7/2006 6/5/2007	<i>F. Firetti et al.</i> 39 <i>F. Firetti et al.</i> 110
<i>A. arvense</i> “típica”	DF – IBGE  DF - UnB	6/10/2005  28/8/2007 6/8/2008 6/8/2008	<i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 12A  <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 78 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 182 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 185
<i>A. arvense</i> “lanceifolia pilosa”	DF - IBGE	27/10/2006	<i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 53
<i>A. arvense</i> “lanceifolia glabra”	DF - UnB	28/8/2007	<i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 83
<i>A. glaucum</i> “típica” da BA	BA – Luís Eduardo Magalhães	18/7/2006 18/7/2006	<i>F. Firetti et al.</i> 34 <i>F. Firetti et al.</i> 35
<i>A. glaucum</i> “típica” do DF	DF – IBGE  DF – UnB	27/10/2006  2/8/2007	<i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 57  <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 76
<i>A. glaucum</i> “não glauca”	DF – IBGE  DF - UnB	18/10/2007  6/8/2008	<i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 140  <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 183
<i>A. glaucum</i> “triplinérvea”	DF - IBGE	19/10/2007 18/10/2007	<i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 130 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 138
<i>A. glaucum</i> “pubescente”	DF – IBGE  DF - UnB	27/10/2006 18/10/2007  18/10/2007	<i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 56 <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 137  <i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 153
<i>A. scabriusculum</i>	BA – Mucugê	5/5/2007 6/5/2007 6/5/2007	<i>F. Firetti et al.</i> 90 <i>F. Firetti et al.</i> 91 <i>F. Firetti et al.</i> 92

## RESULTADOS

Os grupos de espécies aqui denominados foram separados anteriormente por FIRETTI-LEGGIERI (Capítulo 1) a partir de caracteres morfológicos. Estes se referem às espécies polimórficas, compostas por espécimes que apresentam variação morfológica, principalmente foliar.

### **Morfoespécies de *Anemopaegma acutifolium* DC.**

#### **Morfologia**

Os espécimes identificados como *Anemopaegma acutifolium* apresentam grande diversidade morfológica, principalmente quanto à morfologia das folhas. O presente estudo foi realizado com espécimes agrupados em quatro morfoespécies. Tais morfoespécies são arbustos (Figura 1) e subarbustos (Figuras 17, 34, 47), pouco (Figura 1, 17) a muito ramificados, sendo que estes últimos chegam a formar touceiras (Figuras 34, 47); ramos eretos (Figura 1) a sarmentosos (Figuras 17, 34, 47). Folhas são compostas, trifolioladas, geralmente pecioladas (18, 35, 48); os folíolos laterais são sésseis ou possuem peciólulos de até 0,9 cm; o folíolo mediano apresenta peciólulo de até 1,8 cm; a lâmina foliolar varia de elíptica, estreitamente oblanceolada a espatulada, reta, carenada ou com o terço apical ondulado; margem revoluta (Figuras 16, 33, 60) a não revoluta (Figura 46).

As morfoespécies utilizadas no presente estudo são as seguintes: *A. acutifolium* “típica”, *A. acutifolium* “sarmentosa”, *A. acutifolium* “touceira” e *A. acutifolium* “pilosa”.

## **Anatomia**

### Nervura mediana

Em secção transversal, a nervura mediana é proeminente na face abaxial e impressa na face adaxial em *A. acutifolium* “típica” (Figura 2), enquanto que se apresenta proeminente em ambas as faces nas demais morfoespécies (Figuras 19, 36, 49).

Na face adaxial, a epiderme da face adaxial possui células de tamanho semelhante às demais células da lâmina foliolar em *A. acutifolium* “típica” e “pilosa” (Figuras 2, 3, 49, 51) e, menores nas outras duas morfoespécies (Figuras 19, 21, 36, 38). Em todas as morfoespécies, o lume celular está obstruído parcial ou totalmente pelos flanges cuticulares no terço superior. Estes geralmente cobrem também as paredes anticliniais (Figuras 19, 21, 36, 38). As células epidérmicas da face abaxial de todas as morfoespécies são menores que as células da face adaxial e da lâmina foliolar. O lume de tais células mostra-se reduzido devido à presença de flanges cuticulares que envolvem a célula e se estendem às paredes periclinal externa e anticliniais das células colenquimáticas da camada subepidérmica (Figuras 5, 22, 39, 52).

Todas as morfoespécies possuem colênquima como tecido subepidérmico de ambas as faces (Figuras 2, 4-5, 19, 21-22, 36, 38-39, 49, 51-52); porém, *A. acutifolium* “touceira” possui, além do colênquima, um grupo de células esclerenquimáticas além do colênquima na face adaxial da nervura (Figura 38). O colênquima da face adaxial está restrito à porção mediana da nervura e o número de camadas varia entre as morfoespécies, sendo de uma a três em *A. acutifolium* “típica” e “pilosa” (Figuras 4, 51), de uma a cinco em *A. acutifolium* “sarmentosa” (Figura 21) e de uma a duas em *A. acutifolium* “touceira” (Figura 38). Na face abaxial, o número de camadas de colênquima varia de três a cinco, sendo reduzida a uma única camada nas bordas da nervura, em todas as morfoespécies (Figuras 2, 5, 19, 22, 36, 39, 49, 52).

O sistema vascular de todas as morfoespécies é semelhante. Estes são formados por um feixe colateral em forma de U e cordões de floema envoltos por fibras floemáticas são observados na região adaxial (Figuras 2-3, 19-20, 36-37, 49-50). O floema do feixe colateral apresenta grupos de fibras interrompidos por células parenquimáticas (Figuras 2-3, 19-20, 36-37), exceto em *A. acutifolium* “pilosa” onde o floema do feixe está envolto por células parenquimáticas (Figuras 49-50). Todo o sistema vascular é envolto por uma bainha parenquimática uniestratificada, com as células contendo cristais prismáticos.

### Lâmina foliolar

*Vista frontal* – A cutícula é ornamentada em ambas as faces da epiderme de todas as morfoespécies; porém, as estrias cuticulares se tornam mais evidentes na face abaxial (Figuras 8, 25, 42, 55). As células epidérmicas, de ambas as faces, apresentam formatos irregulares, paredes retas a onduladas, delgadas em *Anemopaegma acutifolium* “típica” (Figuras 6-8) e “pilosa” (Figuras 53-55) e espessas em *A. acutifolium* “sarmentosa” (Figuras 23-25) e “touceira” (Figuras 40-42). As morfoespécies de *A. acutifolium* “típica” e “sarmentosa” são desprovidas de tricomas não glandulares (tectores) em ambas as faces, enquanto que este tipo de tricoma distribui-se esparsamente na epiderme de *A. acutifolium* “touceira” e, densamente em *A. acutifolium* “pilosa” (Figuras 53-54). Tricomas glandulares peltados (Figura 7) são observados na face abaxial da epiderme em todas as morfoespécies. Estômatos do tipo paracítico estão presentes em ambas as faces em *A. acutifolium* “típica” (Figuras 7-8, 11) e, restritos à face abaxial nas demais morfoespécies (Figuras 24-25, 41-42, 54-55). Em *A. acutifolium* “típica”, os estômatos localizados na face adaxial são raros, já os estômatos localizados na face abaxial, tanto em *A. acutifolium* “típica” quanto nas demais morfoespécies, são abundantes e dispersos por toda a lâmina foliolar.

### *Secção transversal*

Epiderme – Na face adaxial, a epiderme é unisseriada em *A. acutifolium* “típica”, “touceira” e “pilosa” (Figuras 9-10, 43-44, 56-57, respectivamente). Em *A. acutifolium* “sarmentosa”, há pontos de desdobramento das células epidérmicas (Figuras 26, 28). Tais desdobramentos encontram-se ao longo da lâmina foliolar, não sendo observada nenhuma associação destes com os feixes vasculares. Nestes pontos, há uma espessa camada de cutina impregnando a parede periclinal interna das células da primeira camada e a parede periclinal externa das células da segunda camada (Figuras 26, 28). As células possuem dimensões semelhantes e são geralmente maiores que as células presentes na face abaxial. Em todas as morfoespécies, o lume celular apresenta-se obstruído, de forma total ou parcial, no terço superior pelos flanges cuticulares que estão restritos ao terço superior ou se estendem até a metade das paredes anticlinais de tais células (Figuras 10, 27, 44, 57).

Na face abaxial de todas as morfoespécies a epiderme é unisseriada. As células possuem tamanhos variados, sendo menores as que se encontram próximas aos estômatos (Figuras 9, 26, 43, 56). O lume celular é restringido à metade ou ao terço inferior da célula devido à presença dos flanges cuticulares. Em *A. acutifolium* “típica” e “sarmentosa”, os flanges cuticulares podem alcançar a parede periclinal interna das células epidérmicas, enquanto que em *A. acutifolium* “touceira” e “pilosa” estes estão somente no terço superior das paredes anticlinais.

Os estômatos, ladeados paralelamente por duas células subsidiárias geralmente menores que as demais células epidérmicas (Figuras 11, 12, 29, 45, 58), estão dispostos em ambas as faces em *A. acutifolium* “típica” e, somente na face abaxial nas demais morfoespécies. No folíolo anfiestomático de *A. acutifolium* “típica”, os estômatos presentes na face abaxial estão dispersos ao longo da epiderme enquanto que os presentes na face adaxial estão geralmente associados aos feixes vasculares de maior calibre.

O indumento é composto por dois tipos de tricomas: tricomas tectores unisseriados, pluricelulares, de ápice agudo (Figura 59) que são encontrados em ambas as faces da epiderme de *A.*

*acutifolium* “touceira” e “pilosa” e, tricomas glandulares peltados, dispostos em depressões em ambas as faces da lâmina foliolar; porém, são raros na face adaxial, em todas as morfoespécies (Figuras 13, 30, 56). Os tricomas glandulares são constituídos por quatro a cinco células basais (células epidérmicas estreitas e alongadas), uma célula colar e uma cabeça secretora pluricelular com cerca de oito células (Figuras 13, 30).

Mesofilo – O mesofilo é dorsiventral em todas as morfoespécies (Figuras 9, 26, 43, 56). O número de camadas do parênquima paliçádico varia de duas a três em *A. acutifolium* “típica” (Figura 9) e “sarmentosa” (Figura 26), sendo raras três camadas; de uma a duas em *A. acutifolium* “touceira” (Figura 43), e de uma a três em *A. acutifolium* “pilosa” (Figura 56). Em todas as morfoespécies, as células da primeira camada do parênquima paliçádico são maiores que as das demais camadas. O número de camadas do parênquima lacunoso varia entre as morfoespécies, sendo de oito a dez em *A. acutifolium* “típica” (Figura 9), seis a oito em *A. acutifolium* “sarmentosa” (Figura 26) e de cinco a sete em *A. acutifolium* “touceira” (Figura 43) e *A. acutifolium* “pilosa” (Figura 56). Cristais prismáticos são abundantes no citoplasma de células do parênquima clorofiliano, principalmente do parênquima paliçádico, das morfoespécies *A. acutifolium* “típica” e “sarmentosa” (Figuras 14-15, 31-32). Há cristais prismáticos nas células da bainha do feixe de todas as morfoespécies. Além dos cristais prismáticos, as células do parênquima clorofiliano próximas aos feixes vasculares e as da bainha do feixe apresentam conteúdo citoplasmático granuloso corado pela safranina (Figura 9). A possibilidade de tal conteúdo ser composto fenólico foi descartada após observação de reação negativa em material fixado em SFF.

Os feixes vasculares do mesofilo são colaterais, sendo que os de grande e médio calibre possuem fibras no floema e uma calota de células esclerificadas sobre o xilema (Figuras 43, 56). Estes são envoltos por uma bainha parenquimática, uniestratificada com conteúdo cristalino no citoplasma. Não há extensão de bainha.

Margem – A margem é revoluta em *A. acutifolium* “típica” (Figura 16), “sarmentosa” (Figura 33) e “pilosa” (Figura 60) e não revoluta em *A. acutifolium* “touceira” (Figura 46).

As células epidérmicas da margem de todas as morfoespécies possuem tamanho semelhante ao das demais células da lâmina foliolar; porém, o lume destas células está reduzido à metade ou ao terço inferior em *A. acutifolium* “típica” (Figura 16) e “sarmentosa” (Figura 33) devido aos espessos flanges cuticulares nas paredes anticlinais. Nestas morfoespécies e em *A. acutifolium* “touceira”, os flanges cuticulares se estendem para a parede periclinal interna das células epidérmicas e para as paredes periclinal externa e anticlinais das células da camada subepidérmica. O mesofilo na região marginal do folíolo de todas as morfoespécies é constituído por um número variável de camadas de células de parênquima não clorofiliano e por parênquima clorofiliano diferenciado em paliçádico e lacunoso em torno de feixes vasculares colaterais de pequeno a médio calibre (Figuras 16, 33, 46, 60).

### **Morfoespécies de *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza**

#### **Morfologia**

Os espécimes identificados como *Anemopaegma arvense* caracterizam-se pelo hábito subarborescente, ramos prostrados, folhas sésseis e coriáceas e, inflorescências reduzidas a uma única flor (Figuras 61-62, 76-77, 91-92). Os folíolos, geralmente sésseis, variam de lineares (Figuras 61-62) a oblanceolados (Figuras 76-77, 91-92), sendo que este último tipo possui o terço superior ondulado; tricomas tectores estão ausentes ou são densamente distribuídos. A margem é revoluta.

As morfoespécies são *A. arvense* “típica”, *A. arvense* “lanceifolia pilosa” e *A. arvense* “lanceifolia glabra”.

## **Anatomia**

### Nervura mediana

Em secção transversal, a nervura mediana de todas as morfoespécies está localizada em uma depressão na face adaxial sendo proeminente na face abaxial (Figuras 63, 78, 93).

Na face adaxial as células epidérmicas possuem tamanho semelhante às demais células da lâmina foliolar em todas as morfoespécies (Figuras 62, 80, 95); porém, em *A. arvensis* “lanceifolia pilosa” as células apresentam lume parcialmente obliterado pelas invaginações das flanges cuticulares presentes nas paredes anticlinais (Figura 80). Em *A. arvensis* “típica” e *A. arvensis* “lanceifolia glabra”, os flanges cuticulares estão somente no terço superior das células (Figuras 65, 95). As células epidérmicas da face abaxial de todas as morfoespécies são menores que as células da face adaxial e da lâmina foliolar. O lume de tais células mostra-se restrito à metade ou ao terço inferior devido à presença de flanges cuticulares que envolvem a célula e se estendem às paredes periclinal externa e anticlinais das células colenquimáticas da camada subepidérmica (Figuras 66, 81, 96).

O tecido subepidérmico presente na face adaxial da nervura mediana difere nas três morfoespécies. Em *A. arvensis* “típica”, este é composto por células do parênquima paliádico não havendo nenhum tecido de sustentação nesta região (Figura 65). Em *A. arvensis* “lanceifolia glabra”, o tecido subepidérmico é constituído por parênquima fundamental (Figura 95). Já em *A. arvensis* lanceifolia pilosa, a região central da nervura mediana é composta por uma camada de colênquima e uma a duas camadas de células esclerificadas (Figuras 80). A face abaxial da nervura mediana de todas as morfoespécies possui colênquima como tecido subepidérmico. O número de camadas de colênquima varia de duas a cinco, sendo reduzida a uma única camada nas bordas da nervura (Figuras 66, 81, 96).

O sistema vascular de *A. arvense* “típica” e *A. arvense* “lanceifolia pilosa” é semelhante e distinto do observado em *A. arvense* “lanceifolia glabra”. Todos são compostos por um feixe colateral em forma de U; porém, a região adaxial é constituída por células parenquimáticas e esclerenquimáticas em *A. arvense* “típica” (Figura 64) e *A. arvense* “lanceifolia pilosa” (Figura 79) e por cordões de floema envoltos por fibras floemáticas em *A. arvense* “lanceifolia glabra” (Figura 94). O floema do feixe colateral apresenta grupos de fibras interrompidos por células parenquimáticas (Figuras 63, 78, 93). Todo o sistema vascular é envolto por uma bainha parenquimática uniestratificada, com as células contendo cristais prismáticos.

### Lâmina foliolar

*Vista frontal* – A cutícula da epiderme é ornamentada em ambas as faces em todas as morfoespécies; porém, as estrias cuticulares se tornam mais evidentes na face abaxial (Figuras 69, 83-84, 99). As células epidérmicas, de ambas as faces, apresentam formato irregular, paredes retas a levemente onduladas. A espessura das paredes das células epidérmicas de ambas as faces varia nas três morfoespécies, sendo mais espessas nas células da face adaxial. Tal diferença de espessura é discrepante em *A. arvense* “típica” (Figuras 67-69) e *A. arvense* “lanceifolia pilosa” (Figuras 82-84), sendo as paredes celulares delgadas na face abaxial e, menos acentuada em *A. arvense* “lanceifolia glabra” (Figuras 97-99), onde as paredes das células de ambas as faces são espessas. *Anemopaegma arvense* “típica” e *A. arvense* “lanceifolia pilosa” possuem tricomas tectores, unisseriados e pluricelulares, densamente dispostos em ambas as faces (Figuras 67-68, 82-83, respectivamente). Já *A. arvense* “lanceifolia glabra” possui epiderme desprovida de tricomas tectores (Figuras 97-98). Apesar ocorrência de tricomas tectores nos folíolos de *A. arvense* “típica”, como demonstrado aqui, há indivíduos desta espécie com folíolos sem este tipo de tricoma (morfoespécie denominada glabra). Tricomas glandulares peltados são observados na face abaxial da lâmina foliolar de todas as

morfoespécies. Estômatos do tipo paracítico estão restritos à face abaxial em todas as morfoespécies e distribuem-se assimetricamente ao longo da epiderme (Figuras 68-69, 83-84, 98-99).

### *Secção transversal*

Epiderme – A epiderme é unisseriada em ambas as faces do folíolo de todas as morfoespécies (Figuras 70, 85, 100). As células da face adaxial possuem dimensões semelhantes e são geralmente maiores que as células presentes na face abaxial. As células da face adaxial são até 2.5 vezes maiores que as da face abaxial em *A. arvense* típica e *A. arvense* “lanceifolia pilosa” e, apresentam proporções semelhantes às da face abaxial em *A. arvense* “lanceifolia glabra” (Figuras 70, 85, 100). As células da face abaxial possuem tamanhos variados; porém, as células desta face são mais semelhantes em *A. arvense* “lanceifolia glabra” (Figura 100). Em *A. arvense* “típica” e *A. arvense* “lanceifolia glabra”, o lume celular apresenta-se parcialmente reduzido do terço superior da célula pela presença de flanges cuticulares retas (Figuras 70-72, 100-102). Já em *A. arvense* “lanceifolia pilosa”, as células possuem lume reduzido à metade ou ao terço inferior devido à presença de flanges cuticulares invaginantes (Figuras 85-87).

Os estômatos, ladeados paralelamente por duas células subsidiárias geralmente menores que as demais células epidérmicas, estão dispostos somente na face abaxial em todas as morfoespécies (Figuras 72, 87, 102). Estes se encontram no mesmo nível ou acima das células epidérmicas não especializadas e são elevados em relação às células subsidiárias. Em *A. arvense* lanceifolia pilosa, os estômatos podem estar geminados (Figura 87), condição não verificada nas demais morfoespécies.

O indumento de *A. arvense* “típica” e *A. arvense* “lanceifolia pilosa” é composto por tricomas tectores, que são encontrados em ambas as faces do folíolo, e por tricomas glandulares peltados, dispostos em depressões em ambas as faces do folíolo; porém, são raros na face adaxial. Os tricomas glandulares destas morfoespécies são constituídos geralmente por quatro células basais (células epidérmicas estreitas e alongadas), uma célula colar e uma cabeça secretora pluricelular

com cerca de oito células (Figura 74). Em *A. arvense* “lanceifolia glabra”, a epiderme é destituída de tricomas tectores, porém são encontrados dois subtipos de tricomas glandulares peltados (Figuras 103-104), dispostos em depressão na epiderme da face abaxial. O subtipo I é o mesmo encontrado nas demais morfoespécies (Figura 104), já o subtipo II é constituído por cerca de sete células basais (epidérmicas isodiamétricas), por uma ampla célula colar e por uma cabeça secretora multicelular com número de células múltiplo de oito (Figura 103).

Mesofilo – O mesofilo é dorsiventral em todas as morfoespécies (Figuras 70, 85, 100). O número de camadas do parênquima paliçádico é constante entre as morfoespécies e varia de uma a duas, sendo rara a ocorrência de duas camadas (Figura 70, 85, 100). Em todas as morfoespécies, as células da primeira camada do parênquima paliçádico são maiores que a da segunda camada. O número de camadas do parênquima lacunoso varia entre as morfoespécies sendo de cinco a seis em *A. arvense* “típica” (Figura 70), de seis a oito em *A. arvense* “lanceifolia pilosa” (Figura 85) e de oito a nove em *A. arvense* “lanceifolia glabra” (Figura 100). Cristais prismáticos são encontrados nas células da bainha do feixe de todas as morfoespécies.

Os feixes vasculares do mesofilo são colaterais, sendo que os de grande e médio calibre possuem fibras no floema e uma calota de células esclerificadas sobre o xilema (Figuras 73, 88-89, 105). Em *A. arvense* “típica” e *A. arvense* “lanceifolia pilosa”, os feixes de maior calibre formam uma proeminência na face adaxial do folíolo (Figura 88), o que não ocorre em *A. arvense* “lanceifolia glabra”. Todos os feixes são envoltos por uma bainha parenquimática, uniestratificada com conteúdo cristalino no citoplasma. Não há extensão de bainha.

Margem – A margem é fortemente revoluta nas três morfoespécies (Figuras 75, 90, 106). As células epidérmicas da margem do folíolo são menores que as demais células da lâmina foliolar em *A. arvense* “típica” (Figura 75) e *A. arvense* “lanceifolia pilosa” (Figura 90). Já em *A. arvense*

“lanceifolia glabra”, as células epidérmicas marginais possuem dimensões semelhantes às demais da lâmina foliolar (Figura 106). O lume destas células é parcialmente obliterado pelos flanges cuticulares das paredes anticlinais, sendo reduzido à metade ou ao terço inferior em *A. arvense* “típica” (Figura 75) e *A. arvense* “lanceifolia pilosa” (Figura 90) e obstruído somente no terço superior em *A. arvense* “lanceifolia glabra” (Figura 106). Em *A. arvense* “típica” e *A. arvense* “lanceifolia pilosa”, os flanges cuticulares estão limitados ao terço superior ou à metade das paredes anticlinais das células epidérmicas, já em *A. arvense* “lanceifolia glabra” estes estão presentes ao longo das paredes anticlinais e se estendem para a parede periclinal interna das células epidérmicas e para as paredes periclinal externa e anticlinais das células da camada subepidérmica. O mesofilo na região marginal do folíolo de *A. arvense* “típica” e *A. arvense* “lanceifolia pilosa” geralmente é constituído por parênquima clorofiliano diferenciado em paliçádico e lacunoso (Figuras 75, 90, respectivamente). A ocorrência de parênquima fundamental ou colênquima é rara e, quando estão presentes, limitam-se a uma única camada. Já em *A. arvense* “lanceifolia glabra”, o mesofilo desta região é constituído por duas a três camadas de parênquima fundamental, e por parênquima clorofiliano diferenciado em paliçádico e lacunoso em torno de feixes vasculares colaterais de pequeno a médio calibre (Figura 106).

### **Morfoespécies de *Anemopaegma glaucum* Mart. ex DC.**

#### **Morfologia**

Os espécimes identificados como *Anemopaegma glaucum* são caracterizados pelo hábito arbustivo (Figuras 107, 122, 138, 152), folhas subsésseis a pecioladas (pecíolos de até 5,0 cm de comprimento), folíolos com formas desde largamente oblanceolados, oblongos ou obovados, com ou sem pilosidade (Figuras 107, 122, 139, 153, 167) e inflorescências racemiformes, axilares e ou

terminais, paucifloras. Apesar de terem comumente hábito arbustivo, indivíduos que tiveram a parte aérea totalmente destruída pela passagem do fogo ou pela poda, adquirem hábito subarbustivo, bastante ramificado chegando a formar touceiras (Figuras 121, 167). No presente estudo, foram utilizados indivíduos representantes de *A. glaucum* “típica” caracterizados pelo aspecto glauco de ramos, folhas e frutos (Figuras 107, 121-122), de *A. glaucum* “não glauca”, sem pruinose nas ramos e nas folhas, de *A. glaucum* “triplinérvia” e, de *A. glaucum* “pubescente”. Diferente das demais morfoespécies, *A. glaucum* “típica” foi dividida em *A. glaucum* “típica” da Bahia e *A. glaucum* “típica” do Distrito Federal. Essa distinção foi baseada principalmente na presença ou ausência de pruinose nas folhas adultas, sendo que os indivíduos do Distrito Federal possuem folhas jovens e adultas glaucas, enquanto que os indivíduos coletados na Bahia têm pruinose nas folhas jovens que é perdida em folhas adultas.

## **Anatomia**

### Nervura mediana

Em secção transversal, a nervura mediana é proeminente em ambas as faces em todas as morfoespécies (Figuras 108, 123, 140, 154, 168).

Na face adaxial, as células epidérmicas são menores que as demais da lâmina foliolar em todas as morfoespécies (Figuras 108, 110, 123, 125, 140, 142, 154, 156, 168, 170). Em todas as morfoespécies, o lume celular está totalmente obliterado no terço superior e, algumas vezes, até a metade pelos flanges cuticulares. Estes cobrem parcial ou totalmente as paredes anticlinais e alcançam as paredes periclinal externa e anticlinais das células do tecido subepidérmico (Figuras 110, 125, 142, 156, 170). As células epidérmicas da face abaxial de todas as morfoespécies são menores que as células da face adaxial e da lâmina foliolar. O lume de tais células mostra-se reduzido ao terço inferior devido à presença de flanges cuticulares que envolvem a célula e se

estendem às paredes periclinal externa e anticlinais das células colenquimáticas da camada subepidérmica (Figuras 111, 126, 143, 157, 171).

Todas as morfoespécies possuem colênquima como tecido subepidérmico de ambas as faces (Figuras 108, 110-111, 123, 125-126, 140, 142-143, 154, 156-157, 168, 170-171). O colênquima da face adaxial está restrito a porção mediana da nervura em *A. glaucum* “típica” do DF (Figura 108, 110), em *A. glaucum* “triplinérvea” (Figura 154, 156) e em *A. glaucum* “pubescente” (Figura 168, 70); porém, estende-se por toda a região adaxial em *A. glaucum* “típica” da BA (Figura 123, 125) e em *A. glaucum* “não glauca” (Figura 140, 142). O número de camadas varia entre as morfoespécies, sendo geralmente duas em *A. glaucum* “típica” do DF (Figura 110), de três a quatro em *A. glaucum* “típica” da BA (Figura 125), de três a oito em *A. glaucum* “não glauca” (Figura 142), de duas a quatro em *A. glaucum* “triplinérvea” (Figura 156) e de uma a três em *A. glaucum* “pubescente” (Figuras 168, 170). Na face abaxial, o número de camadas de colênquima varia de quatro a cinco, sendo reduzida a uma única camada nas bordas da nervura, em todas as morfoespécies (Figuras 111, 126, 143, 157, 171).

O sistema vascular de todas as morfoespécies é semelhante. Estes são formados por um feixe colateral em forma de U e cordões de floema envoltos por fibras floemáticas são observados na região adaxial (Figuras 108-109, 123-124, 140-141, 154-155, 168-169). O floema do feixe colateral apresenta grupos de fibras interrompidos por células parenquimáticas, exceto em *A. glaucum* “típica” da BA, onde o floema do feixe está envolto, em sua maior extensão, por células parenquimáticas (Figura 123). Todo o sistema vascular é envolto por uma bainha parenquimática uniestratificada, com as células contendo cristais prismáticos.

## Lâmina foliolar

*Vista frontal* – A cutícula é ornamentada em ambas as faces da epiderme de todas as morfoespécies. As células epidérmicas, de ambas as faces, apresentam formatos irregulares e paredes retas a levemente onduladas (Figuras 112-113, 127-128, 144-145, 158-159, 172-173). As células epidérmicas de ambas as faces possuem paredes espessas em *A. glaucum* “típica” da BA (Figuras 127-128) e *A. glaucum* “não glauca” (Figuras 144-145). Em contraste, as células epidérmicas das faces adaxial e abaxial de *A. glaucum* “típica” do Distrito Federal (Figuras 112-113), *A. glaucum* “triplinérvea” (Figuras 158-159) e *A. glaucum* “pubescente” (Figuras 172-173) apresentam espessuras distintas da parede, sendo estas espessas nas células da face adaxial e estreitas nas células da face abaxial. Todas as morfoespécies, exceto *A. glaucum* “pubescente”, são desprovidas de tricomas tectores. Em *A. glaucum* “pubescente”, os tricomas tectores estão densamente distribuídos em ambas as faces da epiderme (Figuras 172-173). Tricomas glandulares peltados são observados na face abaxial da epiderme em todas as morfoespécies. Estômatos do tipo paracítico estão restritos à face abaxial em todas as morfoespécies (Figuras 113-114, 128-129, 145-146, 159-160, 173-174).

## *Secção transversal*

Epiderme – A epiderme de ambas as faces é unisseriada em *A. glaucum* “típica” do DF (Figura 115), em *A. glaucum* “não glauca” (Figura 147), em *A. glaucum* “triplinérvea” (Figura 161) e, em *A. glaucum* “pubescente” (Figura 175). Em *A. glaucum* “típica” da BA, há pontos de desdobramento das células epidérmicas (Figuras 132, 134). Tais desdobramentos encontram-se ao longo da lâmina foliolar, não sendo observada nenhuma associação destes com os feixes vasculares. Nestes pontos, pode haver uma espessa camada de cutina impregnando a parede periclinal interna das células da primeira camada e a parede periclinal externa das células da segunda camada (Figuras 130,132). As células de ambas as faces possuem dimensões semelhantes, exceto as que se encontram próximas

aos estômatos (Figuras 115, 130, 147, 161, 175). Apesar do tamanho semelhante, a maioria das células epidérmicas da face abaxial e algumas células da face adaxial de *A. glaucum* “típica” do DF (Figura 115-116) e de *A. glaucum* “pubescente” (Figura 175-176) possuem lume restrito ao terço inferior devido à obstrução do restante deste por espessos flanges cuticulares. As células epidérmicas de ambas as faces, das demais morfoespécies, têm o lume obliterado total ou parcialmente somente no terço superior (Figuras 131, 133, 147-148, 161-162). Em *A. glaucum* “típica” do DF e, em *A. glaucum* “pubescente”, os flanges cuticulares podem atingir a parede periclinal interna das células epidérmicas da face abaxial (Figuras 115, 118, 175, 177).

Os estômatos, ladeados geralmente por duas células subsidiárias menores que as demais células epidérmicas, estão dispostos somente na face abaxial e, na maioria das vezes, no mesmo nível das células epidérmicas, em todas as morfoespécies (Figuras 118, 135, 149, 164).

O indumento de *A. glaucum* típica, *A. glaucum* não glauca e *A. glaucum* triplinérvia é composto por tricomas glandulares peltados dispostos em depressões na face abaxial (Figuras 119, 136, 150, 165). Tais tricomas são constituídos por quatro a cinco células basais alongadas e estreitas (células epidérmicas modificadas), raro por uma única célula basal observada em *A. glaucum* “triplinérvea” (Figura 165), por uma célula colar e por uma cabeça secretora pluricelular (Figuras 119, 136, 150). Já em *A. glaucum* “pubescente”, o indumento é composto pelos tricomas glandulares peltados (Figura 179) e, por tricomas tectores unisseriados, pluricelulares e de ápice agudo que se encontram dispostos em ambas as faces da epiderme (Figura 177).

Mesofilo – O mesofilo é dorsiventral em todas as morfoespécies (Figuras 115, 130, 147, 161, 175). O número de camadas do parênquima paliçádico varia de uma a três em *A. glaucum* “típica” do DF (Figura 115), de duas a quatro em *A. glaucum* “típica” da BA (Figura 130) e em *A. glaucum* “não glauca” (Figura 147) e, de duas a três, raro duas, em *A. glaucum* “triplinérvea” (Figura 151) e *A. glaucum* “pubescente” (Figura 175). Em todas as morfoespécies, as células da primeira camada do

parênquima paliçádico são maiores e mais alongadas que as das demais camadas. O número de camadas do parênquima lacunoso varia entre as morfoespécies, sendo de oito a nove em *A. glaucum* “típica” do DF (Figura 115), de oito a dez em *A. glaucum* “típica” da BA (Figura 130) e de sete a nove nas demais (Figuras 147, 161, 175). Cristais prismáticos estão presentes nas células da bainha dos feixes vasculares.

Os feixes vasculares do mesofilo são colaterais (Figuras 115, 130, 147, 161, 175). Os feixes de grande calibre (das nervuras secundárias) formam projeções na face adaxial do folíolo e apresentam fibras no floema e uma calota de células esclerificadas sobre o xilema em *A. glaucum* “típica” do DF e, em *A. glaucum* “pubescente”. Nas demais morfoespécies, tais feixes são desprovidos de células esclerenquimáticas tanto no xilema quanto no floema (Figuras 130, 147). Em *A. glaucum* “típica” do DF, nota-se a presença de uma camada de parênquima fundamental na região adaxial e abaxial dos feixes de grande calibre (Figura 117). Todos os feixes vasculares são envoltos por uma bainha parenquimática, uniestratificada com conteúdo cristalino no citoplasma. Não há extensão de bainha.

Margem – A margem é revoluta em *A. glaucum* “típica” do DF (Figura 120) e em *A. glaucum* “pubescente” (Figura 180) e, levemente revoluta a não revoluta nas demais morfoespécies (Figuras 137, 151, 166).

As células epidérmicas da extremidade da margem do folíolo de *A. glaucum* “típica” do DF (Figura 120), de *A. glaucum* “triplinérvea” (Figura 166) e de *A. glaucum* “pubescente” (Figura 180) possuem tamanho semelhante às demais células da lâmina foliolar. Em contraste, tais células de *A. glaucum* “típica” da BA e *A. glaucum* “não glauca” são menores que as demais células da lâmina foliolar (Figuras 137, 151, respectivamente). O lume das células epidérmicas marginais de todas as morfoespécies é obstruído por espessos flanges cuticulares. Estes estão em toda a extensão das paredes anticlinais das células epidérmicas, na maioria das vezes e, se estendem para a parede

periclinal interna das células epidérmicas e para as paredes periclinal externa e anticlinais das células da camada subepidérmica (Figuras 120, 137, 151, 166, 180). O mesofilo na região marginal do folíolo de todas as morfoespécies é constituído por uma a três camadas de parênquima fundamental e por parênquima clorofiliano diferenciado em paliçádico e lacunoso em torno de feixes vasculares colaterais de pequeno a médio calibre (Figuras 120, 137, 151, 166, 180).

### ***Anemopaegma scabriusculum* Mart. ex DC.**

#### **Morfologia**

Os indivíduos de *Anemopaegma scabriusculum* são arbustos, que podem alcançar mais de 2,0 m de altura (Figura 181), geralmente pouco ramificados, com ramos eretos e que apresentam crescimento indeterminado. As folhas, trifolioladas, curtamente pecioladas (pecíolos com até 1,5 cm de comprimento), com folíolos subsésseis (peciólulos até 0,16 cm) a curtamente peciolulados (peciólulos de até 0,5 cm), folíolo mediano não transformado em gavinha; lâmina foliolar coriácea, densamente pilosa, de linear a oblanceolada, com nervuras mediana e laterais, proeminentes na face abaxial; margem fortemente revoluta. Inflorescências reduzidas, racemiformes e axilares. Esta espécie foi inicialmente incluída no complexo *Anemopaegma arvense* devido às semelhanças morfológicas desta com as demais espécies do complexo observadas em material herborizado. Entretanto, um estudo mais detalhado de vários aspectos morfológicos observados em campo e informações da distribuição geográfica da espécie, mostraram que esta não faz parte deste grupo de espécies (FIRETTI-LEGGIERI Capítulo 1). A exclusão de *A. scabriusculum* do complexo feita por FIRETTI-LEGGIERI (Capítulo 1), é corroborada com dados de sequenciamento de DNA obtidos por WINKWORTH & LOHMANN (dados não publicados) no estudo da filogenia do gênero *Anemopaegma*.

## **Anatomia**

### Nervura mediana

Em secção transversal, a nervura mediana é proeminente em ambas as faces (Figura 182).

As células epidérmicas de ambas as faces da nervura mediana são menores e mais alongadas que as demais células da lâmina foliolar (Figuras 182, 184). O lume de tais células mostra-se totalmente obliterado por flanges cuticulares no terço superior, dispostas ao longo das paredes anticlinais, que alcançam a parede periclinal interna das células epidérmicas e as paredes periclinal externa e anticlinais das células colenquimática do tecido subepidérmico (Figura 186-187).

O colênquima constitui o tecido subepidérmico de ambas as faces (Figuras 184-187). O tecido colenquimático está presente em toda a região das faces adaxial e abaxial. O número de camadas varia de uma a duas na face adaxial e de três a quatro na face abaxial, sendo reduzida a uma única camada nas bordas da nervura (Figuras 182, 184-185). Além do colênquima, observa-se três a cinco camadas contínuas de células esclerenquimáticas na face adaxial e células esclerenquimáticas dispersas entre as células colenquimáticas na face abaxial (Figuras 182, 184-185).

O sistema vascular é composto por um feixe colateral em forma de U e cordões de floema envoltos parcialmente por fibras floemáticas são observados na região adaxial (Figuras 182-183). O floema do feixe colateral apresenta grupos de fibras interrompidos por células parenquimáticas (Figuras 182-183). Todo o sistema vascular é envolto por uma bainha parenquimática uniestratificada, com as células contendo cristais prismáticos.

### Lâmina foliolar

*Vista frontal* – A cutícula é ornamentada na epiderme da face abaxial (Figura 190). As células epidérmicas da face adaxial apresentam formatos irregulares e paredes espessas, retas a levemente

onduladas (Figura 188). O contorno das células epidérmicas da face abaxial é de difícil visualização em vista frontal, não sendo, portanto, definidas a forma e a espessura das paredes. Tricomas tectores estão densamente dispostos em ambas as faces do folíolo (Figura 188, setas). Tricomas glandulares peltados são observados somente na face abaxial. Estômatos do tipo paracítico estão restritos à face abaxial e apresentam distribuição restrita às regiões internervurais (Figuras 189-190).

### *Secção transversal*

Epiderme – A lâmina foliolar possui contorno reto na face adaxial e sinuoso na face abaxial (Figura 191). Em ambas as faces, a epiderme é unisseriada (Figura 191). As células da face adaxial possuem tamanhos semelhantes e são maiores que a maioria das células da face abaxial (Figuras 191-193). Estas possuem o lume total ou parcialmente obliterado, no terço superior, por flanges cuticulares no terço superior (Figuras 191-192), que se estendem até a parede periclinal interna das células epidérmicas. Na face abaxial, as células epidérmicas têm dimensões variadas, sendo que as células presentes na região das nervuras de médio e grande porte possuem tamanho semelhante às células da face adaxial e são maiores que as células localizadas próximas aos estômatos (Figuras 191-193). Assim como observado nas células epidérmicas da face adaxial, os flanges cuticulares obstruem o lume das células epidérmicas da face abaxial no terço superior e, envolvem completamente as células, impregnando todas as paredes.

Os estômatos, ladeados geralmente por duas células subsidiárias menores que as demais células epidérmicas, estão agrupados entre as nervuras de médio e grande calibre, somente na face abaxial (Figuras 191, 193-194). A união das câmaras subestomáticas destes diversos estômatos forma amplos espaços no parênquima lacunoso (Figura 191, 193).

O indumento de *Anemopaegma scabriusculum* é composto por tricomas tectores, pluricelulares, unisseriados e com ápice agudo dispostos densamente em ambas as faces da lâmina foliolar e, por tricomas glandulares peltados, dispostos em depressões na face abaxial. Os tricomas

peltados são constituídos por quatro a cinco células basais alongadas e estreitas, por uma célula colar e por uma cabeça secretora pluricelular.

Mesofilo – O mesofilo é dorsiventral (Figura 191). O parênquima paliçádico possui somente uma camada e o número de camadas do parênquima lacunoso varia de oito a dez (Figura 191). Cristais prismáticos estão presentes nas células da bainha dos feixes vasculares.

Os feixes vasculares do mesofilo são colaterais (Figuras 191, 194). Os feixes de médio e grande calibre formam projeções em ambas as faces do folíolo e apresentam fibras no floema, e uma calota de células esclerificadas sobre o xilema (Figuras 191, 194). Nos feixes vasculares de médio e grande calibre, há extensão de bainha direcionada para ambas as faces da lâmina foliolar (Figura 194).

Margem – A margem é revoluta e de formato agudo na extremidade (Figura 195). As células epidérmicas desta região são menores que as demais células epidérmicas da face adaxial da lâmina foliolar. O lume das células epidérmicas desta região é totalmente obstruído por espessos flanges cuticulares no terço superior. Estas estão em toda a extensão das paredes anticlinais das células epidérmicas e se estendem até a parede periclinal interna das células epidérmicas e as paredes periclinal externa e anticlinais das células da camada subepidérmica (Figura 195). O mesofilo na região marginal do folíolo é constituído, na maioria das vezes, por uma camada de células de parênquima fundamental e por parênquima clorofiliano diferenciado em paliçádico e lacunoso em torno de feixes vasculares colaterais de pequeno a médio calibre (Figura 195).

## ***Anemopaegma album* Mart. ex DC.**

### **Morfologia**

Espécie externa ao complexo, porém relacionada filogeneticamente a este grupo de espécies (WINKWORTH & LOHMANN dados não publicados), *Anemopaegma album* caracteriza-se pelo hábito arbustivo a arbóreo de pequeno porte, que pode alcançar mais de 2,0 m de altura (Figura 196). As folhas são trifolioladas, pecioladas, com folíolos peciolulados e o folíolo mediano não transformado em gavinha; lâmina foliolar é cartácea, pilosa, de lanceolada a oval, margem plana. Inflorescências reduzidas, racemiformes, axilares e paucifloras.

### **Anatomia**

#### Nervura mediana

Em secção transversal, a nervura mediana é proeminente em ambas as faces (Figura 197).

As células epidérmicas de ambas as faces da nervura mediana são mais estreitas que as demais células da lâmina foliolar (Figura 197). O lume de tais células mostra-se totalmente obliterado por flanges cuticulares no terço superior, que estão dispostas ao longo das paredes anticlinais e alcançam a parede periclinal interna das células epidérmicas e as paredes periclinal externa e anticlinais das células colenquimáticas subepidérmicas (Figuras 199-200).

O colênquima constitui o tecido subepidérmico (Figuras 197, 199-200) e está presente em toda a região das faces adaxial e abaxial. O número de camadas varia de uma a duas na face adaxial e de duas a três na face abaxial, sendo reduzida a uma única camada nas bordas da nervura (Figuras 197, 199-200). Além do colênquima, há um agrupamento de células esclerenquimáticas na face adaxial que não forma camada contínua (Figura 199).

O sistema vascular é composto por um feixe colateral em forma de U e cordões de floema envoltos parcialmente por fibras floemáticas são observados na região adaxial (Figura 198). O

floema do feixe colateral apresenta grupos de fibras interrompidos por células parenquimáticas (Figuras 182-183). Todo o sistema vascular é envolto por uma bainha parenquimática uniestratificada, com as células contendo cristais prismáticos.

### Lâmina foliolar

*Vista frontal* – A cutícula é ornamentada em ambas as faces, sendo as estrias mais evidentes na face abaxial (Figuras 202-203). As células epidérmicas da face adaxial apresentam formatos irregulares e paredes espessas, retas a levemente onduladas (Figura 201). Na face abaxial, as células epidérmicas possuem formato irregular, tamanhos distintos, sendo maiores as localizadas na região das nervuras, e paredes delgadas quando comparadas às paredes das células epidérmicas da face adaxial (Figuras 202-203). Tricomas tectores estão esparsamente dispostos em ambas as faces do folíolo (Figuras 201-202, setas). Tricomas glandulares peltados são igualmente observados em ambas as faces. Estômatos do tipo paracítico estão localizados em ambas as faces, sendo raros na face adaxial (Figura 206) e abundantes na face abaxial (Figuras 202-203). Na face abaxial, os estômatos estão restritos às regiões entre as nervuras de médio e grande porte (Figura 202).

### *Secção transversal*

Epiderme – A epiderme de ambas as faces é unisseriada (Figura 204). As células da face adaxial possuem tamanhos semelhantes, exceto as localizadas próximas aos tricomas glandulares, e são maiores que as células da face abaxial (Figura 204). Estas possuem o lume parcialmente obliterado, no terço superior por flanges cuticulares (Figuras 204-205), que ocupam metade ou até dois terços das paredes anticlinais das células epidérmicas (Figura 205). Na face abaxial, as células epidérmicas têm dimensões variadas, sendo que as células presentes na região das nervuras de médio e grande porte possuem tamanho semelhante às células da face adaxial, e são maiores que as células

localizadas próximas aos estômatos e aos tricomas glandulares (Figura 204). Assim como observado na face adaxial, os flanges cuticulares obstruem parcialmente o lume das células epidérmicas da face abaxial no terço superior e alcançam até dois terços das paredes anticlinais destas células.

Os estômatos, ladeados geralmente por duas células subsidiárias menores que as demais células epidérmicas, estão dispostos em ambas as faces (Figuras 206-207). Na face adaxial, onde são mais raros, os estômatos estão geralmente próximos aos feixes vasculares e localizados em nível abaixo ao das células epidérmicas (Figura 206). Em contraste, os estômatos estão nas regiões internervurais da face abaxial e ocorrem no mesmo nível ou acima das demais células epidérmicas (Figura 207).

O indumento de *Anemopaegma album* é composto por tricomas tectores, pluricelulares, unisseriados, com ápice agudo, dispostos esparsamente em ambas as faces da lâmina foliolar, e por tricomas glandulares peltados dispostos em depressões em ambas as faces (Figuras 204, 208). Os tricomas glandulares são compostos por uma a três células basais, por uma célula colar e por uma cabeça secretora multicelular (Figuras 204, 208, 211).

Mesofilo – O mesofilo é dorsiventral (Figura 204). O parênquima paliçádico possui uma a duas camadas, sendo raro duas (Figura 204). O número de camadas do parênquima lacunoso varia de seis a sete (Figura 204). Cristais prismáticos estão presentes nas células da bainha dos feixes vasculares.

Os feixes vasculares do mesofilo são colaterais (Figuras 204, 209-210). Os feixes de grande calibre formam projeções em ambas as faces do folíolo, apresentam fibras no floema e, geralmente, uma camada de células esclerificadas que envolve toda a região do xilema e fibras no floema (Figuras 204, 209). Todos os feixes vasculares são envolvidos por uma bainha parenquimática, uniestratificada com conteúdo cristalino no citoplasma e, nos feixes vasculares de médio e grande calibre há extensão de bainha direcionada para ambas as faces (Figuras 209-210). Há extensão de bainha, em ambas as faces nos feixes vasculares de médio e grande calibre (Figura 209). Nos feixes

de maior calibre, a face abaxial é igualmente composta por células colenquimáticas; porém, a face adaxial de tal estrutura é formada por células parenquimáticas (Figuras 210-211).

Margem – A margem não é revoluta e possui formato agudo na extremidade (Figura 211). As células epidérmicas da extremidade desta região são menores que as demais células epidérmicas da lâmina foliolar e possuem o lume totalmente obstruído por espessos flanges cuticulares no terço superior. Os flanges estão em toda a extensão das paredes anticlinais das células epidérmicas e se estendem até a parede periclinal interna das células epidérmicas e para as paredes periclinal externa e anticlinais das células da camada subepidérmica (Figura 211). O mesofilo na região marginal do folíolo é constituído por uma a duas camadas de parênquima fundamental e por parênquima clorofiliano diferenciado em paliçádico e lacunoso em torno de feixes vasculares colaterais de pequeno a médio calibre (Figura 211).

**Chave para a identificação das espécies e morfoespécies que compõem o complexo  
*Anemopaegma arvense* baseada em caracteres anatômicos.**

1. Extensões de bainha do feixe vascular presentes; estômatos restritos às regiões internervurais com câmaras subestomáticas unidas ..... *A. scabriusculum*
- 1'. Extensões de bainha do feixe vascular ausentes; estômatos distribuídos pelas regiões de nervura e internervurais, com câmaras subestomáticas individualizadas ..... 2
2. Folíolo anfiestomático ..... *A. acutifolium* “típica”
- 2'. Folíolo hipoestomático ..... 3
3. Epiderme com desdobramentos pontuais .....4
- 3'. Epiderme uniestratificada..... 5
4. Desdobramentos restritos à face adaxial ..... *A. acutifolium* “sarmentosa”
- 4'. Desdobramentos em ambas as faces ..... *A. glaucum* “típica” da BA
5. Calota de fibras acima do xilema nos feixes vasculares de grande e médio porte ausente..... *A. glaucum* “não glauca”
- 5'. Calota de fibras acima do xilema nas nervuras de grande e médio porte presente..... 6
6. Cordões floemáticos junto à face adaxial da nervura mediana; parênquima fundamental presente na margem foliolar ..... *A. glaucum* (“típica” do DF, “triplinérvea”, “pubescente”), *A. acutifolium* (“touceira” e “pilosa”), *A. arvense* “*lanceifolia glabra*”
- 6'. Cordões floemáticos ausentes na nervura mediana; parênquima fundamental ausente na margem foliolar ..... *A. arvense* (“típica” e “*lanceifolia pilosa*”)

## DISCUSSÃO

Dados histológicos de diferentes órgãos das plantas servem como critérios adicionais que podem auxiliar na resolução de problemas taxonômicos (METCALFE 1979). A anatomia de órgãos vegetativos, principalmente foliar, é considerada uma importante ferramenta para auxiliar na correta delimitação de táxons de diversos níveis (CROW *et al.* 1997 – inclusão do gênero *Hallia* no gênero *Psoralea*; REIS *et al.* 2005 – caracterização anatômica de tribos em Melastomataceae; GOMES *et al.* 2005 – caracterização anatômica dos gêneros e espécies da subfamília Hippocrateoideae; RIO *et al.* 2005 - delimitação de espécies de *Forsteronia* do cerrado; CARSLWARD *et al.* 2006 – caracterização de subtribos de Orchidaceae; TEIXEIRA & GABRIELLI 2006 – validação de duas espécies no gênero *Dahlstedtia*), especialmente daqueles onde o uso de caracteres reprodutivos é um fator limitante devido à escassez de material fértil, caso das espécies da subfamília Bambusoideae (OLIVEIRA *et al.* 2008). Na taxonomia, o estudo de anatomia foliar objetiva acrescentar caracteres diagnósticos aos dados morfológicos, já que os primeiros são considerados, por alguns autores, mais confiáveis que os últimos por serem menos afetados pelo ambiente (STACE 1989).

Os resultados do presente estudo mostraram que houve variação anatômica entre as espécies e morfoespécies do complexo *Anemopaegma arvense*, sendo alguns destes considerados caracteres diagnósticos (Tabela 3).

Todas as espécies e morfoespécies do complexo *Anemopaegma arvense* e de *A. album*, compartilham características relacionadas à nervura mediana, como: epiderme uniestratificada em ambas as faces da lâmina foliolar, flanges cuticulares envolvendo as células epidérmicas da face abaxial e presentes também nas paredes periclinal externa e anticliniais das células do tecido subepidérmico, colênquima como tecido de sustentação na face abaxial e sistema vascular envolto por bainha parenquimática uniestratificada com conteúdo evidente. As principais diferenças foram observadas na composição do tecido subepidérmico da face adaxial e na constituição do sistema

vascular. Em todos os taxa analisados, exceto *A. arvense* “típica”, a camada subepidérmica da face adaxial é constituída por tecido de sustentação, colênquima ou células esclerenquimáticas. Já em *A. arvense* “típica”, esta região da nervura mediana é composta por parênquima paliçádico que está em continuidade com o parênquima da lâmina foliolar. Tal característica também foi observada por MORRETES (1980) em espécimes de *A. arvense* típica, sob a denominação de *A. mirandum*, originadas do cerrado de Emas (SP) e por MAURO *et al.* 2004 (*apud* PEREIRA *et al.* 2007) em indivíduos coletados em várias áreas de cerrados paulistas. A constância deste caráter em indivíduos de diferentes localidades o configura como conservativo na espécie. O sistema vascular, no geral, é formado por um feixe colateral em forma de U e por cordões de floema envoltos por fibras dispostas na porção superior do feixe. Diferentemente desta estrutura padrão, o sistema vascular de *A. arvense* típica e *A. arvense lanceifolia pilosa* é destituído dos cordões floemáticos da porção superior do feixe, sendo esta região composta somente por fibras.

As principais variações anatômicas foram observadas na epiderme. Em geral, as espécies de Bignoniaceae (METCALFE & CHALK 1950) e dos táxons aqui abordados, possuem epiderme uniestratificada. Entretanto, a presença de uma ou mais camadas de hipoderme foi relatada para espécies de *Pandorea* e *Schlegelia* por METCALFE & CHALK (1950). Neste estudo, epiderme uniestratificada em sua maior extensão, com desdobramentos pontuais formando uma segunda camada epidérmica foi observada na face da lâmina foliolar de *A. acutifolium* “sarmentosa” e em ambas as faces do folíolo de *A. glaucum* “típica” coletada na Bahia. A ocorrência de desdobramentos pontuais na epiderme foi observada em *Fridericia elegans* (como *Pseudocalymma elegans*) por GUIMARÃES *et al.* (1979).

Todas as espécies e morfoespécies de *Anemopaegma* consideradas neste estudo mostraram células epidérmicas de ambas as faces com espessa cutícula cobrindo a parede periclinal externa e flanges cuticulares nas paredes anticlinais em ambas as faces. Ao contrário do relatado por MAURO *et al.* (2004 *apud* PEREIRA *et al.* 2007) para *Anemopaegma arvense* e *A. acutifolium* (como *A.*

*arvense* var. *petiolata*), a cutícula de todas as espécies e morfoespécies de *Anemopaegma* possui estrias, sendo considerada ornamentada. Os flanges cuticulares são extensões da cutícula que alcançam as paredes anticlinais das células epidérmicas (WILKINSON 1979). Segundo WILKINSON (1979), essas extensões cuticulares são comuns em plantas xerofíticas e, geralmente ausentes em plantas aquáticas ou em herbáceas com folhas membranáceas. Os flanges cuticulares podem estar por toda a extensão da parede anticlinal ou, em casos de xeromorfismo extremo, estes podem alcançar as paredes das células subepidérmicas, como encontrado em algumas morfoespécies de *A. glaucum* e em *A. scabriusculum*. A presença de flanges cuticulares nas células epidérmicas parece ser comum em espécies de Bignoniaceae, sendo relatada em seis espécies: *Fridericia elegans* (como *Pseudocalymma elegans*) por GUIMARÃES *et al.* (1979), em *Anemopaegma arvense* por MORRETES (1980) e MAURO (*apud* PEREIRA *et al.* 2007), em *A. longipes* e *Fridericia platyphylla* (como *Arrabidaea brachypoda*) por MORRETES (1980) e, em *Jacaranda decurrens* e *Zeyheria montana* por MAURO *et al.* (2007). Apesar da presença comum de flanges cuticulares nas paredes anticlinais das células epidérmicas como constatada nos trabalhos supracitados, a impregnação de cutina nas paredes das células subepidérmicas de espécies de Bignoniaceae é relatada pela primeira vez no presente trabalho.

Assim como anteriormente constatado para Bignoniaceae, as espécies e morfoespécies de *Anemopaegma*, exceto *A. acutifolium* “típica” e *A. album*, apresentam folíolo hipoestomático. A condição anfiestomática dos folíolos de *A. acutifolium* “típica” foi relatada também por MAURO *et al.* (2004 *apud* PEREIRA *et al.* 2007), sendo esta designada pelo autor como *A. arvense* var. *petiolata*. Devido à aparente constância da condição hipoestomática na família e do relato de folíolos anfiestomáticos em indivíduos de *A. acutifolium* típica originados de distintas populações de áreas de cerrado de São Paulo, este caráter parece ser importante para a separação *A. acutifolium* “típica” das demais morfoespécies designadas no grupo *A. acutifolium*.

Outro aspecto interessante com relação à disposição dos estômatos é a ocorrência agrupada entre as nervuras de médio e grande calibre na face abaxial de *Anemopaegma scabriusculum*. Nestes locais da lâmina foliolar, o parênquima lacunoso apresenta grandes espaços intercelulares que correspondem à junção das amplas câmaras subestomáticas. O relato da ocorrência de estômatos em grupos é inédito para a família Bignoniaceae e, de acordo com WILKINSON (1979), este é um caráter usado na diagnose de gêneros em algumas famílias. Nas demais espécies e morfoespécies do complexo, os estômatos estão dispersos por toda a extensão da lâmina foliolar e possuem câmaras subestomáticas individualizadas. Assim como *Anemopaegma scabriusculum*, *A. album* também possui estômatos localizados somente nas regiões internervurais, porém, os estômatos de *A. album* apresentam câmaras subestomáticas individualizadas.

Tricomas de vários tipos, glandulares e não glandulares, podem constituir o indumento de órgãos vegetativos e reprodutivos das espécies de Bignoniaceae (METCALFE & CHALK 1950). Nas espécies e morfoespécies de *Anemopaegma*, aqui consideradas, foram observados tricomas não glandulares (tectores) e dois subtipos de tricomas glandulares peltados. Os tricomas tectores, geralmente presentes em ambas as faces do folíolo de *A. acutifolium* “touceira” e “pilosa”, de *A. arvense* “típica” e “lanceifolia pilosa”, de *A. glaucum* “pubescente”, de *A. scabriusculum* e de *A. album*, são multicelulares, unisseriados, com ápice agudo e paredes espessas. Com base na quantidade de células presentes na cabeça, os tricomas glandulares peltados, foram divididos em dois subtipos: *Subtipo I*: uma célula colar curta com paredes cutinizadas e uma cabeça secretora multicelular com oito células alongadas e estreitas; *Subtipo II*: uma célula colar alargada com paredes cutinizadas e uma cabeça secretora multicelular com células em número múltiplo de oito.

O tricoma glandular peltado do *Subtipo I*, presente nos folíolos de todos os táxons de *Anemopaegma* considerados no presente estudo, assemelha-se ao encontrado nas folhas de *Leonotis leonurus* (Lamiaceae) por ASCENSÃO *et al.* (1995, 1997) e na parede do ovário de *Zeyheria montana* (MACHADO *et al.* 2006). Estes tricomas, quando maduros, produzem uma secreção que

fica acumulada no espaço formado pela cutícula juntamente com parede celular. Segundo ASCENSÃO *et al.* (1997) o reforço parietal da cutícula provavelmente confere maior resistência à cavidade secretora quando grande quantidade de secreção é estocada. Tanto em *Leonotis leonurus* (ASCENSÃO 1995, 1997) quanto em *Zeyheria montana* (MACHADO *et al.* 2006), os autores observaram que a secreção permanece armazenada no espaço subcuticular até que fatores externos tais como condições ambientais extremas e contato de animais, causem a ruptura da cutícula. A análise química da secreção dos tricomas peltados de *Zeyheria montana* revelou a presença de alcalóides e terpenos, substâncias provavelmente envolvidas na defesa química contra o ataque de herbívoros (MACHADO *et al.* 2006).

O tricoma glandular peltado do *Subtipo II* foi encontrado nas proximidades da margem foliolar somente de *Anemopaegma arvense* “lanceifolia glabra”. O mesmo tipo de tricoma foi observado no folíolo de *Anemopaegma chamberlaynii* por SEIBERT (1948) e no pericarpo de frutos imaturos de *Crescentia cujete* por ELIAS & PRANCE (1978). Segundo ELIAS & PRANCE (1978), esses tricomas são nectários extranupciais que, quando ativos secretam grande quantidade de néctar, atraindo formigas que exercem a função de defesa de órgãos em desenvolvimento, como frutos imaturos, contra herbívoros. ELIAS & GELBAND (1976) afirmaram que a presença de inúmeros e diminutos nectários espalhados por todo o pericarpo de frutos imaturos de várias espécies de Bignoniaceae é uma condição derivada quando comparada à presença de um único nectário.

Todas as espécies e morfoespécies de *Anemopaegma* analisadas neste trabalho possuem mesofilo dorsiventral assim como a maioria das espécies de Bignoniaceae (HYAKUTAKE & GROTTA 1965, GUIMARÃES *et al.* 1979, MORRETES 1980, GABRIELLI 1988, MAURO *et al.* 2004 *apud* PEREIRA *et al.* 2007, MAURO *et al.* 2007, ORTOLANI 2007, DOUSSEAU *et al.* 2008, MARTINS *et al.* 2008, ORTOLANI *et al.* 2008). Segundo METCALFE & CHALK (1950), esse é o tipo mais comum de mesofilo em Bignoniaceae, sendo registrado mesofilo isobilateral somente em espécies do gênero *Kigelia*.

Idioblastos com conteúdo granuloso, que apresentam o citoplasma corado de vermelho pela safranina, estão presentes no parênquima clorofiliano próximo aos feixes vasculares e na bainha dos feixes vasculares do mesofilo de *A. acutifolium* “típica”. Células do parênquima clorofiliano desta espécie e de *A. acutifolium* “sarmentosa” possuem cristais prismáticos no citoplasma, que se apresentam em maior quantidade na base das células do parênquima paliçádico. Nas demais espécies e morfoespécies de *Anemopaegma*, esse tipo de cristal está restrito às células da bainha dos feixes da nervura mediana e das nervuras laterais. De acordo com METCALFE & CHALK (1950), a presença de cristais prismáticos e esferocristais de material não identificado foram registradas em várias espécies de Bignoniaceae.

As nervuras laterais da maioria das espécies e morfoespécies de *Anemopaegma*, exceto de *A. glaucum* “típica” da BA e de *A. glaucum* “não glauca”, possuem uma calota desenvolvida de fibras acima do xilema. Segundo HYAKUTAKE & GROTTA (1965), esta calota constitui um periciclo fibroso.

Dentre as espécies do complexo *Anemopaegma arvense*, *A. acutifolium* reúne indivíduos com a maior variação na morfologia foliar quando comparada a *A. arvense* e *A. glaucum*, também consideradas espécies polimórficas. De acordo com anotações em exsicatas feitas por A.H. GENTRY, *A. acutifolium* é produto da hibridação entre *A. arvense* e *A. glaucum*. A possibilidade de hibridação entre tais espécies, quando estas ocorrem simpatricamente, foi observada por FIRETTI-LEGGIERI (Capítulo 6) cujos resultados do estudo de comportamento reprodutivo comprovaram a ausência de barreiras reprodutivas pré e pós-zigóticas.

A variação observada na morfologia externa das morfoespécies de *A. acutifolium* foi verificada também em nível anatômico. *Anemopaegma acutifolium* “típica”, designada anteriormente como *A. arvense* var. *petiolata*, distingue-se das demais morfoespécies por apresentar folíolos anfiestomáticos. Dentre os táxons aqui estudados somente *A. album*, espécie externa ao complexo, apresentou tal característica. A presença de estômatos em ambas as faces foliolares foi

também observada por MAURO *et al.* (2004 *apud* PEREIRA *et al.* 2007) que utilizaram indivíduos desta morfoespécie, coletados em distintas áreas de cerrado do Estado de São Paulo. Essa característica anatômica, somada ao hábito arbustivo e aos folíolos oblanceolados geralmente com terço apical ondulado, constitui um conjunto de caracteres confiáveis para a caracterização da espécie e separação de *A. acutifolium* “típica” das demais morfoespécies. *Anemopaegma acutifolium* “sarmentosa” possui epiderme com desdobramentos pontuais como peculiaridade anatômica. Diferente das demais, os indivíduos desta morfoespécie são pouco ramificados e os ramos são sempre sarmentosos. Portanto, o hábito sarmentoso, folíolos geralmente elípticos e planos e epiderme na face adaxial com desdobramentos são caracteres vegetativos que distinguem esta das demais morfoespécies de *A. acutifolium*. As morfoespécies “touceira” e “pilosa” de *Anemopaegma acutifolium* não apresentam caracteres anatômicos distintivos.

Morfologicamente, *Anemopaegma arvense* pode ser separada das demais espécies do complexo por apresentar folhas sésseis e inflorescências axilares reduzidas a uma única flor. As morfoespécies de *A. arvense* foram separadas de acordo com o formato da lâmina foliolar e da pubescência, tendo *A. arvense* “típica” folíolos lineares glabros ou densamente pilosas, *A. arvense* “lanceifolia pilosa” com folíolos oblanceolados, com o terço apical ondulado a retorcido e densamente pilosas e, *A. arvense* “lanceifolia glabra” com as mesmas características foliulares de *A. arvense* “lanceifolia pilosa”, porém sem pilosidade. Apesar da diferença na morfologia da lâmina foliolar, *A. arvense* “típica” e *A. arvense* “lanceifolia pilosa” apresentaram a mesma constituição anatômica da lâmina foliolar. Já *A. arvense* “lanceifolia glabra”, não obstante a semelhança morfológica com *A. arvense* “lanceifolia pilosa” mostrou ser anatomicamente distinta desta e semelhante às morfoespécies de *A. acutifolium*. Segundo GENTRY (1980), a presença ou ausência de pubescência pode ser um caráter bastante variável intraespecificamente, não devendo ser usado como diagnóstico para as espécies. Entretanto, no caso das morfoespécies de *A. arvense*, “lanceifolia pilosa” e “lanceifolia glabra”, este é um caráter que distingue morfologicamente as duas

morfoespécies. Portanto, *Anemopaegma arvense* pode ser reconhecida pelos seguintes caracteres: (1) hábito subarbastivo, pouco a muito ramificado, neste último caso formando touceira; (2) folíolos lineares glabros ou pilosas ou, folíolos oblanceolados densamente pilosas; (3) inflorescências axilares constituídas por uma única flor; (4) ausência de cordões de floema na face adaxial da nervura mediana, sendo esta região composta por fibras e células parenquimáticas; (5) parênquima da região marginal do folíolo constituído somente por parênquima clorofiliano diferenciado em paliçádico e lacunoso, sem a presença de parênquima não clorofiliano. De acordo com tais caracteres, *A. arvense* “lanceifolia glabra” não pode ser considerada *A. arvense*, podendo ser identificada como *A. acutifolium*.

As morfoespécies de *Anemopaegma glaucum* são facilmente distintas de *A. acutifolium* e *A. arvense* por se tratarem de plantas arbustivas, geralmente com ramos ascendentes e folíolos largamente oblanceolados, oblongos ou obovados. Apesar de possuírem hábito arbustivo, em condições naturais, os indivíduos desta espécie podem apresentar-se como subarbastos bastante ramificados e com ramos rentes ao chão quando rebrotam após a passagem do fogo. Independente da variação no hábito, estas são reconhecidas pela morfologia foliolar. Anatomicamente, *Anemopaegma glaucum* “típica” da BA diferiu das demais morfoespécies por apresentar desdobramentos das células epidérmicas de ambas as faces da lâmina foliolar e pela ausência de calota de fibras acima do xilema das nervuras laterais. Esta característica foi observada também em *A. glaucum* “não glauca”. Os caracteres anatômicos citados acima não são considerados suficientes para a separação de tais morfoespécies das demais, já que a morfologia externa e as outras características anatômicas são compartilhadas por todas as morfoespécies. A presença de tricomas tectores, densamente distribuídos nos folíolos, caracterizou *A. glaucum* “pubescente”. Ao contrário do encontrado em *Anemopaegma arvense*, o indumento de *A. glaucum* “pubescente” não pode ser usado para separar esta morfoespécie das demais, pois constitui o único caráter distintivo. De acordo

com a pouca variação morfológica e a constância de caracteres anatômicos, as morfoespécies de *Anemopaegma glaucum* podem ser consideradas como uma única espécie.

*Anemopaegma scabriusculum* apresenta características anatômicas bastante constantes entre os indivíduos, consideradas diagnósticas desta espécie, distinguindo-a das demais espécies do complexo. Os principais caracteres anatômicos diagnósticos para esta espécie são: (1) estômatos agrupados nas regiões entre as nervuras de médio e grande calibre; (2) câmaras subestomáticas unidas, formando grandes espaços intercelulares no parênquima lacunoso; (3) presença de extensão de bainha voltada para ambas as faces do folíolo (Tabela 3).

De acordo com os resultados obtidos, nota-se que as espécies e morfoespécies do complexo *Anemopaegma arvense* possuem caracteres anatômicos foliolares distintivos que, juntos com a morfologia externa, podem auxiliar na circunscrição destes táxons. Os principais caracteres foliolares diagnósticos referem-se à distribuição dos estômatos, ao tipo de epiderme, à vascular da nervura mediana, à composição das nervuras laterais, e à presença da bainha dos feixes vasculares nas nervuras laterais. Os aspectos da anatomia foliolar constituem elementos que reforçam a separação de *A. scabriusculum* do complexo *Anemopaegma arvense*.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Armstrong JE. 1985.** The Delimitation of Bignoniaceae and Scrophulariaceae Based on Floral Anatomy, and the Placement of Problem Genera. *American Journal of Botany* **72**: 755-766.
- Ascensão L, Marques N, Pais MS. 1995.** Glandular Trichomes on Vegetative and Reproductive Organs of *Leonotis leonurus* (Lamiaceae). *Annals of Botany* **75**: 619-626.
- Ascensão L, Marques N, Pais MS. 1997.** Peltate Glandular Trichomes of *Leonotis leonurus* leaves: ultrastructure and histochemical characterization of secretions. *International Journal of Plant Science* **158**: 249-258.

- Batistini AP. 2006.** *Diversidade Morfológica, Genética e Química de Populações Naturais de Anemopaegma arvense (Vell.) Steff.* Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista, UNESP, Jaboticabal.
- Bureau E, Schumann K 1896.** Bignoniaceae. In: Martius CFP, Eichler AG, Urban I. (eds.). *Flora Brasiliensis*. Vol. VIII. Part II. 1-228 p.
- Carlswald BS, Stern WL, Bytebier B. 2006.** Comparative vegetative anatomy and systematics of the angraecoids (Vandaeae, Orchidaceae) with a emphasis on the leafless habit. *Botanical Journal of the Linnean Society* **151**: 165-218.
- Crow E, Stirton CH, Cutler DF. 1997.** Leaf anatomy of the genus *Psoralea sensu stricto* (Psoraleeae, Papilionoideae, Leguminosae). *Botanical Journal of the Linnean Society* **124**: 155-182.
- De Candolle A. 1845.** Bignoniaceae. *Prodomus Systematis Naturalis regnis vegetabilis*. Paris, Treuttel et Wurtz. Paris IX. P. 142-248.
- Dousseau S, Alvarenga AA, Castro EM, Soares RP, Emrich EB, Melo LA 2008.** Anatomia foliar de *Tabebuia serratifolia* (Vahl) Nich. (Bignoniaceae) propagadas *in vitro*, *in vivo* e durante a aclimatização. *Ciência e Agrotecnologia* **32**: 1694-1700.
- Elias TS, Gelband H. 1976.** Morphology and Anatomy of Floral and Extrafloral Nectaries in *Campsis* (Bignoniaceae). *American Journal of Botany* **63**: 1349-1353.
- Elias TS, Prance GT. 1978.** Nectaries on the Fruit of *Crescentia* and Other Bignoniaceae. *Brittonia* **30**: 175-181.
- Endress PK, Baas P, Gregory M. 2001.** Systematic plant morphology and anatomy-50 years of progress. In: Stuessy TF, Hörandl E, Mayer V. (eds). *Plant Systematics. A Half-Century of Progress (1950-2000) and Future Challenges*. Ferdinand Berger & Söhne GmbH, Horn, Austria. Pp. 3-36.
- Esau, K. 1974.** Anatomia das plantas com sementes. Tradução: Berta Lange de Morretes. Edgard Blücher. São Paulo.
- Ferreira MB. 1973.** Bignoniaceae do Distrito Federal – I O Gênero *Anemopaegma* Mart. *Oréades* **6**: 28-39.
- Fischer E, Theisen I, Lohmann LG. 2004.** Bignoniaceae. In: Kadereit JW, Kubitzki K. (Org.). *The families and genera of vascular plants*. 1<sup>st</sup> ed. Heidelberg, vol. 7 p.9-98.
- Gabrielli AC. 1988.** *Anatomia da semente e das partes vegetativas em desenvolvimento de Pyrostegia venusta (Ker.) Miers (Bignoniaceae)*. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

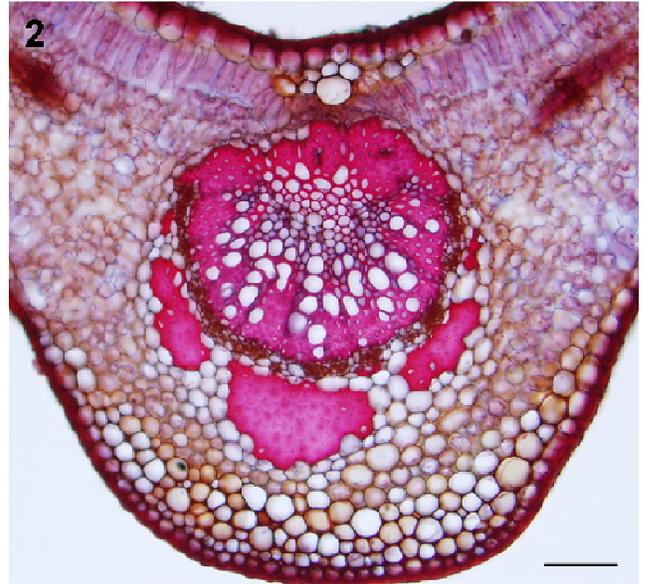
- Gentry AH. 1973.** Flora do Panamá. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **60**: 781-977.
- Gentry AH. 1980.** Bignoniaceae, Part 1 – Tribes Crescentieae and Tourrettieae. *Flora Neotropica Monograph* **25**: 1-130.
- Gerrits PA. 1991.** The application of glycol methacrilate in histotechnology; some fundamental principles. Department of Anatomy and Embryology State University Groningen, Netherlands.
- Gomes SMA, Silva EAM, Lombardi JA, Azevedo AA, Vale FHA. 2005.** Anatomia foliar como subsídio à taxonomia de Hippocrateoideae (Celastraceae) no Sudeste do Brasil. *Acta Botânica Brasilica* **19**: 945-961.
- Guimarães DJ, Oliveira BAD, Marquete O, Magalhães HG, Neto HM. 1979.** Contribuição ao estudo anatômico de plantas tóxicas brasileiras: *Pseudocalymma elegans* (Vell.) Kuhl. *Revista Brasileira de Biologia* **39**: 817-822.
- Hyakutake S, Grotta AS. 1965.** Contribuição ao estudo morfológico e anatômico de *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellfeld. var. *petiolata* Bur. Bignoniaceae. *Revista da Faculdade de Farmácia e Bioquímica da Universidade de São Paulo* **3**: 51-78.
- Johansen DA. 1940.** Plant microtechnique. McGraw-Hill, New York.
- Lersten NR, Krueger L, Curtis JD. 2002.** Tracheoid Variation among Bignoniaceae Seed Wings, with Emphasis on *Campsis radicans*. *International Journal of Plant Science* **163**: 369-378.
- Lohmann LG. 2006.** Untangling the Phylogeny of Neotropical Lianas (Bignoniaceae, Bignoniaceae). *American Journal of Botany* **93**: 304-318.
- Lohmann LG. no prelo.** A new generic classification for Bignoniaceae (Bignoniaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden*.
- Machado SR, Gregório EA, Guimarães E. 2006.** Ovary Peltate Trichomes of *Zehyeria montana* (Bignoniaceae): Developmental Ultrastructure and Secretion in Relation to Function. *Annals of Botany* **97**: 357-369.
- Martins MBG, Castro AA, Cavalheiro AJ. 2008.** Caracterização anatômica e química de folhas de *Jacaranda puberula* (Bignoniaceae) presente na Mata Atlântica. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **18**: 600-607.
- Mauro C, Pereira AMS, Silva CP, Missima J, Ohnuki T, Rinaldi RB. 2007.** Estudo anatômico das espécies de cerrado *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza (catuaba), *Zehyeria montana* Mart. (bolsa-de-pastor) e *Jacaranda decurrens* Chamisso (caroba) – Bignoniaceae. *Revista Brasileira de Farmacognosia* **17**: 262-265.

- Metcalf CR. 1983.** Anatomy, Phylogeny, and Taxonomy. In: Metcalfe CR, Chalk L. (eds). *Anatomy of the Dicotyledons. Wood Structure and Conclusion of the General Introduction*. Vol. II. 2<sup>nd</sup> Edition. Clarendon Press, Oxford. Pp. 98-108.
- Metcalf CR, Chalk L. 1950.** *Anatomy of Dicotyledons*. Vol. II. Oxford, Clarendon Press.
- Morretes BL. 1980.** *Contribuição ao Conhecimento da Anatomia Ecológica de Plantas do Cerrado de Emas-SP e da Caatinga Amazônica do KM 62 da Rodovia BR-174*. Tese de Livre Docência, Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.
- O'Brien TP, Feder N, McCully ME. 1964.** Polychromatic staining of plant cell walls by toluidine blue O. *Protoplasma* **59**: 368-373.
- Oliveira RP, Longhi-Wagner HM, Leite KRB. 2008.** A contribuição da anatomia foliar para a taxonomia de *Raddia* Bertol. (Poaceae: Bambusoideae). *Acta Botânica Brasileira* **22**: 1-19.
- Ortolani FA. 2007.** *Morfo-anatomia, citogenética e palinologia em espécies de Ipês (Bignoniaceae)*. Tese de doutorado. Universidade Estadual Paulista, FCAV/UNESP, Jaboticabal, SP.
- Ortolani FA, Mataqueiro MF, Moro LR, Moro FV, Damião Filho CF. 2008.** Morfo-anatomia de plântulas e número cromossômico de *Cybistax antisiphilitica* (Mart.) Mart. (Bignoniaceae). *Acta Botânica Brasileira* **22**: 345-353.
- Pereira AMS, Coral DJ, Bertoni BW, Batistini AP, Amui SF, Moraes RM, & França SC. 2007.** *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellfeld ex de Souza. Capítulo 7. In: Pereira, A.M.S. *et al. Recursos Genéticos e Conservação de Plantas Medicinais do Cerrado*. Ribeirão Preto, 360 p.
- Reis C, Bieras AC, Sajo MG. 2005.** Anatomia foliar de Melastomataceae do Cerrado do Estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Botânica* **28**: 451-466.
- Renó LR, Moscheta IS, Braccini AL. 2007.** Morfo-anatomia do fruto e semente de Amarelinho (*Tecoma stans* (L.) Kunth – Bignoniaceae). *Revista Brasileira de Sementes* **29**: 18-30.
- Rio MCS, Kinoshita LS, Castro MM. 2005.** Anatomia foliar como subsídio para a taxonomia de espécies de *Forsteronia* G.Mey (Apocynaceae) dos cerrados paulistas. *Revista Brasileira de Botânica* **28**: 713-726.
- Sandwith NY, Hunt DR. 1974.** Bignoniáceas. In: Reitz R. (ed.). *Flora ilustrada catarinense*. Herbário Barbosa Rodrigues, Itajaí.
- Seibert RJ. 1948.** The Use of Glands in a Taxonomic Consideration of the Family Bignoniaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **35**: 123-137.
- Smith FH, Smith EC. 1942.** Anatomy of the inferior ovary of *Darbya*. *American Journal of Botany* **29**: 464-471.

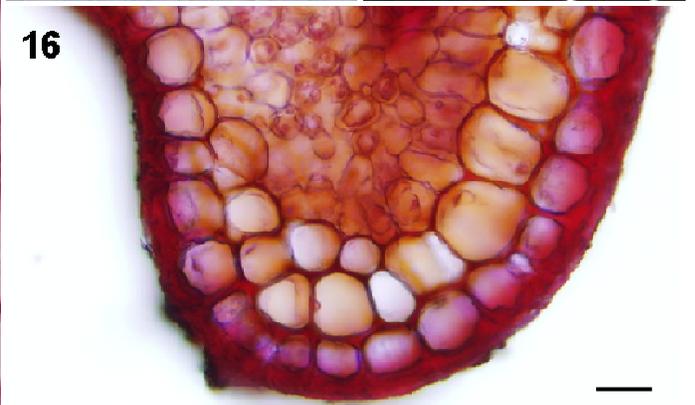
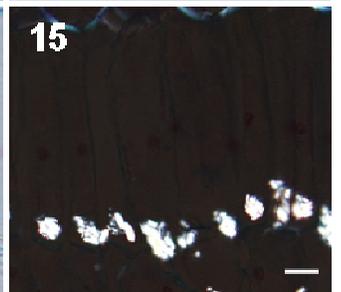
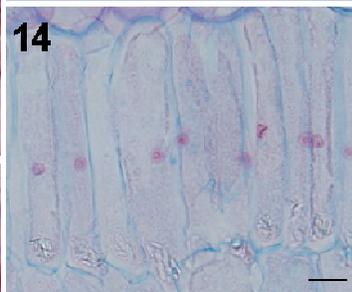
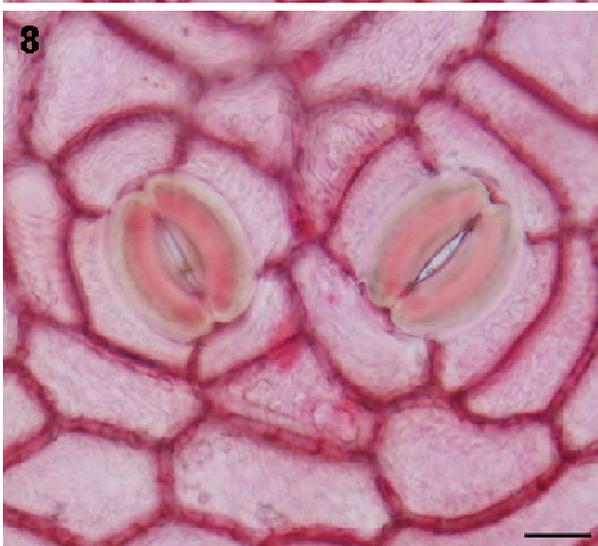
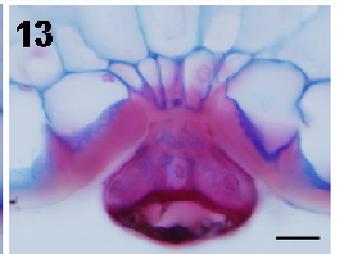
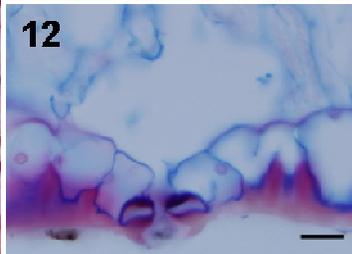
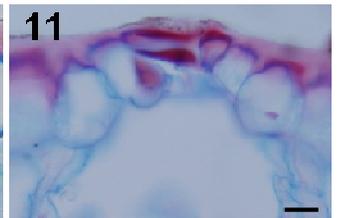
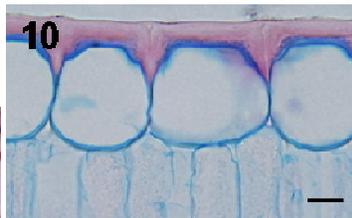
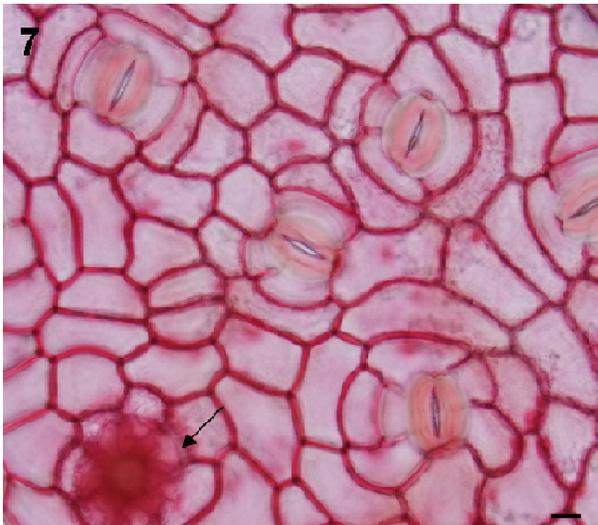
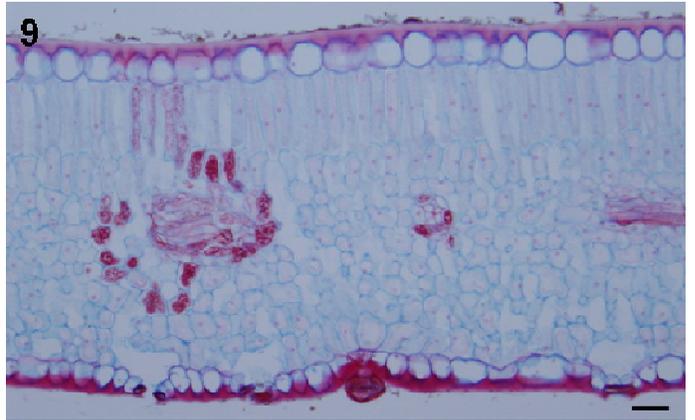
- Stace CA. 1989.** Structural information. In: Stace CA (ed.). *Plant Taxonomy and Biosystematics*. 2<sup>nd</sup> Edition. Cambridge University Press. Pp. 69-85.
- Teixeira SP, Gabrielli AC. 2006.** Taxonomic value of foliar characters in *Dahlstedtia* Malme – Leguminosae, Papilionoideae, Millettieae. *Acta Botanica Brasilica* **20**: 395-403.
- Trivedi ML, Shailja, Kanna V. 1977.** Petiolar anatomy of certain members of Bignoniaceae. *Proceedings of the Indian Academy of Science secB* **85**: 57-66.
- Wilkinson HP. 1979.** The Plant Surface (Mainly Leaf). In: Metcalfe CR, Chalk L. (eds). *Anatomy of the Dicotyledons*. Vol. I. 2<sup>nd</sup> Edition. Clarendon Press, Oxford. Pp. 97-165

**Tabela 3.** Características anatômicas apresentadas pelas espécies e morfoespécies do complexo *Anemopaegma arvense* e por *A. album*, espécie externa ao complexo. Morfoespécies de *A. acutifolium* = 1. “Típica”; 2. “Sarmentosa”; 3. “Touceira”; 4. “Pilosa”. Morfoespécies de *A. arvense* = 5. “Típica”; 6. “Lanceifolia pilosa”; 7. “Lanceifolia glabra”. Morfoespécies de *A. glaucum* = 8. “Típica” da BA; 9. “Típica” do DF; 10. “Não glauca”; 11. “Triplinérvea”; 12. “Pilosa”. + = presente; - = ausente; Anfi = folíolo anfiestomático (estômatos em ambas as faces da epiderme); Col = feixe vascular colateral; Del = paredes anticlinais delgadas; DV = mesofilo dorsiventral; Esp = paredes anticlinais espessas; Hipo = folíolo hipoestomático (estômatos somente na face abaxial); NRev = margem não revoluta; NV = não visto; O = ornamentada (com estriações); Par = paracítico; PCI = parênquima clorofiliano; PD = calota de fibras sobre o xilema pouco desenvolvida; PF = parênquima fundamental; Rev = margem revoluta; Uni = uniestratificada; \* = não visto em ambas as faces; \*\* = presença de estômatos geminado.

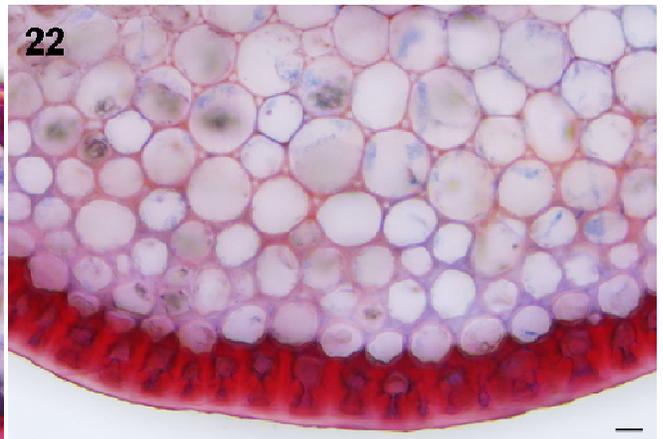
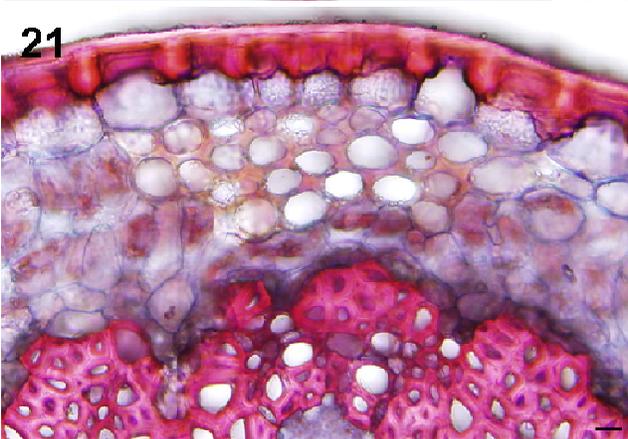
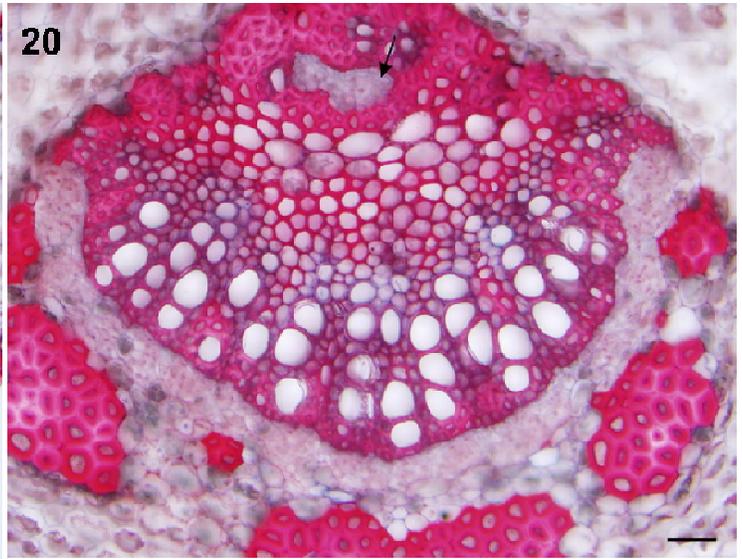
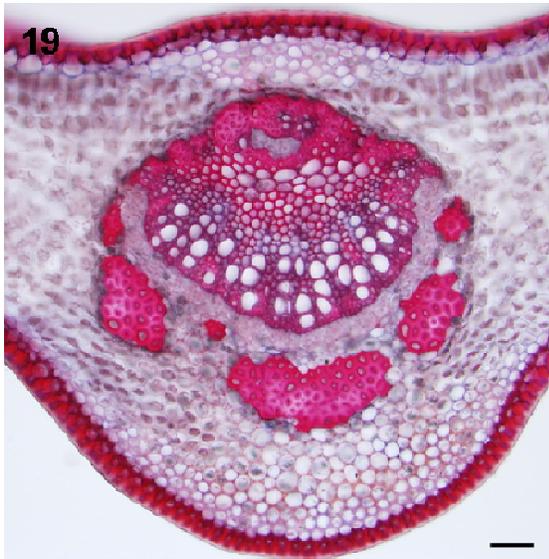
Caracteres	A acutifolium						A. arvense						A. glaucum						A. scaberrimum	A. album					
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	1	2	3	4	5	6			7	8	9	10	11
Nervura mediana	+	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Cordões floemáticos	0	0	0	0	0	0*	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Tipo de epiderme	Uni	Mista	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni
Face adaxial	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni
Face abaxial	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni	Uni
Espessamento das paredes anticlinais das células epidérmicas	Del	Esp	Esp	Del	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	
Face adaxial	Del	Esp	Esp	Del	Esp	Del	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	
Face abaxial	Del	Esp	Esp	Del	Esp	Del	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	Esp	
Estômato	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	
Tipo	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	Par	
Localização	Anfi	Hipo	Hipo	Hipo	Hipo	Hipo	Hipo	Hipo	Hipo	Hipo	Hipo	Hipo	Hipo	Hipo	Hipo	Hipo	Hipo	Hipo	Hipo	Hipo	Hipo	Hipo	Hipo	Hipo	
Disposição	Isolados	Isolados	Isolados	Isolados	Isolados	Isolados	Isolados	Isolados	Isolados	Isolados	Isolados	Isolados	Isolados	Isolados	Isolados	Isolados	Isolados	Isolados	Isolados	Isolados	Isolados	Isolados	Isolados	Isolados	
Tricoma tector	-	-	+	+	+ ou -	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Tricoma glandular pelado	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Subtipo I	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Subtipo II	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Tipo de mesofilo	DV	DV	DV	DV	DV	DV	DV	DV	DV	DV	DV	DV	DV	DV	DV	DV	DV	DV	DV	DV	DV	DV	DV	DV	
Parênquima palhádico (n° camadas)	2 a 3	2 a 3	1 a 2	1 a 3	1 a 2	1 a 2	1 a 2	1 a 3	2 a 4	2 a 4	2 a 4	2 a 4	2 a 4	2 a 4	2 a 4	2 a 4	2 a 4	2 a 4	2 a 4	2 a 4	2 a 4	2 a 4	2 a 4	2 a 4	
Parênquima lacunoso (n° camadas)	8 a 10	6 a 8	5 a 7	5 a 7	5 a 6	6 a 8	8 a 9	8 a 10	8 a 10	8 a 10	8 a 9	8 a 9	8 a 9	8 a 9	8 a 9	8 a 9	8 a 9	8 a 9	8 a 9	8 a 9	8 a 9	8 a 9	8 a 9	8 a 9	
Cristais prismáticos nas células parenquimáticas	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Conteúdo granuloso nas células parenquimáticas	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Extensão de banda do feixe	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	
Feixes vasculares	Col	Col	Col	Col	Col	Col	Col	Col	Col	Col	Col	Col	Col	Col	Col	Col	Col	Col	Col	Col	Col	Col	Col	Col	
Tipo	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
Calota de fibras sobre o xilema	Rev	Rev	Rev	Rev	Rev	Rev	Rev	Rev	Rev	Rev	Rev	Rev	Rev	Rev	Rev	Rev	Rev	Rev	Rev	Rev	Rev	Rev	Rev	Rev	
Margem	Redonda	Redonda	Redonda	Redonda	Redonda	Redonda	Redonda	Redonda	Redonda	Redonda	Redonda	Redonda	Redonda	Redonda	Redonda	Redonda	Redonda	Redonda	Redonda	Redonda	Redonda	Redonda	Redonda	Redonda	
Forma	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	
Constituição do mesofilo	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	PF+ PCL	



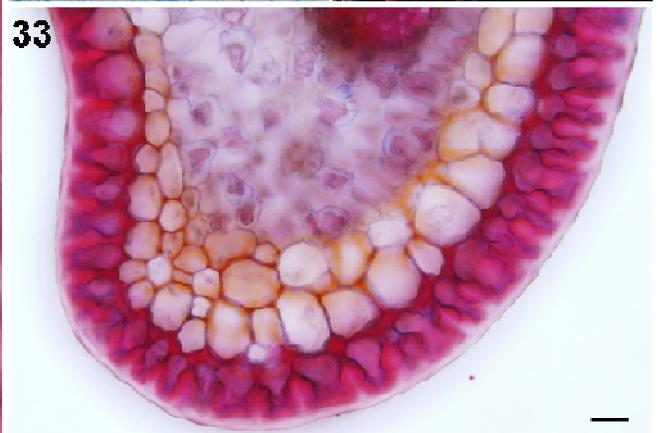
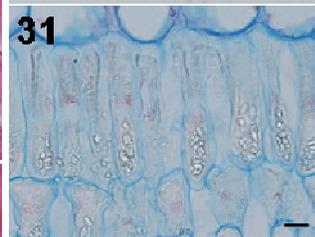
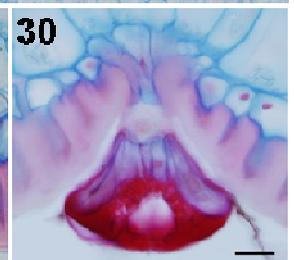
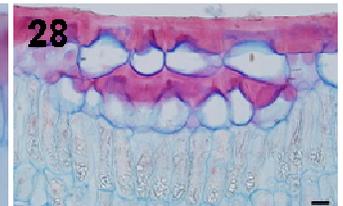
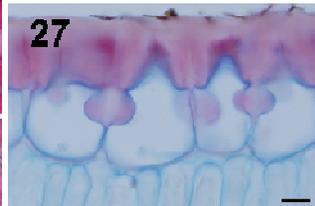
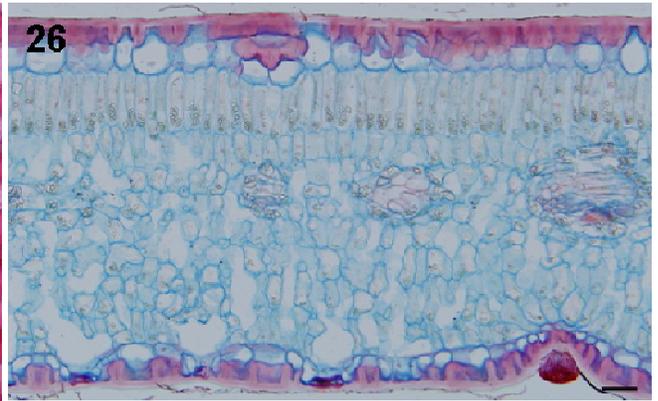
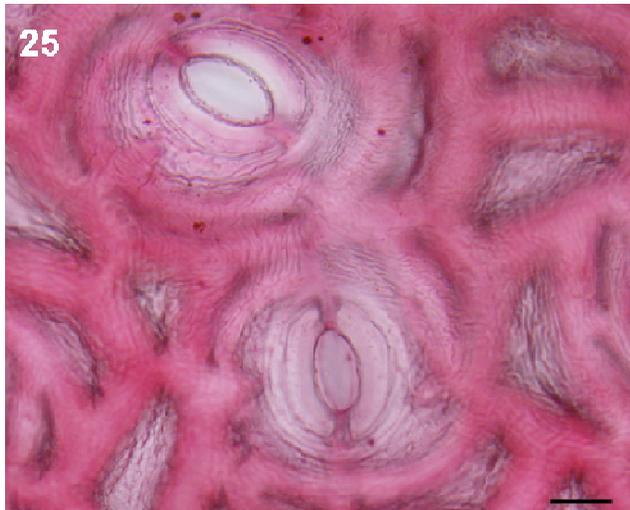
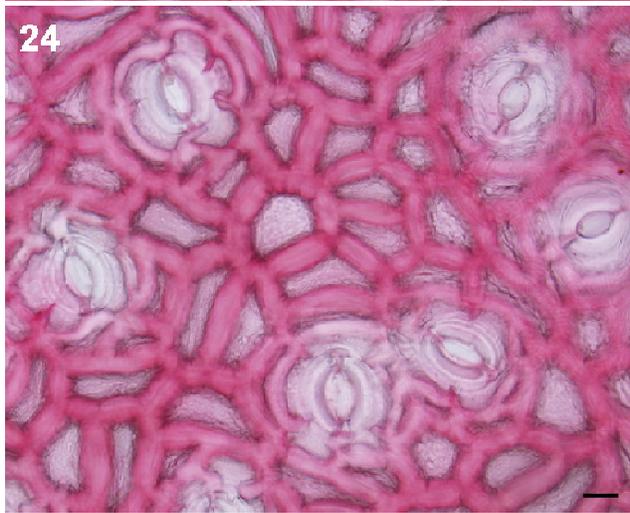
**Figuras 1-5.** *Anemopaegma acutifolium* "típica". **1.** Aspecto geral da planta. **2-5.** Secções transversais da nervura mediana do folíolo terminal adulto. **2.** Aspecto geral. **3.** Sistema vascular. **4.** Face adaxial. **5.** Face abaxial. Barras = 100 µm (2); 20 µm (3); 10 µm (4-5).



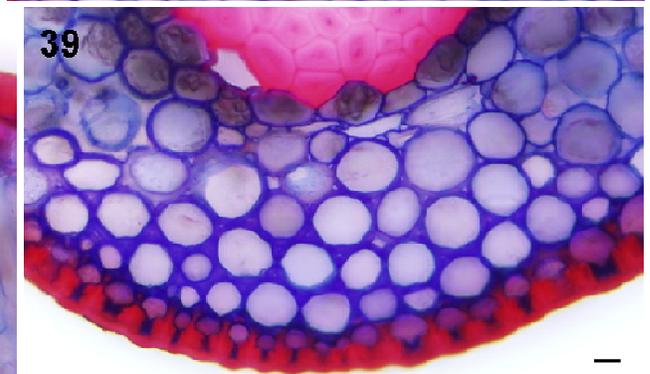
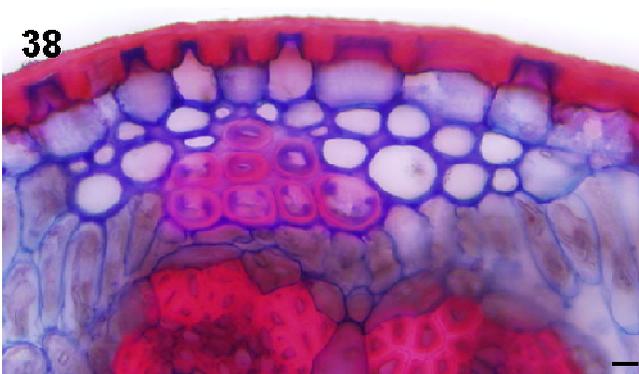
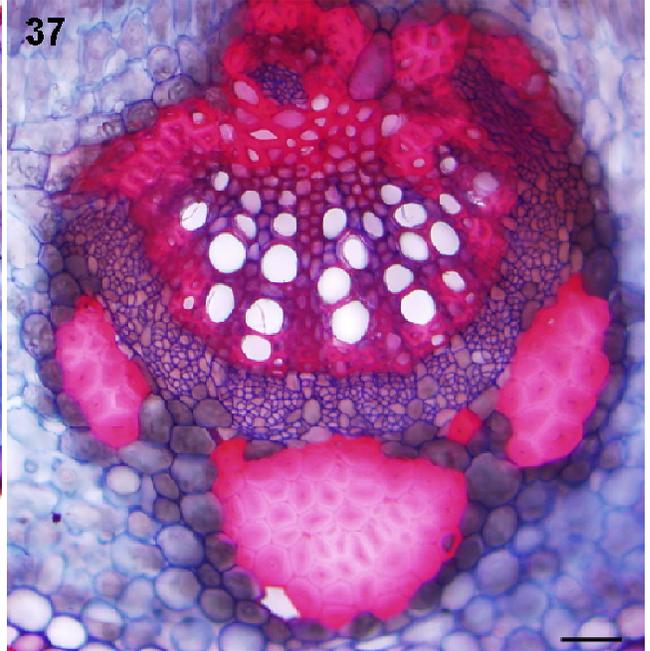
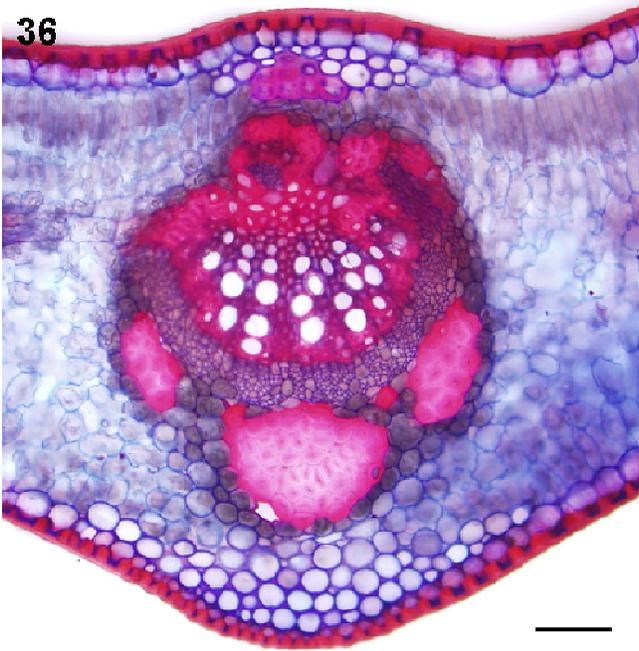
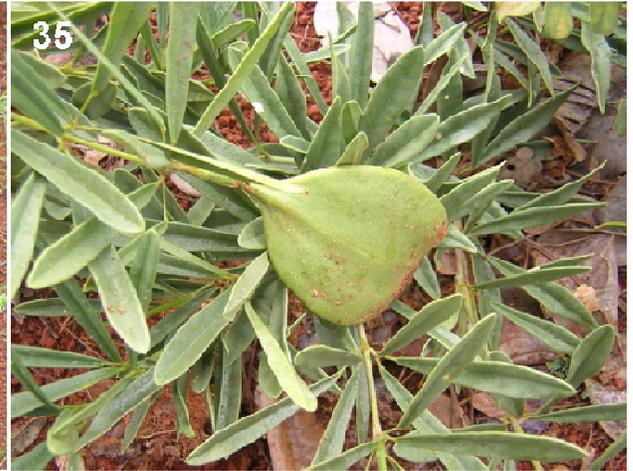
**Figuras 6-16.** *Anemopaegma acutifolium* "típica". **6-8.** Vista frontal da epiderme. **6.** Face adaxial. **7-8.** Face abaxial com tricoma glandular (seta) e estômatos paracíticos. **9-16.** Secções transversais da lâmina foliolar. **9.** Aspecto geral da lâmina foliolar dorsiventral. **10.** Células epidérmicas da face adaxial; epiderme uniestratificada. **11.** Estômato da face adaxial; ocorrência rara. **12.** Estômato da face abaxial. **13.** Tricoma glandular da face abaxial. **14.** Células do parênquima paliçádico com cristais prismáticos. **15.** Cristais prismáticos nas células do parênquima paliçádico sob luz polarizada. **16.** Aspecto geral da margem do folíolo. Barras = 50 µm (9); 20 µm (16); 10 µm (6-8; 10-15)



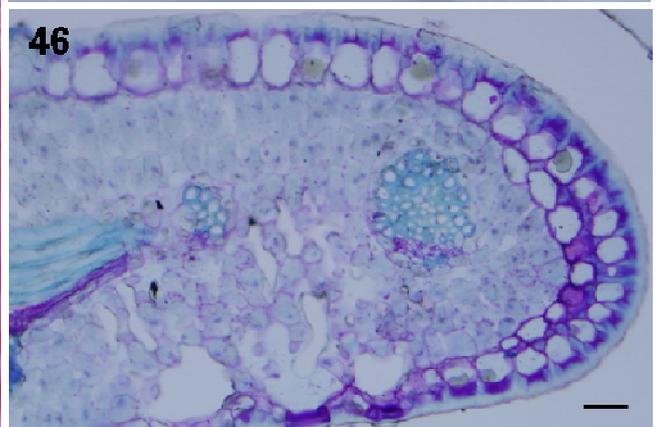
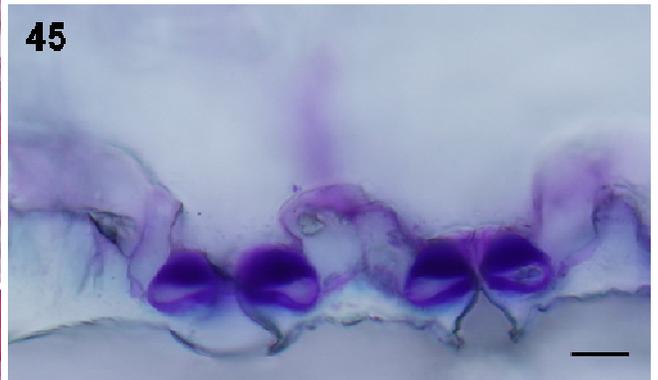
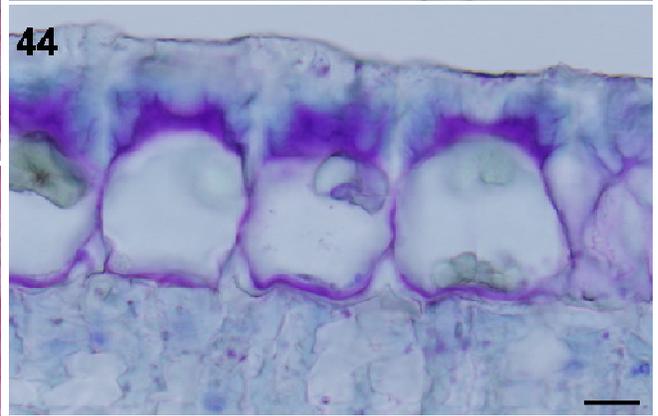
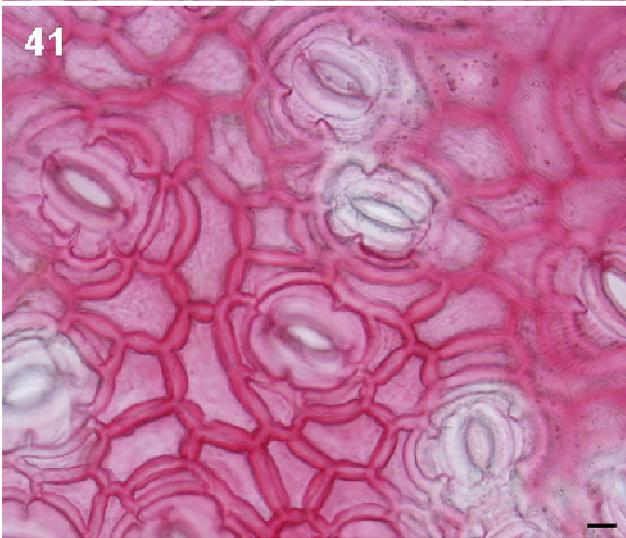
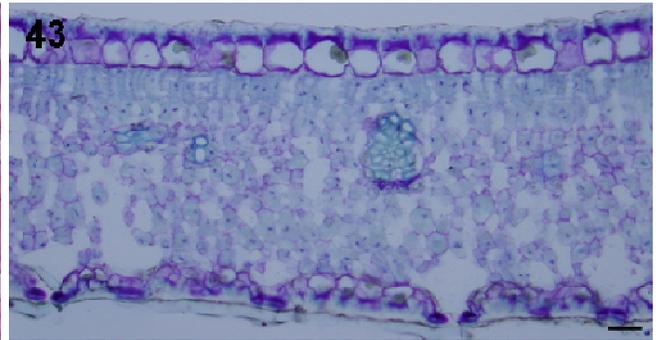
**Figuras 17-22.** *Anemopaegma acutifolium* "sarmentosa". **17.** Aspecto geral da planta; ramos próximos ao solo. **18.** Morfologia foliar; folhas trifolioladas com folíolos elípticos. **19-22.** Secções transversais da nervura mediana do folíolo terminal adulto. **19.** Aspecto geral. **20.** Sistema vascular, seta mostrando cordão de floema. **21.** Face adaxial. **22.** Face abaxial. Barras = 100 µm (19); 50 µm (20); 10 µm (21-22).



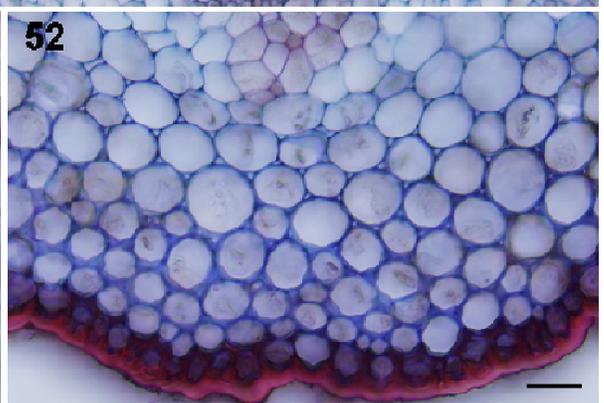
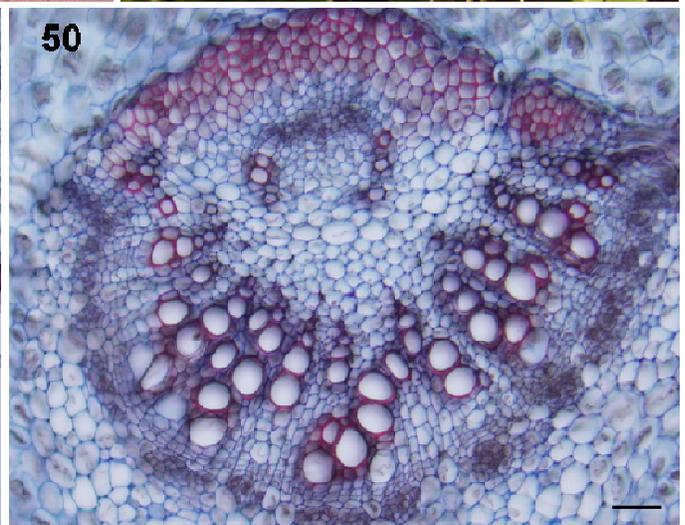
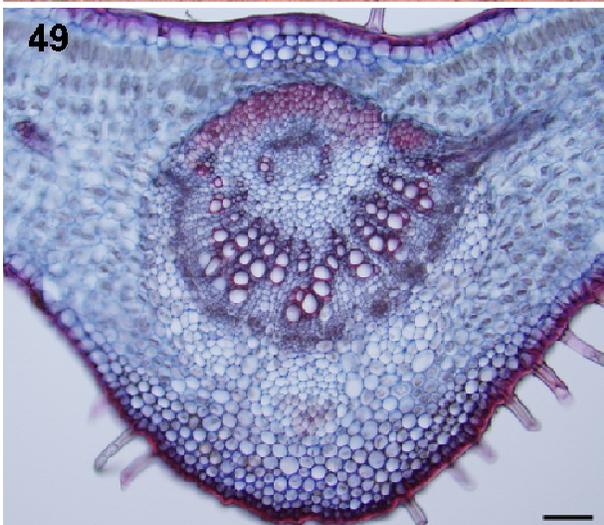
**Figuras 23-33.** *Anemopaegma acutifolium* "sarmentosa". **23-25.** Vista frontal da epiderme. **23.** Face adaxial; células epidérmicas com paredes anticlinais espessadas. **24-25.** Face abaxial; células epidérmicas com paredes anticlinais espessadas, estômatos paracíticos e cutícula ornamentada. **26-33.** Secções transversais da lâmina do folíolo terminal adulto. **26.** Aspecto geral da lâmina foliolar; mesofilo dorsiventral. **27.** Células epidérmicas da face adaxial. **28.** Ponto de desdobramento da epiderme na face adaxial; epiderme mista. **29.** Estômatos na face abaxial, elevados pelas células subsidiárias. **30.** Tricoma glandular peltado na face abaxial. **31.** Células do parênquima paliçádico com cristais prismáticos. **32.** Cristas prismáticos das células do parênquima paliçádico vistos em luz polarizada. **33.** Margem da lâmina foliolar. Barras = 50 µm (26); 20 µm (33); 10 µm (23-25; 27-32).



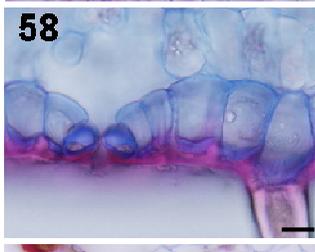
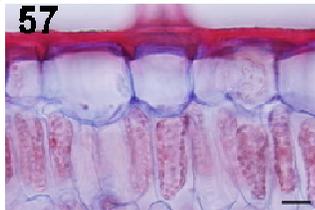
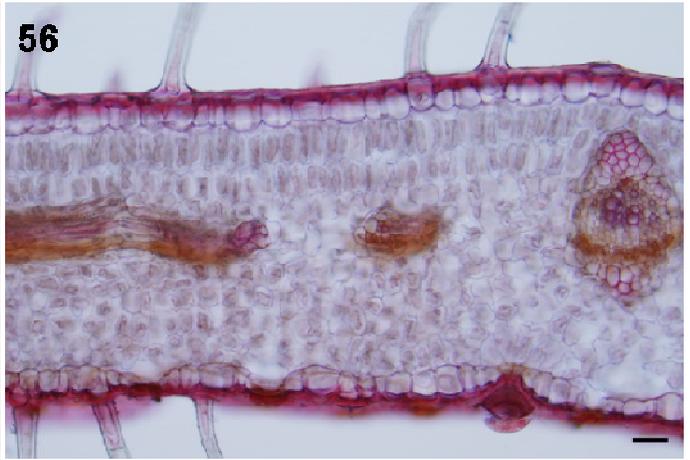
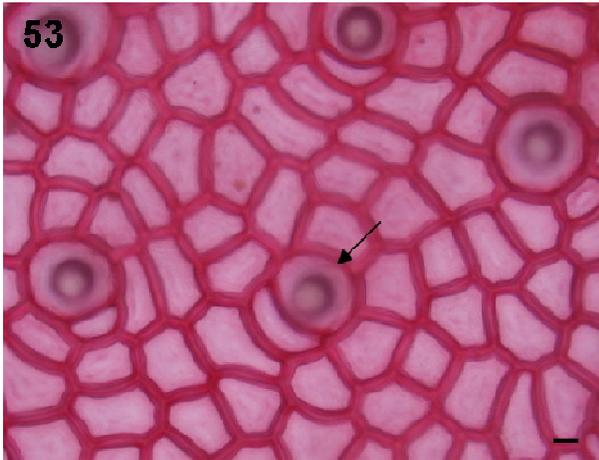
**Figuras 34-39.** *Anemopaegma acutifolium* "touceira". **34.** Aspecto geral da planta em fruto. **35.** Ramos com fruto imaturo; folíolos estreitamente oblanceolados. **36-39.** Secções transversais da nervura mediana do folíolo terminal adulto. **36.** Aspecto geral. **37.** Sistema vascular. **38.** Face adaxial. **39.** Face abaxial. Barras = 100 µm (36); 50 µm (37); 20 µm (38-39).



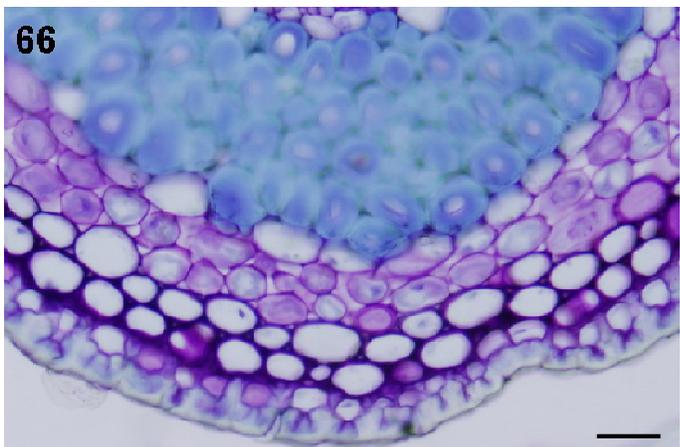
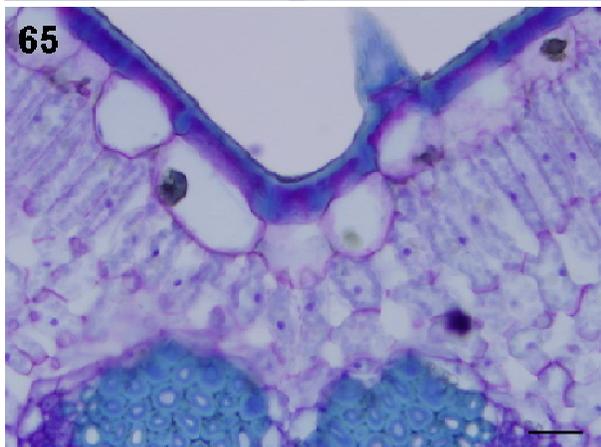
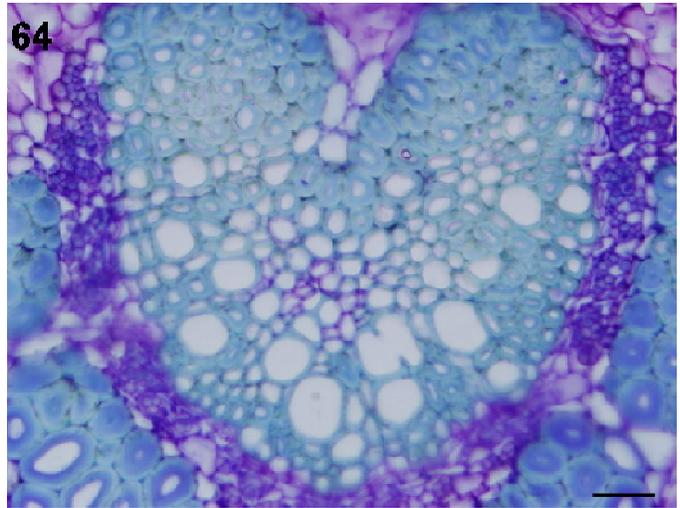
**Figuras 40-46.** *Anemopaegma acutifolium* "touceira". **40-42.** Vista geral da epiderme. **40.** Face adaxial; células epidérmicas com paredes anticlinais espessadas. **41-42.** Face abaxial; células epidérmicas e estômatos paracíticos. **43-46.** Secções transversais da lâmina do folíolo terminal adulto. **43.** Aspecto geral; mesofilo dorsiventral. **44.** Células epidérmicas da face adaxial. **45.** Estômatos da face abaxial. **46.** Margem do folíolo. Barras = 50  $\mu\text{m}$  (43), 20  $\mu\text{m}$  (46), 10  $\mu\text{m}$  (40-42; 44-45).



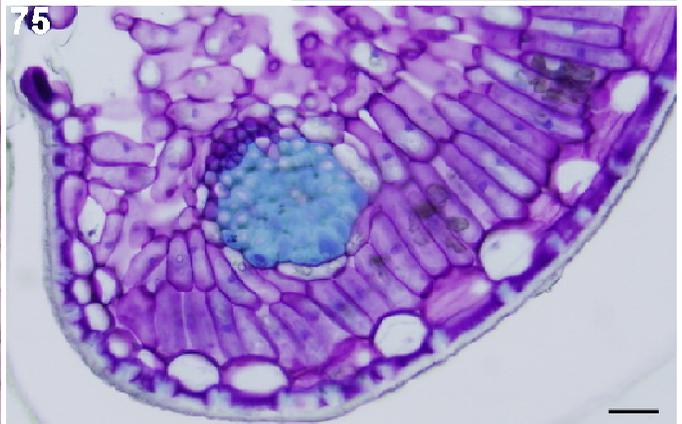
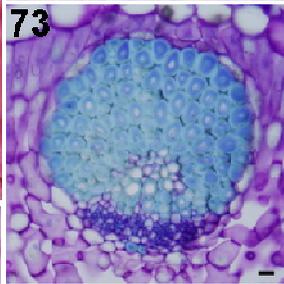
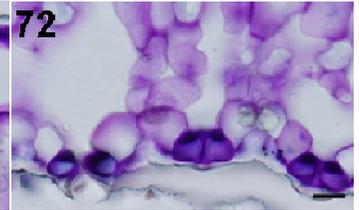
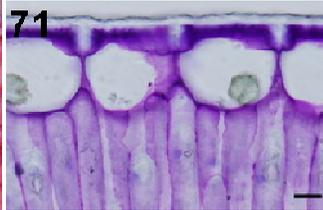
**Figuras 47-52.** *Anemopaegma acutifolium* "pilosa". **47.** Aspecto geral da planta. **48.** Planta em flor; detalhe de folíolos lanceolados. **49-52.** Secções transversais da nervura mediana do folíolo terminal adulto. **49.** Aspecto geral. **50.** Sistema vascular. **51.** Face adaxial. **52.** Face abaxial. Barras = 100 µm (49); 50 µm (50); 20 µm (51-52).



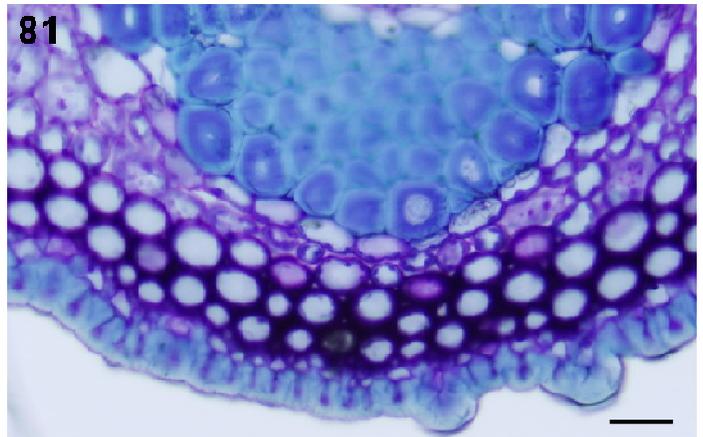
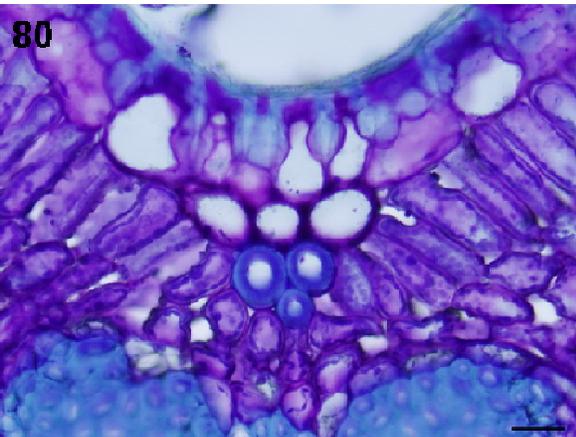
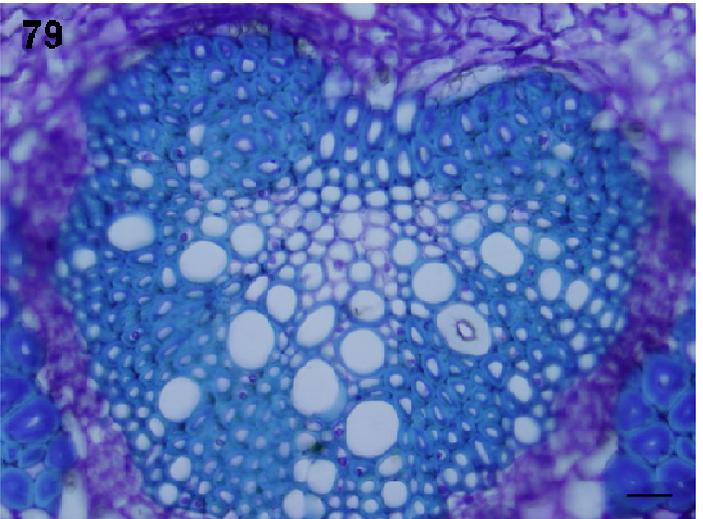
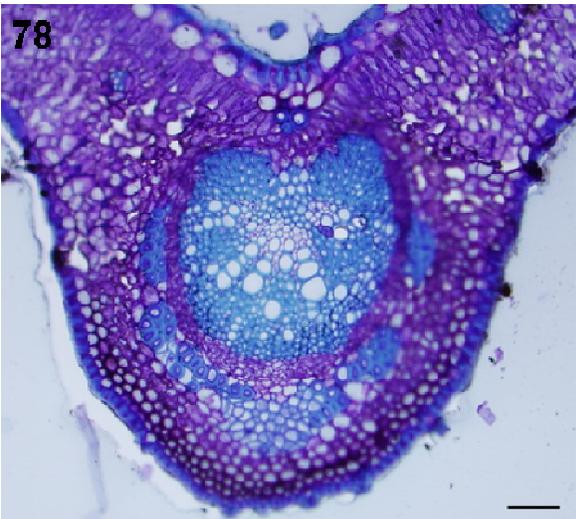
**Figuras 53-60.** *Anemopaegma acutifolium* "pilosa". **53-55.** Vista frontal da epiderme. **53.** Face adaxial; local de inserção dos tricomas tectores (seta). **54-55.** Face abaxial; locais de inserção dos tricomas tectores e estômatos paracíticos. **56-60.** Secções transversais da lâmina foliolar do folíolo terminal adulto. **56.** Aspecto geral da lâmina foliolar; mesofilo dorsiventral. **57.** Células epidérmicas da face adaxial. **58.** Face abaxial; células epidérmicas e estômato. **59.** Tricoma tector multicelular da face adaxial. **60.** Margem do folíolo. Barras = 50  $\mu\text{m}$  (56), 20  $\mu\text{m}$  (60), 10  $\mu\text{m}$  (53-55, 57-59).



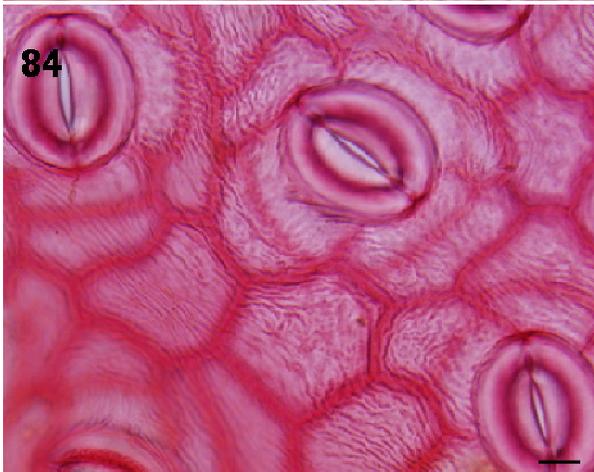
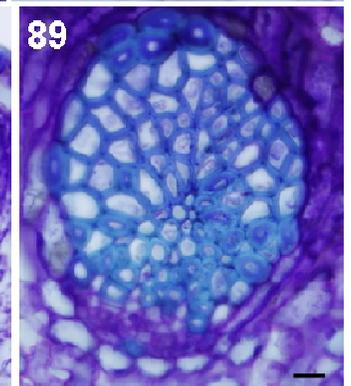
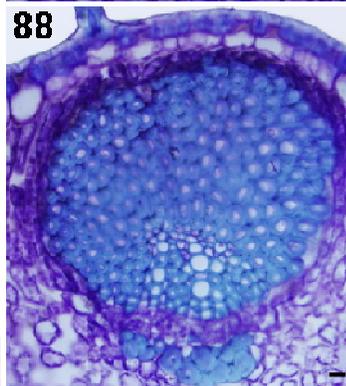
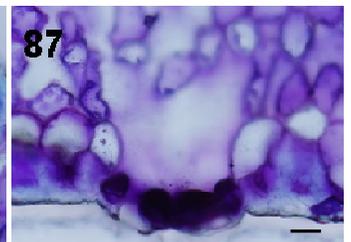
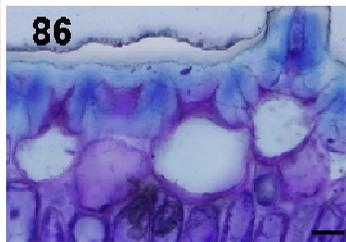
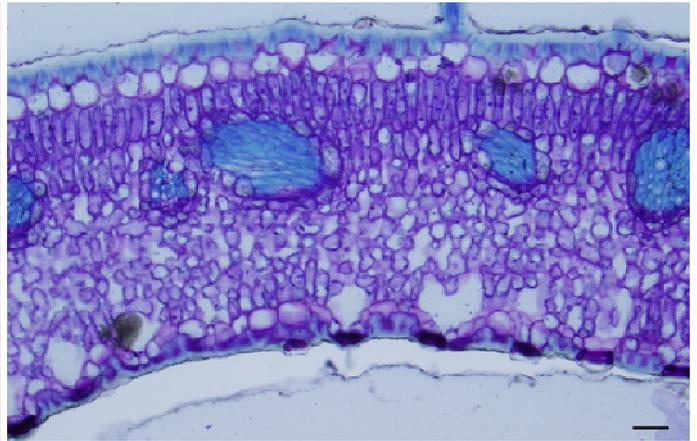
**Figuras 61-66.** *Anemopaegma arvense* "típica". **61.** Aspecto geral da planta. **62.** Ramo florido; folhas trifolioladas com folíolos lineares. **63-66.** Secções transversais da nervura mediana do folíolo terminal adulto. **63.** Aspecto geral. **64.** Sistema vascular. **65.** Face adaxial. **66.** Face abaxial. Barras = 100 µm (63); 20 µm (64-66).



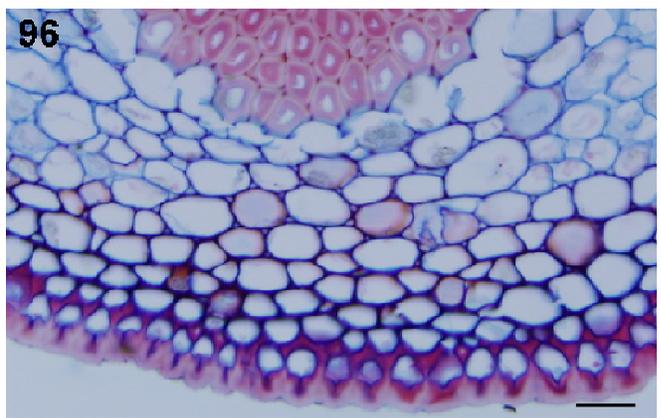
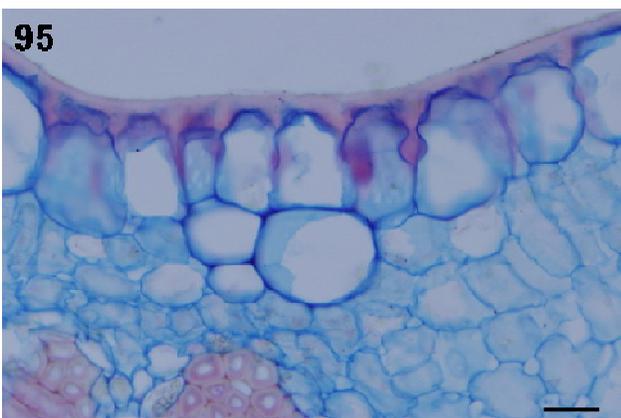
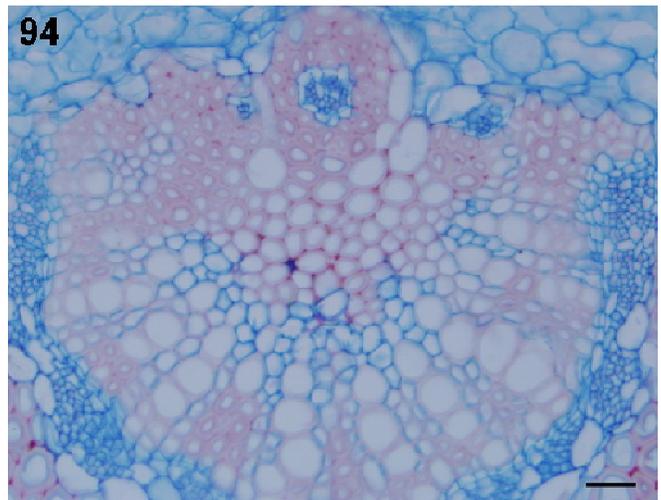
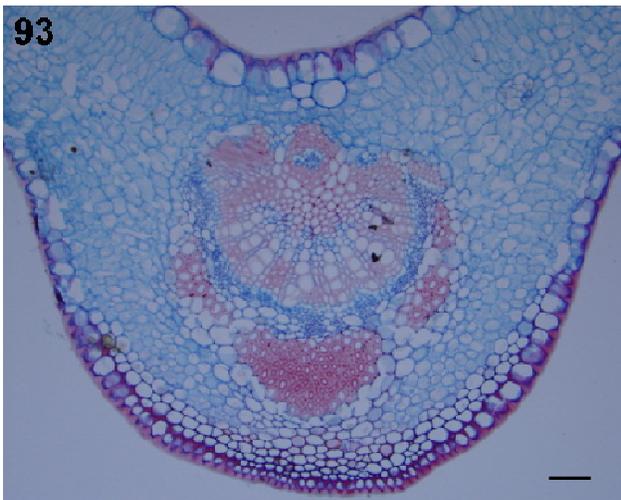
**Figuras 67-75.** *Anemopaegma arvense* "típica". **67-69.** Vista frontal da epiderme. **67.** Face adaxial; células epidérmicas e locais de inserção dos tricomas tectores (seta). **68-69.** Face abaxial. **68.** Tricomas tectores e estômatos. **69.** Estômatos paracíticos e cutícula ornamentada. **70-75.** Secções transversais da lâmina do folíolo terminal adulto. **70.** Aspecto geral. **71.** Células epidérmicas da face adaxial. **72.** Estômatos na face abaxial. **73.** Feixe vascular de nervura secundária; calota de fibras desenvolvida acima do xilema primário. **74.** Tricoma glandular localizada na face abaxial. **75.** Margem do folíolo. Barras = 50 µm (70); 20 µm (75); 10 µm (67-69; 71-74).



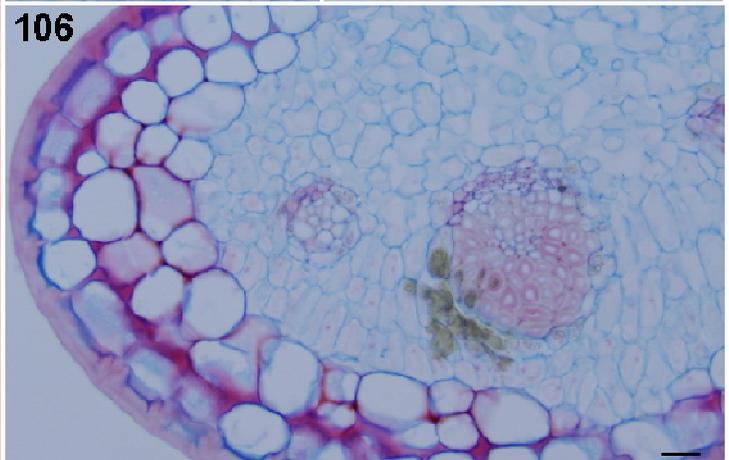
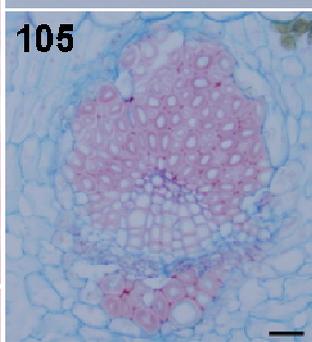
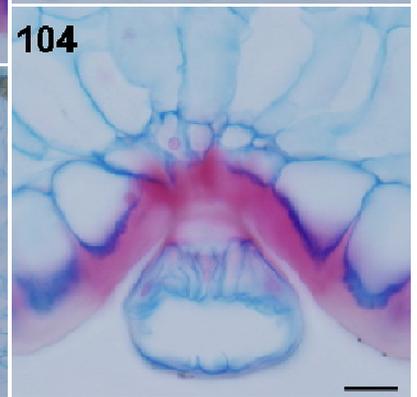
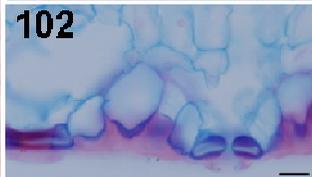
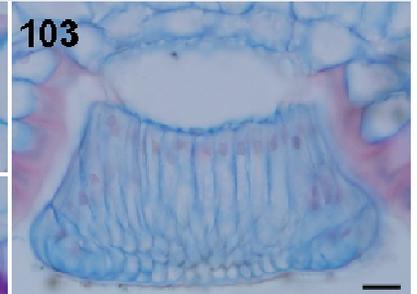
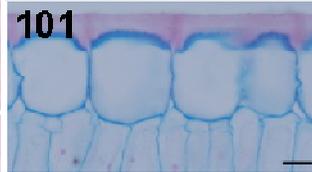
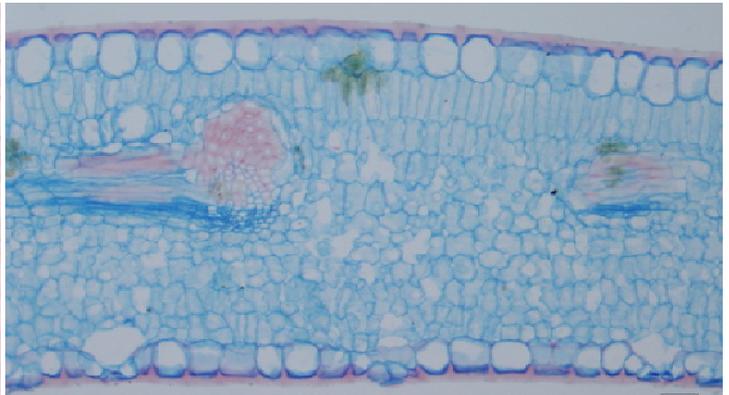
**Figuras 76-81.** *Anemopaegma arvense* "lanceifolia pilosa". **76.** Aspecto geral da planta. **77.** Ramo com folhas trifolioladas; folíolos oblanceolados. **78-81.** Secções transversais da nervura mediana do folíolo terminal adulto. **78.** Aspecto geral. **79.** Sistema vascular. **80.** Face adaxial. **81.** Face abaxial. Barras = 100 µm (78); 20 µm (79-81).



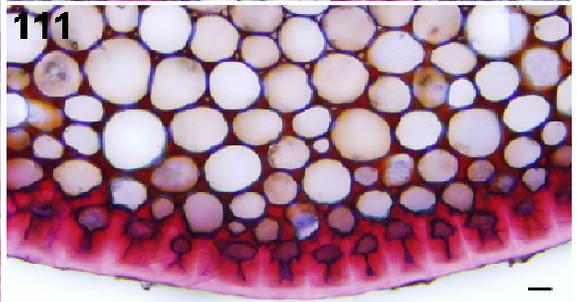
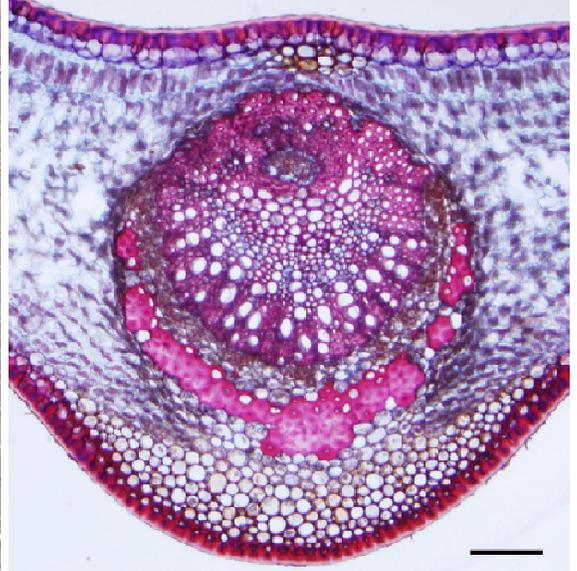
**Figuras 82-90.** *Anemopaegma arvense* "lanceifolia pilosa". **82-84.** Vista frontal da epiderme. **82.** Face adaxial; células epidérmicas. **83-84.** Face abaxial; estômatos paracíticos, cutícula ornamentada e local de inserção de tricoma tector (seta). **85-90.** Secções transversais da lâmina do folíolo terminal adulto. **85.** Aspecto geral; mesofilo dorsiventral. **86.** Células epidérmicas da face adaxial. **87.** Estômatos geminados da face abaxial. **88.** Feixe vascular da nervura secundária. **89.** Feixe vascular de nervura de menor calibre. **90.** Margem do folíolo. Barras = 50  $\mu\text{m}$  (85); 20  $\mu\text{m}$  (90); 10  $\mu\text{m}$  (82-84; 86-89).



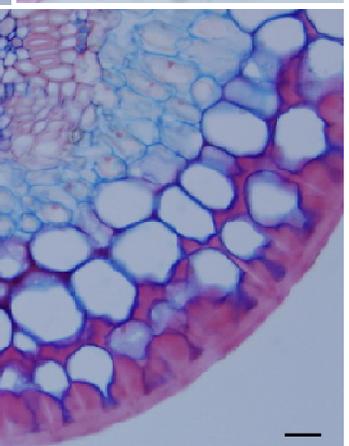
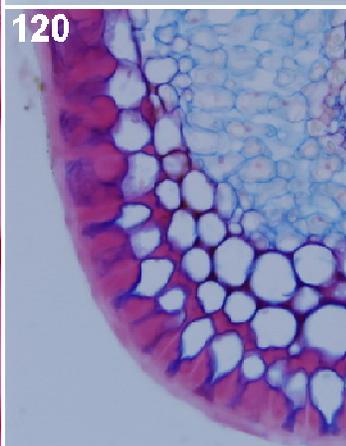
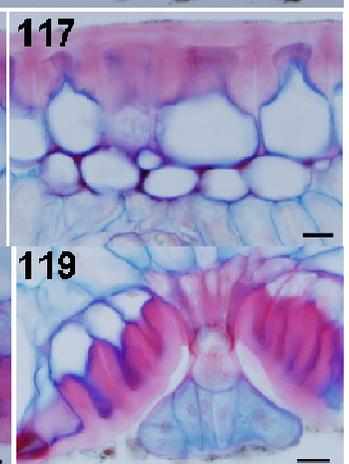
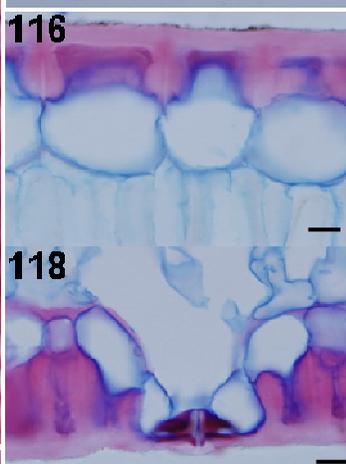
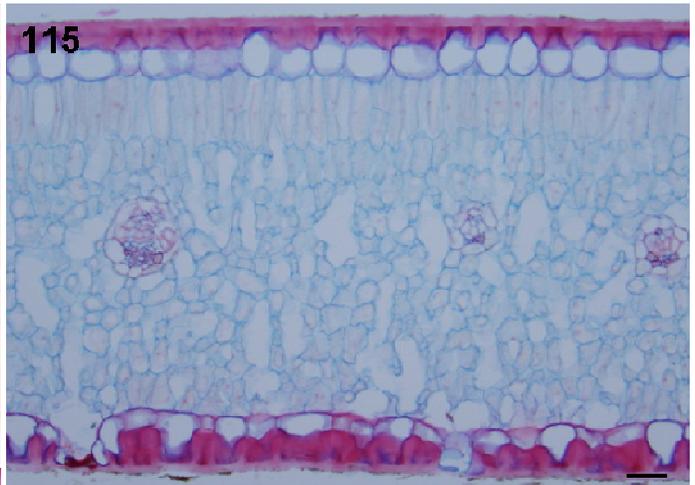
**Figuras 91-96.** *Anemopaegma arvense* "fanceifolia glabra". **91.** Aspecto geral da planta em fruto. **92.** Ramo com frutos imaturos; folíolos oblanceolados. **93-96.** Secções transversais da nervura mediana do folíolo terminal adulto. **93.** Aspecto geral. **94.** Sistema vascular. **95.** Face adaxial. **96.** Face abaxial. Barras = 100 µm (93); 20 µm (94-96).



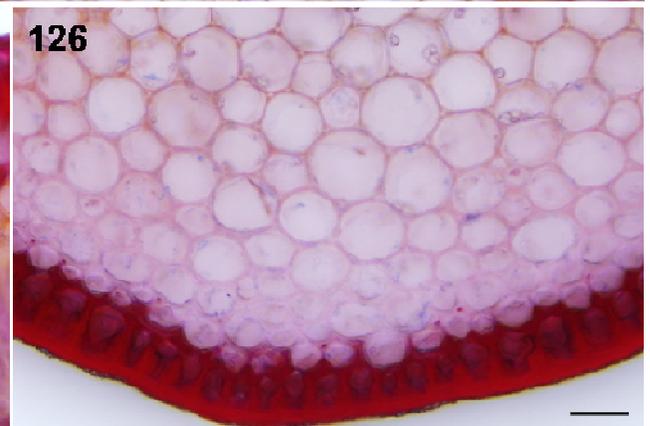
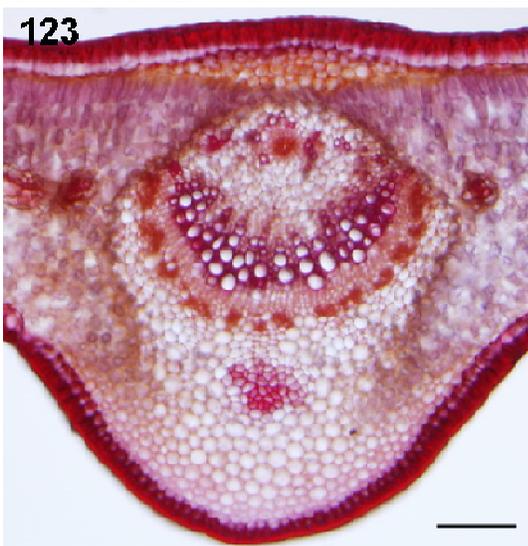
**Figuras 97-106.** *Anemopaegma arvense* "lanceifolia glabra". **97-99.** Vista frontal da epiderme. **97.** Face adaxial; células epidérmicas. **98-99.** Face abaxial; células epidérmicas e estômatos paracíticos. **100-106.** Secções transversais da lâmina do folíolo terminal adulto. **100.** Aspecto geral; mesofilo dorsiventral. **101.** Células epidérmicas da face adaxial. **102.** Estômatos na face abaxial. **103.** Tricoma glandular pateliforme na face abaxial. **104.** Tricoma glandular na face abaxial. **105.** Feixe vascular de nervura lateral; calota de fibras acima do xilema. **106.** Margem do folíolo; fortemente revoluta. Barras = 50 µm (100); 20 µm (105-106); 10 µm (97-99; 101-104).



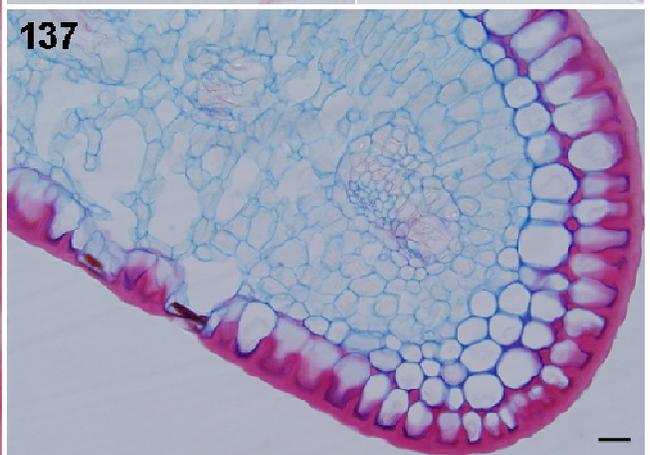
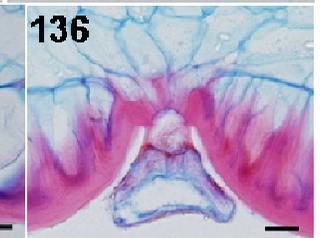
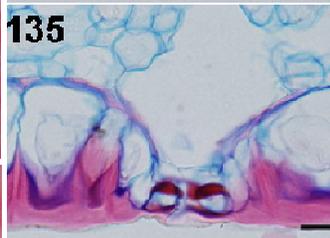
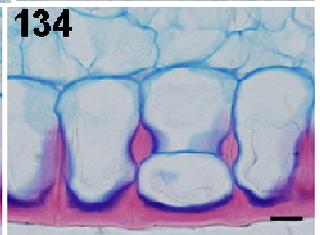
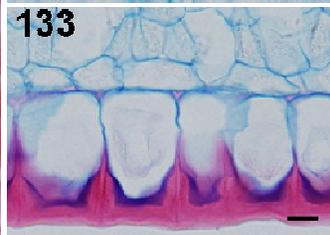
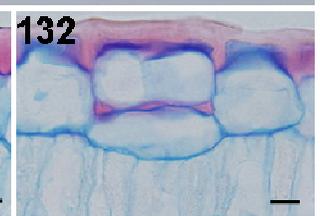
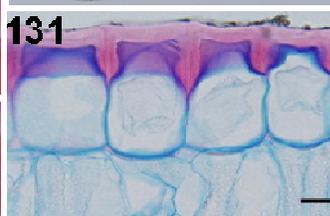
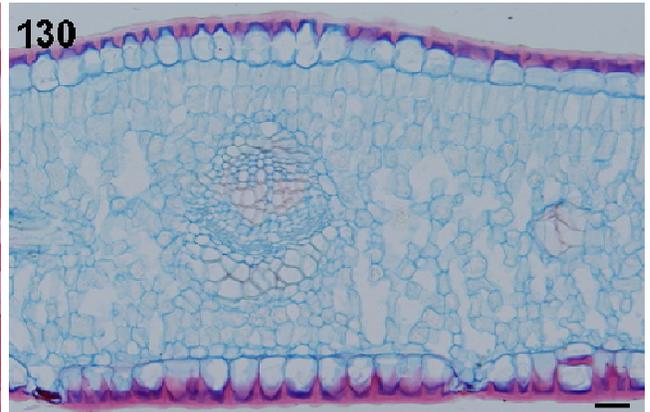
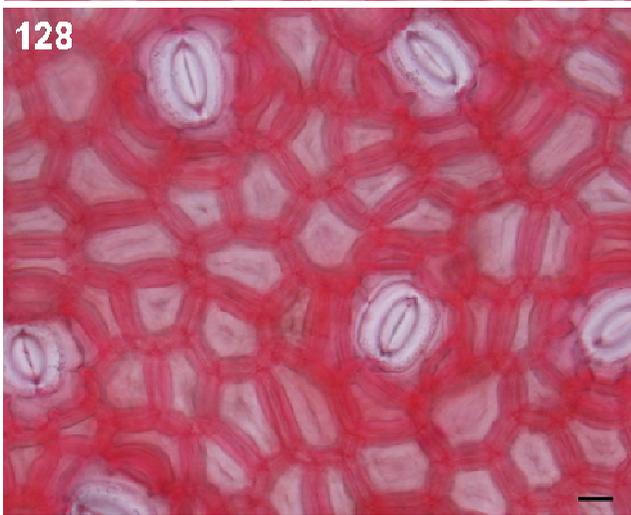
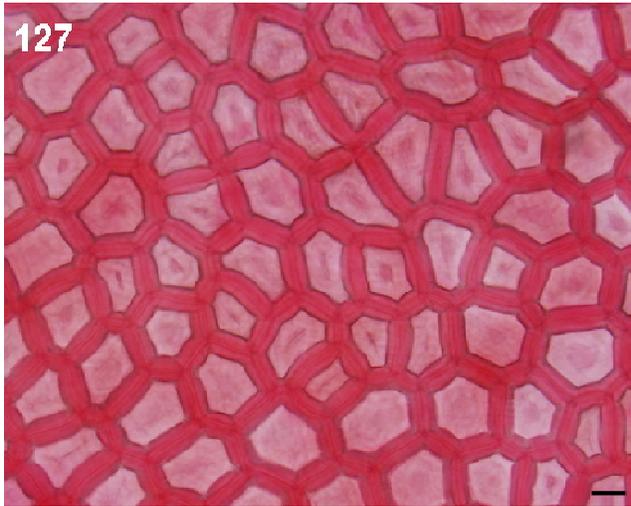
**Figuras 107-111.** *Anemopaegma glaucum* "típica" do DF. **107.** Aspecto geral da planta em fruto; folhas e frutos glaucos. **108-111.** Secções transversais da nervura mediana do folíolo terminal adulto. **108.** Aspecto geral. **109.** Sistema vascular. **110.** Face adaxial. **111.** Face abaxial. Barras = 100  $\mu\text{m}$  (108); 20  $\mu\text{m}$  (109); 10  $\mu\text{m}$  (110-111).



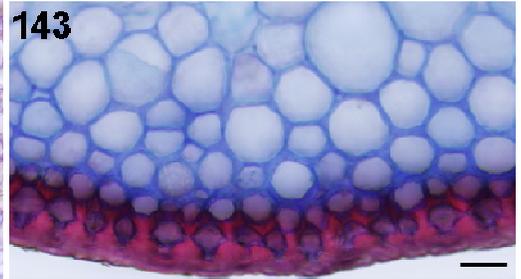
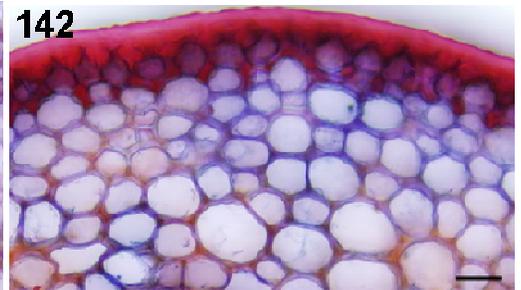
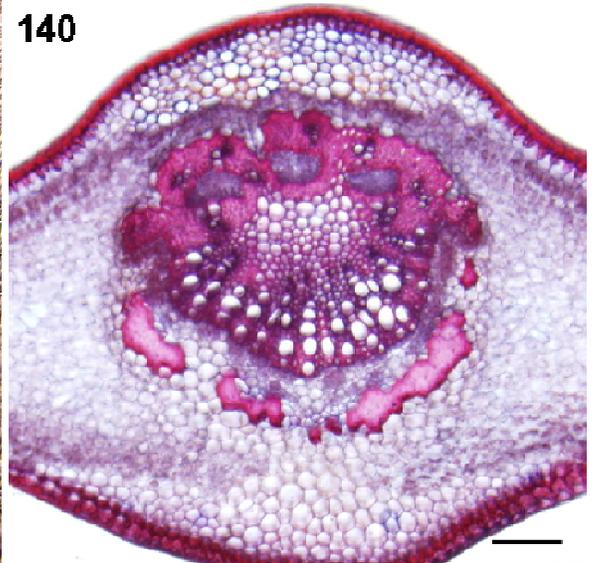
**Figuras 112-120.** *Anemopaegma glaucum* "típica" do DF. **112-114.** Vista frontal da epiderme. **112.** Face adaxial; células epidérmicas. **113-114.** Face abaxial; células epidérmicas e estômatos paracíticos. **115-120.** Secções transversais da lâmina do folíolo terminal adulto. **115.** Aspecto geral; mesofilo dorsiventral. **116.** Células epidérmicas da face adaxial; uniestratificada. **117.** Células epidérmicas da face adaxial uniestratificada e resquícios de bainha do feixe. **118.** Estômato na face abaxial; mesmo nível das células epidérmicas. **119.** Tricoma glandular em depressão na face abaxial. **120.** Margem do folíolo. Barras = 50 µm (115); 20 µm (120); 10 µm (112-114; 116-119).



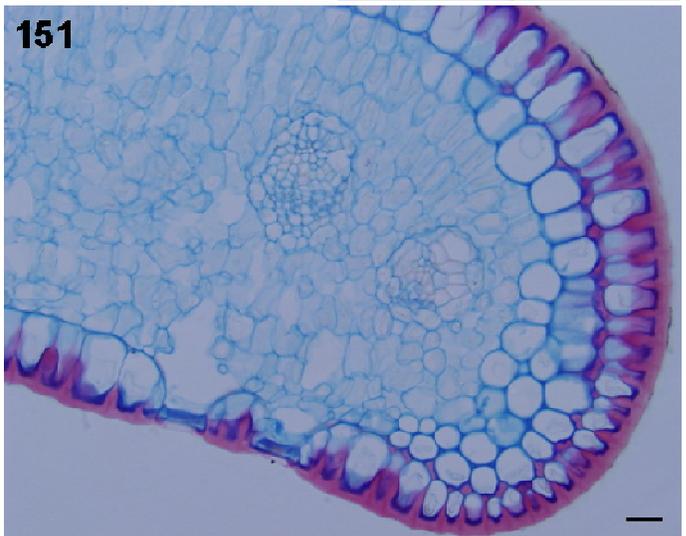
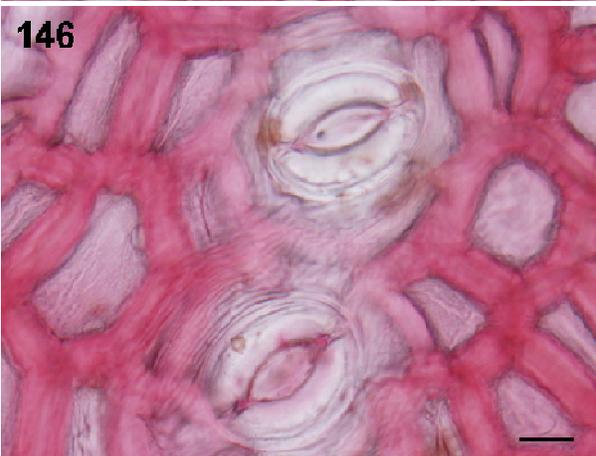
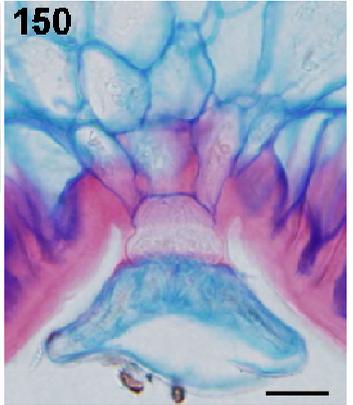
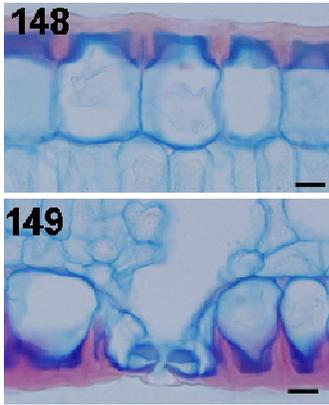
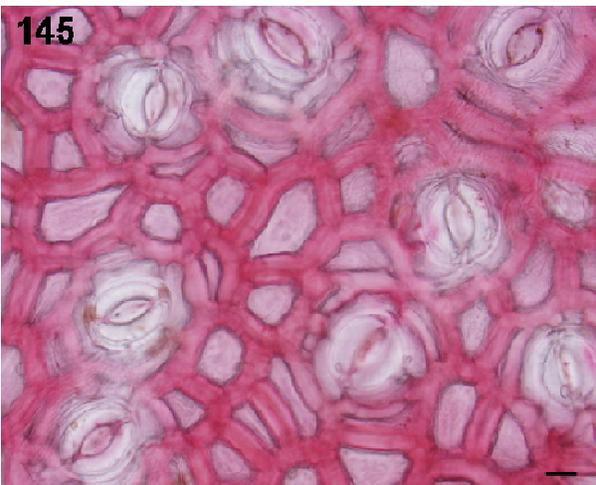
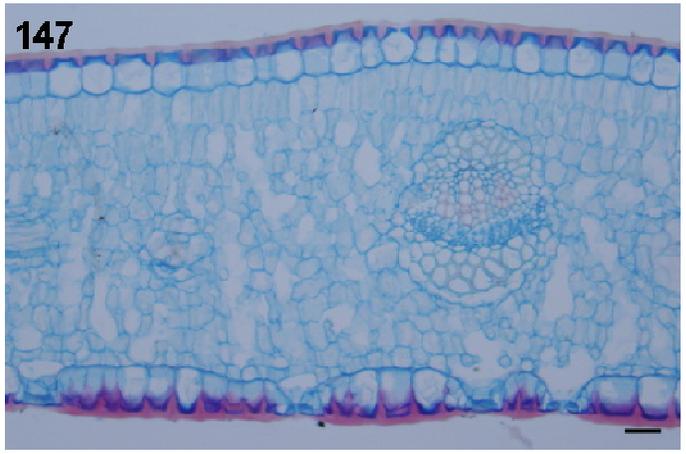
**Figuras 121-126.** *Anemopaegma glaucum* "típica" da Bahia. **121.** Aspecto geral da planta. **122.** Folhas trifolioladas, glaucas, folíolos obovados. **123-126.** Secções transversais da nervura mediana do folíolo terminal adulto. **123.** Aspecto geral. **124.** Sistema vascular. **125.** Face adaxial. **126.** Face abaxial. Barras = 100 µm (123); 50 µm (124); 20 µm (125-126).



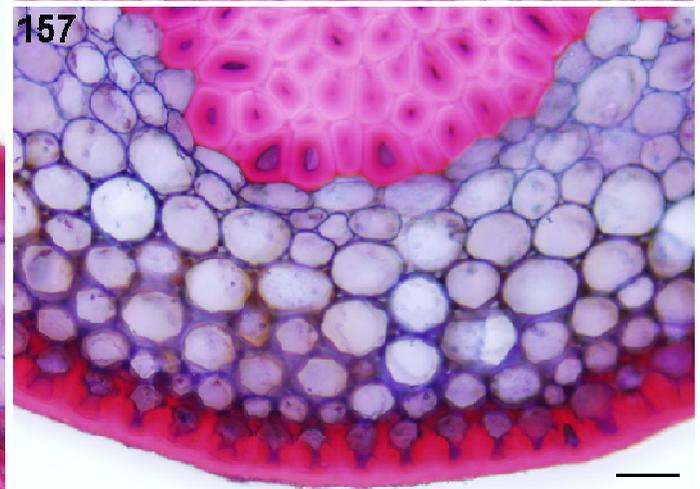
**Figuras 127-137.** *Anemopaegma glaucum* "típica" da BA. **127-129.** Vista frontal da epiderme. **127.** Face adaxial; células epidérmicas. **128-129.** Face abaxial; células epidérmicas e estômatos paracíticos. **130-137.** Secções transversais da lâmina do folíolo terminal adulto. **130.** Aspecto geral; mesofilo dorsiventral. **131.** Células epidérmicas da face adaxial. **132.** Face adaxial; desdobramento pontual das células epidérmicas. **133.** Células epidérmicas da face abaxial. **134.** Face abaxial; desdobramento pontual das células epidérmicas. **135.** Estômato na face abaxial; hipoestomático. **136.** Tricoma glandular da face abaxial. **137.** Margem do folíolo; reta a levemente revoluta. Barras = 50 µm (130), 20 µm (137), 10 µm (127-129; 131-136).



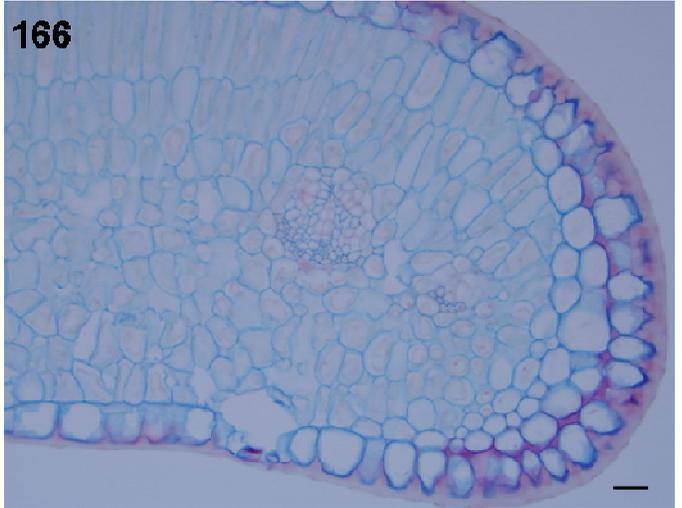
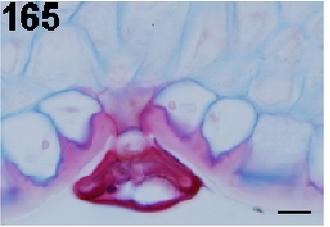
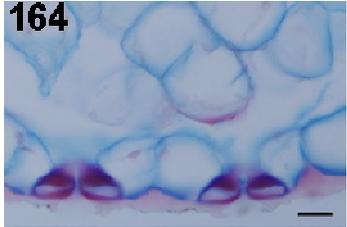
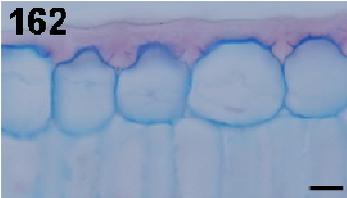
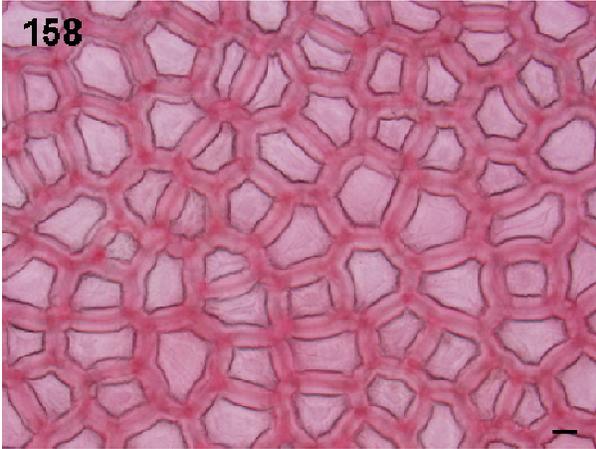
**Figuras 138-143.** *Anemopaegma glaucum* "não glauca". **138.** Aspecto geral da planta. **139.** Ramo florido; folíolos de largamente oblanceolados a obovados. **140-143.** Secções transversais da nervura mediana do folíolo terminal adulto. **140.** Aspecto geral. **141.** Sistema vascular. **142.** Face adaxial. **143.** Face abaxial. Barras = 100  $\mu\text{m}$  (140); 50  $\mu\text{m}$  (141); 20  $\mu\text{m}$  (142-143).



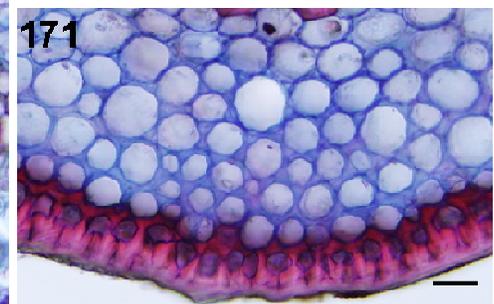
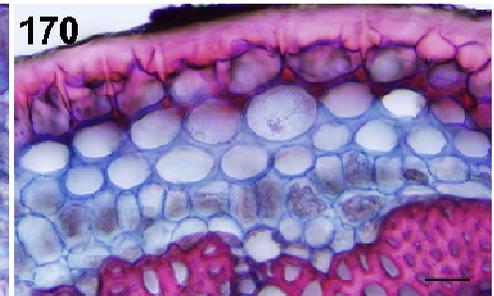
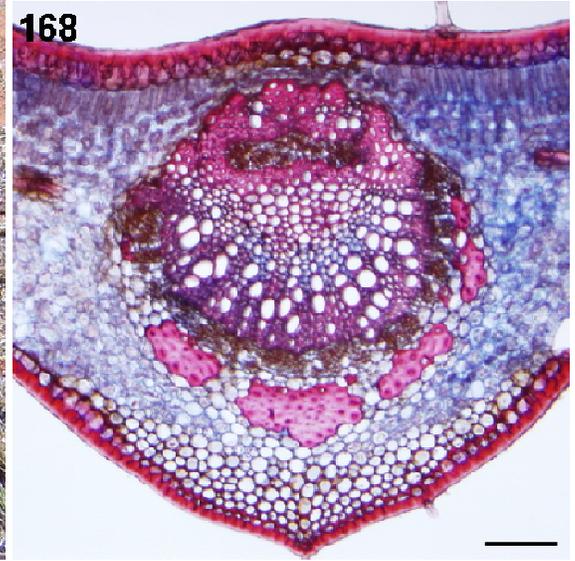
**Figuras 144-151.** *Anemopaegma glaucum* "não glauca". **144-146.** Vista frontal da epiderme. **144.** Face adaxial; células epidérmicas. **145-146.** Face abaxial; células epidérmicas, estômatos paracíticos e cutícula ornamentada. **147-151.** Secções transversais da lâmina do folíolo terminal adulto. **147.** Aspecto geral; mesofilo dorsiventral e feixe de nervura lateral proeminente na face adaxial. **148.** Células epidérmicas da face adaxial. **149.** Estômato na face abaxial. **150.** Tricoma glandular localizado na face abaxial. **151.** Margem do folíolo. Barras = 50 µm (147); 20 µm (151); 10 µm (144-146; 148-150).



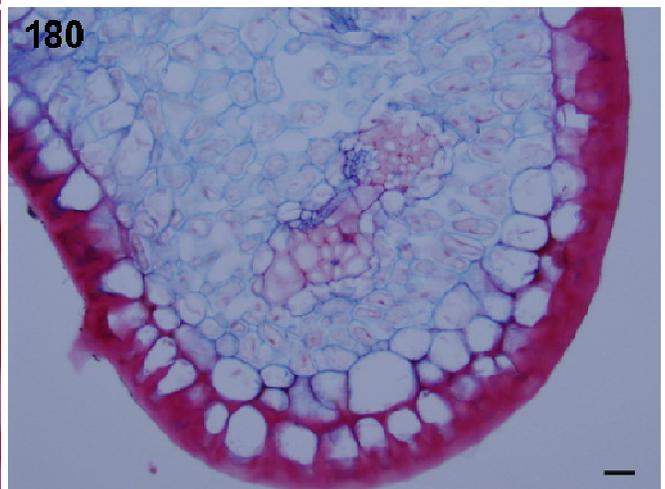
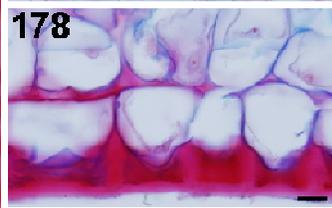
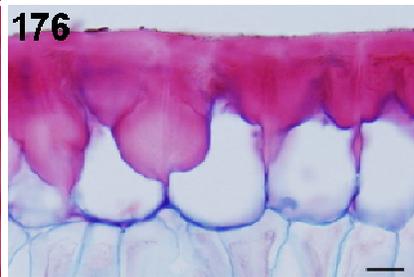
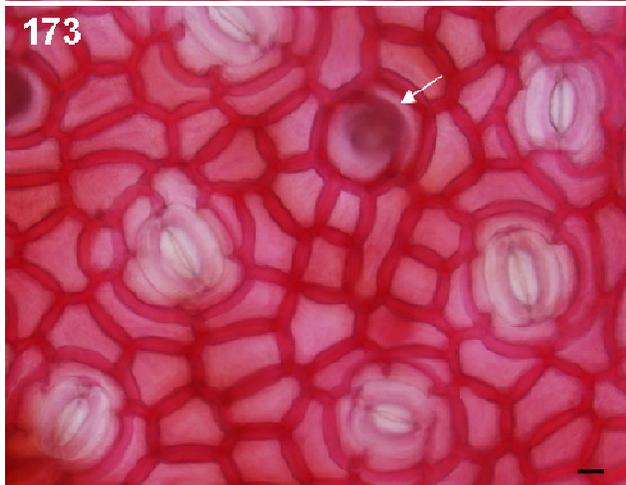
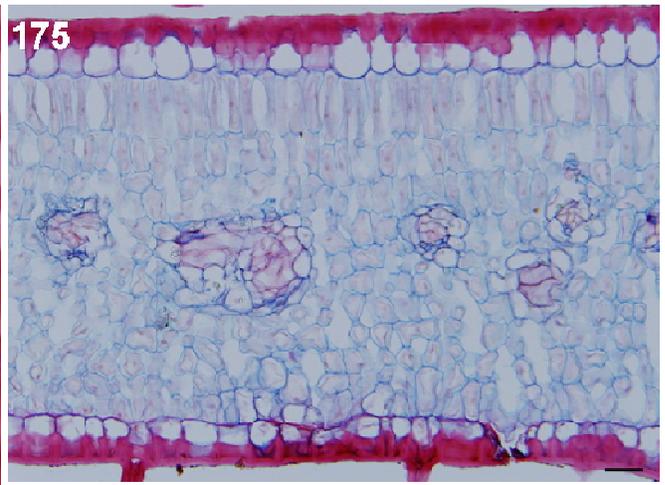
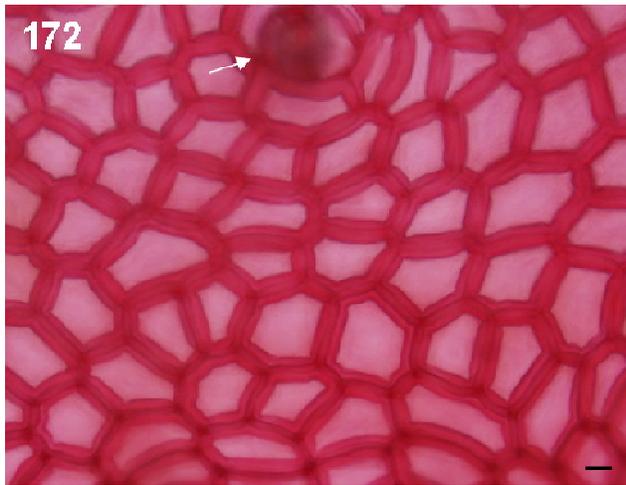
**Figuras 152-157.** *Anemopaegma glaucum* "triplinervea". **152.** Aspecto geral da planta. **153.** Ramos floridos; detalhe folhas trifolioladas, folíolos oblanceolados e com ápice acuminado. **154-157.** Secções transversais da nervura mediana do folíolo terminal adulto. **154.** Aspecto geral. **155.** Sistema vascular. **156.** Face adaxial. **157.** Face abaxial. Barras = 100 µm (154); 50 µm (155); 20 µm (156-157).



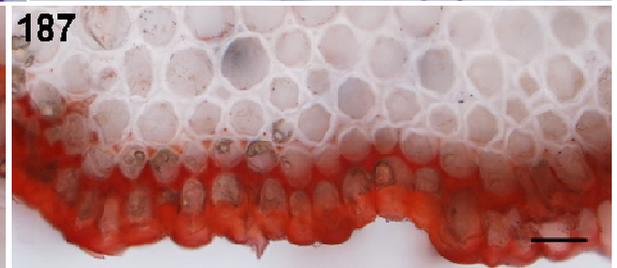
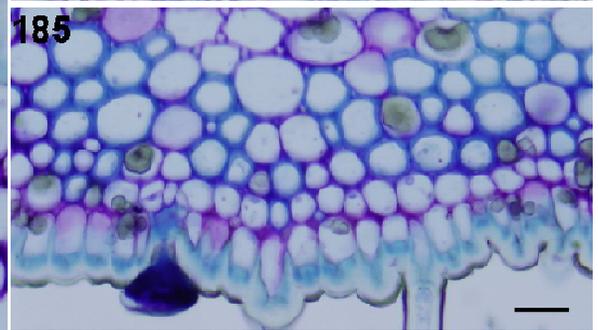
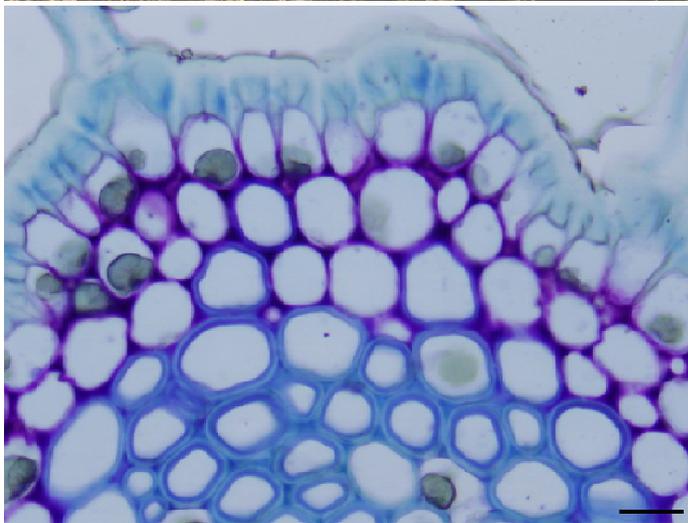
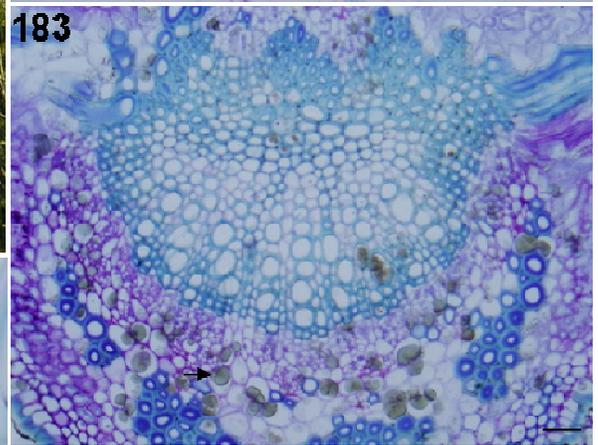
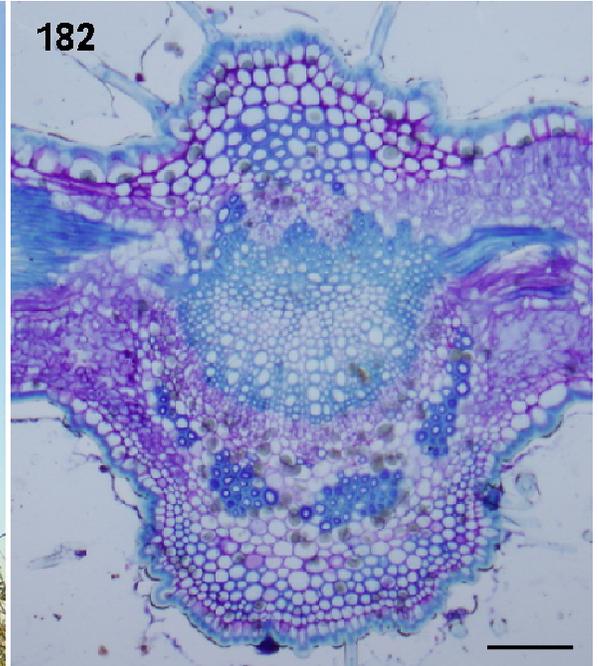
**Figuras 158-166.** *Anemopaegma glaucum* "triplinérvea". **158-160.** Vista frontal da epideme. **158.** Face adaxial; células epidérmicas. **159-160.** Face abaxial; células epidérmicas e estômatos paracíticos. **161-166.** Secções transversais da lâmina do folíolo terminal adulto. **161.** Aspecto geral; mesofilo dorsiventral. **162.** Células epidérmicas da face adaxial. **163.** Células epidérmicas da face abaxial. **164.** Estômatos na face abaxial. **165.** Tricoma glandular na face abaxial. **166.** Margem do folíolo. Barras = 50  $\mu\text{m}$  (161); 20  $\mu\text{m}$  (166); 10  $\mu\text{m}$  (158-160; 162-165).



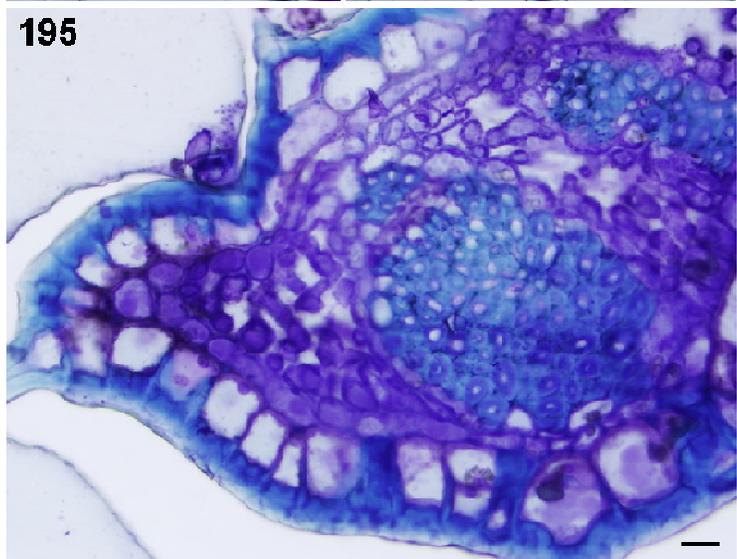
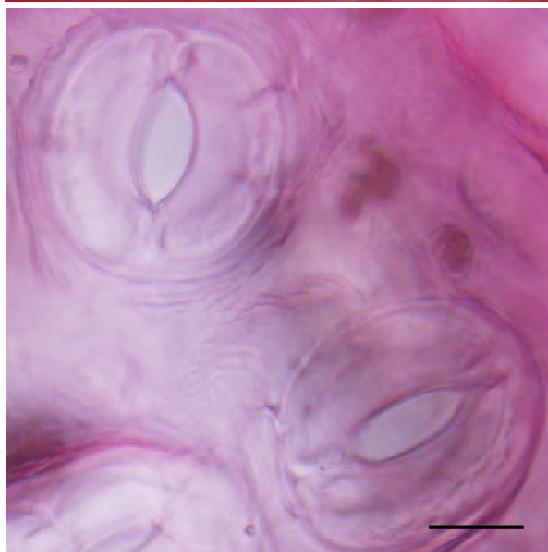
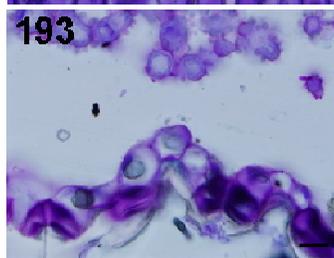
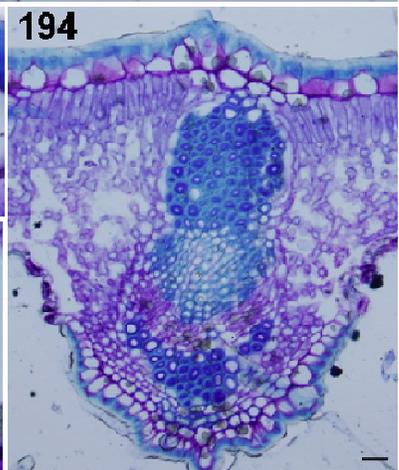
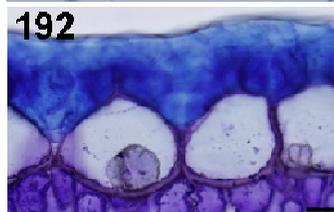
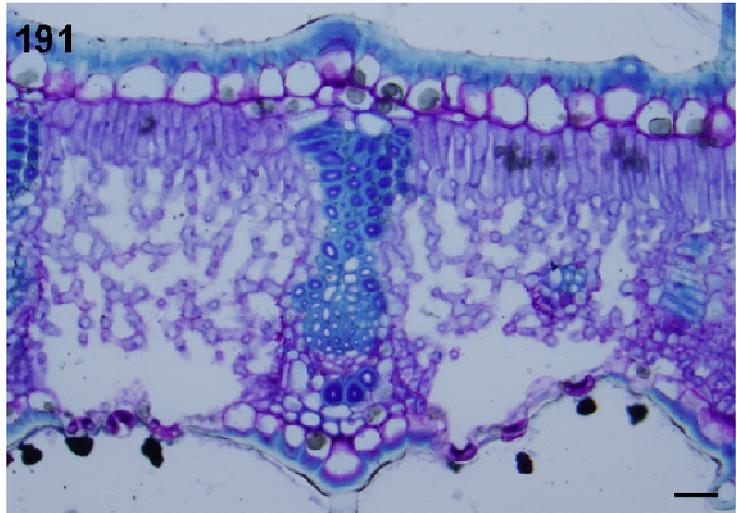
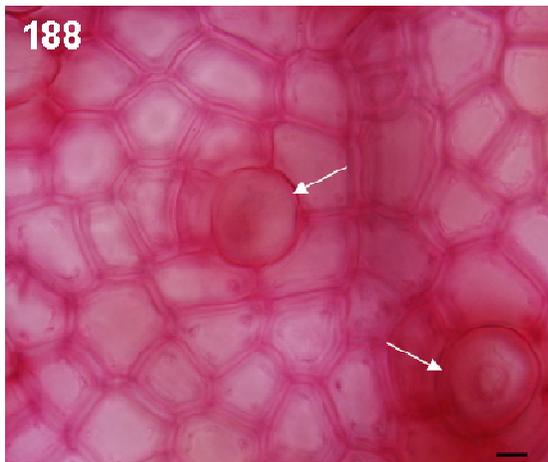
**Figuras 167-171.** *Anempagma glaucum* "pubescente". **167.** Aspecto geral da planta. **168-171.** Secções transversais da nervura mediana do folíolo terminal adulto. **168.** Aspecto geral. **169.** Sistema vascular. **170.** Face adaxial. **171.** Face abaxial. Barras = 100 µm (168); 50 µm (169); 20 µm (170-171).



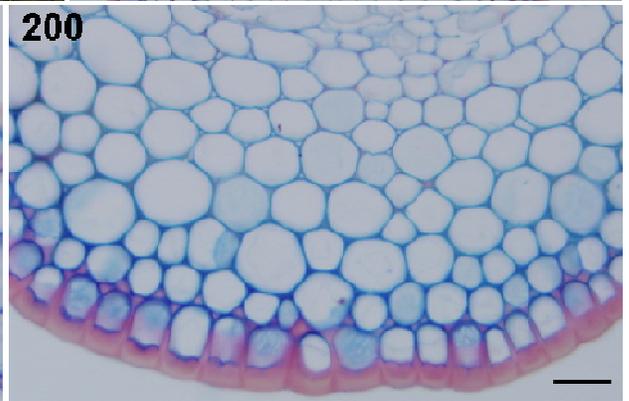
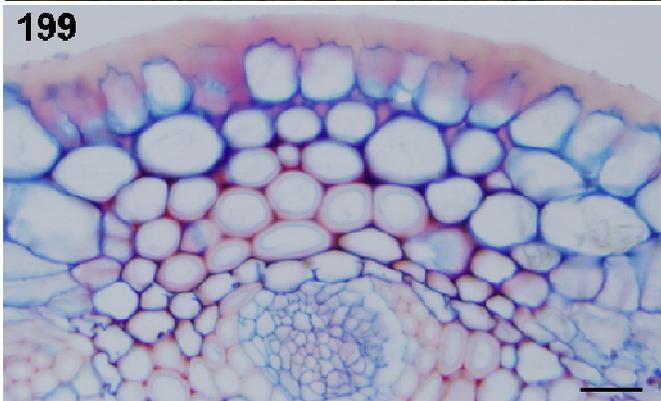
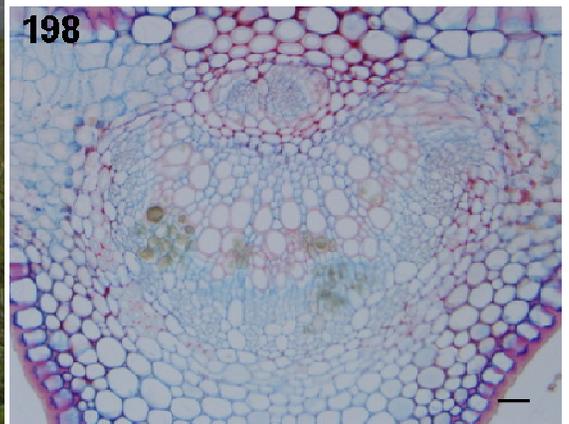
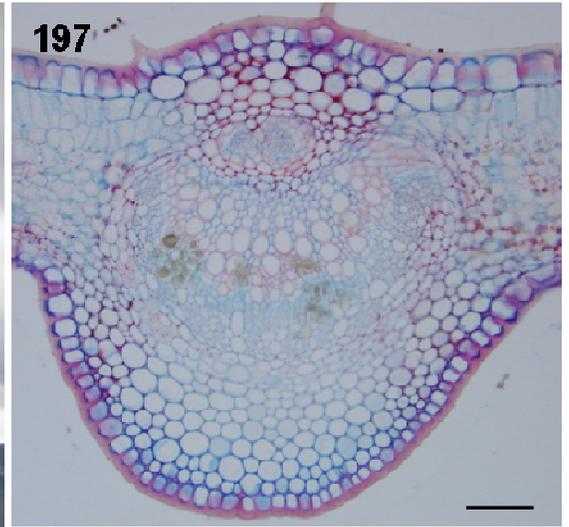
**Figuras 172-180.** *Anemopaegma glaucum* "pubescente". **172-174.** Vista frontal da epiderme. **172.** Face adaxial; células epidérmicas e local de inserção do tricoma tector (seta). **173-174.** Face abaxial; células epidérmicas, estômatos e local de inserção do tricoma tector (seta). **175-180.** Secções transversais da lâmina do folíolo terminal adulto. **175.** Aspecto geral; mesofilo dorsiventral. **176.** Células epidérmicas da face adaxial; flanges cuticulares proeminentes. **177.** Tricoma tector multicelular na abaxial. **178.** Células epidérmicas da face abaxial. **179.** Tricoma glandular na face abaxial. **180.** Margem do folíolo. Barras = 50 µm (175); 20 µm (180); 10 µm (172-174; 176-179).



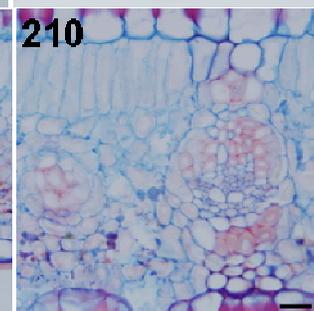
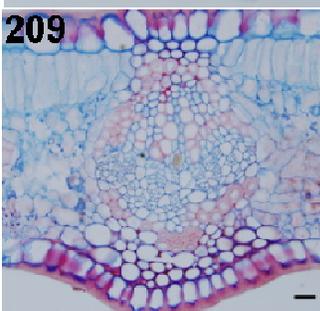
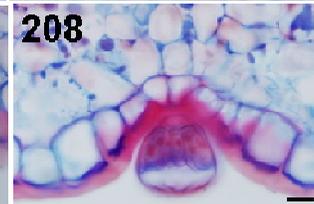
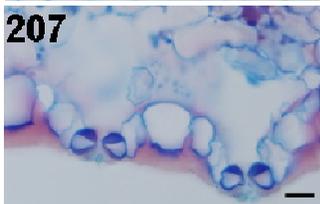
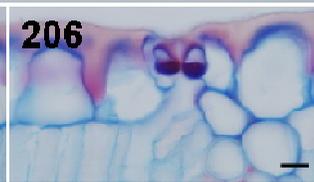
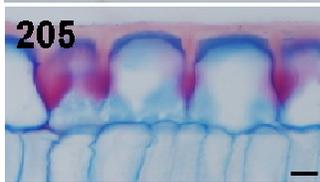
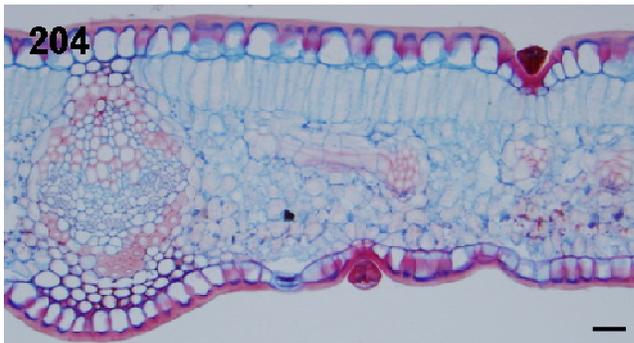
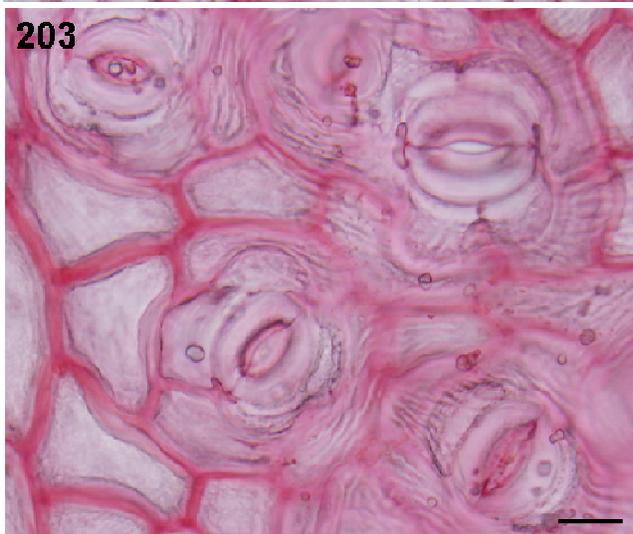
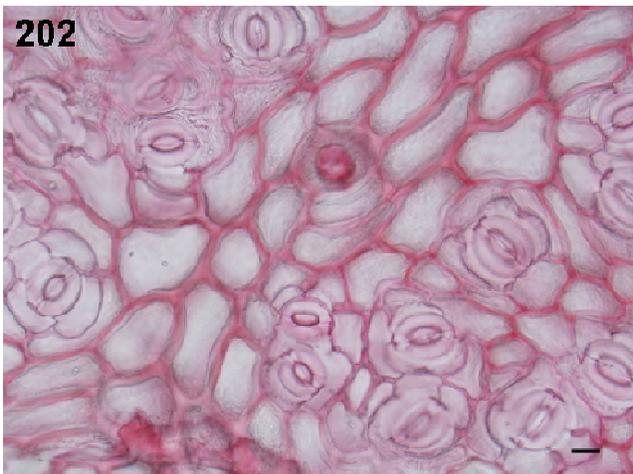
**Figuras 181-187.** *Anemopaegma scabriusculum*. **181.** Aspecto geral da planta. **182-185.** Secções transversais da nervura mediana do folíolo terminal adulto. **182.** Aspecto geral. **183.** Sistema vascular. **184.** Face adaxial. **185.** Face abaxial. **186.** Face adaxial; cutícula e flanges cuticulares coradas com Sudan IV. **187.** Face abaxial; cutícula e flanges cuticulares coradas com Sudan IV. Barras = 100 µm (182); 50 µm (183) 20 µm (184-187).



**Figuras 188-195.** *Anemopaegma scabriusculum*. **188-190.** Vista frontal da epiderme. **188.** Face adaxial; células epidérmicas e local de inserção de tricomas (setas). **189-190.** Face abaxial; estômatos paracíticos. **191-195.** Secções transversais da lâmina do folíolo terminal adulto. **191.** Aspecto geral; mesofilo dorsiventral e amplas câmaras subestomáticas dos estômatos agrupados. **192.** Células epidérmicas da face adaxial. **193.** Estômatos e câmaras subestomáticas agrupados. **194.** Feixe vascular de nervura lateral. **195.** Margem do folíolo. Barras = 50  $\mu\text{m}$  (189, 192); 20  $\mu\text{m}$  (193); 10  $\mu\text{m}$  (186-188; 190-191).



**Figuras 196-200.** *Anemopaegma album*. **196.** Aspecto geral da planta com fruto. **197-200.** Secções transversais da nervura mediana do folíolo terminal adulto. **197.** Aspecto geral. **198.** Sistema vascular. **199.** Face adaxial. **200.** Face abaxial. Barras = 100  $\mu\text{m}$  (197); 50  $\mu\text{m}$  (198); 20  $\mu\text{m}$  (199-200).



**Figuras 201-211.** *Anemopaegma album*. **201-203.** Vista frontal da epiderme. **201.** Face adaxial; células epidérmicas e local de inserção de tricoma (seta). **202-203.** Face abaxial; células epidérmicas, estômatos paracíticos e cutícula ornamentada. **204-211.** Secções transversais da lâmina do folíolo terminal adulto. **204.** Aspecto geral; mesofilo dorsiventral. **205.** Células epidérmicas da face adaxial. **206.** Estômato da face adaxial. **207.** Estômatos da face abaxial. **208.** Tricoma glandular na face abaxial. **209.** Nervura secundária com extensão de bainha. **210.** Nervuras de menor calibre. **211.** Margem do folíolo. Barras = 50 µm (204); 20 µm (209-211); 10 µm (201-203; 205-208).

# CAPÍTULO 3

**Chromosome studies in Bignoniaceae (Bignoniaceae): the first records of polyploidy in *Anemopaegma* Mart. ex Meisn.**

## ABSTRACT

*Anemopaegma* Mart. ex Meisn. (Bignoniaceae, Bignoniaceae) comprises 45 species distributed from Mexico to Northeastern Argentina. The circumscription of the genus is clearly monophyletic and well supported by morphological and molecular characters. However, species delimitation in *Anemopaegma* is complex, with several hybrids known. In this study, we determined chromosome numbers and interphase nuclei structure for six shrubby and liana species of *Anemopaegma*, five of which belonging to the *Anemopaegma arvense* species complex. While most shrubby species analysed were polyploids ( $2n = 4x = 80$ ), polyploidy was not found among the climbing members of the genus studied. In addition, the interphase nuclei were areticate in most species studied, except for *A. acutifolium* and *A. album* which present semi-reticulate interphase nuclei. Overall, our findings suggest that ploidy levels may have had an important role in the evolution of the Neotropical genus *Anemopaegma* as a whole.

**ADDITIONAL KEYWORDS:** *Anemopaegma* - Bignoniaceae – chromosome number – cytotaxonomy - evolution - polyploidy.

## INTRODUCTION

Bignoniaceae Juss. comprises nearly 104 genera and 860 species (Fischer *et al.*, 2004) of shrubs, trees and climbers. The family represents one of the most diverse South American woody plants families (Gentry 1974), and the most speciose clade of Neotropical climbers (Lohmann, 2006). Most species occur in Tropical Rain Forests (e.g., Atlantic and Amazonia Brazilian Forests), Seasonal Tropical Rain Forests and Dry Areas (Fischer *et al.*, 2004). According to Gentry (1988), their diversity and frequency of individuals are greater in seasonally dry-forests than in rain forests, representing the second most diverse family of wood plants in those ecosystems.

Bignonieae Dumort., with approximately 360 species and 21 genera (Lohmann, in press) represents the most diverse tribe within Bignoniaceae. This monophyletic lineage (Spangler & Olmstead, 1999; Lohmann, 2006; Olmstead *et al.*, 2009) mainly includes tendrillate climbers of Neotropical distribution. (Gentry, 1976).

*Anemopaegma* Mart. ex Meisn. is highly supported as monophyletic by morphological and molecular characters (Lohmann, 2006). This genus comprises 45 species of shrubs or lianas distributed in wet or dry forests, savannas and caatinga from Mexico to Brazil and Argentina (Lohmann, in press). It is characterized by cylindrical stems, prophylls of the axillary buds absents or foliaceous and orbicular or heart-shaped, racemose inflorescences, yellow flowers with glands at the base of the corolla lobes, glandular calyx and stipitate ovary and fruits (Lohmann, in press). Gentry (1973) considered *Anemopaegma* as one of the most complex genera in Bignoniaceae due to the high levels of phenotypical plasticity and hybridization which he hypothesized to represent the main cause of taxonomic confusion in the group.

Natural hybridization in Bignoniaceae was recorded by Barros (2001) and Bittencourt Jr. (2005) from hand interspecific pollinations for some species of *Handroanthus* (as *Tabebuia*) (tribo Tecomeae). Hybridization is a common evolutionary process among sympatric plant or animal

species that occupy areas with favorable ecological conditions (Harrison, 1993). Among the evolutionary consequences of hybridization are: (1) intraspecific genetic diversity by introduction of compatible genes in another genotype; (2) origin and transfer of genetic adaptations; (3) origin of new ecotypes, or (4) origin of new species and reinforcement of rupture of reproductive barriers (Rieseberg, 1997). Hybridization may represent the reversion of evolutionary processes in species or lineages that were isolated but secondarily sympatric (Grant, 1971).

A species complex within *Anemopaegma*, the *A. arvense arvense* complex constitutes a particularly problematic species group. This species complex includes four species (*A. acutifolium*, *A. arvense*, *A. glaucum* and *A. scabriusculum*) and several taxonomic varieties that were proposed to *A. arvense* and *A. glaucum* (De Candolle, 1845; Bureau & Schumman, 1896).

In order to resolve taxonomic problems within the *Anemopaegma* species complex, we studied their chromosome numbers. Chromosome data have been useful for the establishment of species limits in several taxonomic groups (Stace, 1991; Briggs & Walters, 1997). In particular, similar chromosome numbers suggest a close relationship among taxa while different chromosome numbers imply a more distant relationship given that differences in ploidy generally generate reproductive isolation through reduced fertility in hybrids (Judd *et al.*, 1999). The type of interphasic nuclei, the proportion of condensed and diffused eucromatin and the general nuclear structure are also known to represent important taxonomic characters at different taxonomic levels (Guerra, 1985).

Despite the great potential of chromosome information for taxonomy, chromosome studies in the Bignoniaceae are still scarce and fragmentary (Goldblatt & Gentry, 1979). Out of the 860 species of Bignoniaceae (Fischer *et al.*, 2004), only 113 (13.4%) species had their chromosome numbers evaluated (Goldblatt and Gentry, 1979; Gentry, 1980; Goldblatt, 1989; Alcórces de Guerra, 2002; Chen *et al.*, 2004), which makes the Bignoniaceae one of the angiosperm families with the greatest lack of chromosome studies (Raven, 1975). Sampling of genera included in all tribes of the

Bignoniaceae is necessary to help elucidate the evolutionary pathways that led to their high diversity encountered nowadays.

The most frequent basic chromosome number for Bignoniaceae is  $x = 20$ , however different basic chromosome numbers were found in the tribe Tecomeae:  $x = 11$  in *Incarvillea* Juss. (Chen *et al.*, 2004);  $x = 17$  in *Tecoma* Juss. (Nakajima, 1936; Venkatasubban, 1944; Oari, 1964);  $x = 18$  in *Jacaranda* Juss., some *Tecoma* species and *Tecomaria* Spach (Sugiura, 1931, 1936; Venkatasubban, 1944);  $x = 19$  in *Campsis* Lour., *Handroanthus* Mattos (as *Tabebuia*), *Pandoria* and some species of *Tabebuia* and  $x = 21$  in *Delostoma* D. Don (Goldblatt & Gentry, 1979). Variations in the ploidy level occur in *Bignonia* (*sensu* Lohmann 2003, in press), *Tabebuia* and *Handroanthus* (*sensu* Grose & Olmstead, 2007) with  $2n = 40$  (diploid) and  $2n = 80$  (tetraploid) (Venkatasubban 1944; Goldblatt & Gentry, 1979; Piazzano 1998). For *Anemopaegma*, only two species have had their chromosome numbers studied: *A. chamberlaynii* (as *Bignonia chamberlaynii*, Venkatasubban 1944) and *A. orbiculatum* (Goldblatt and Gentry 1979), both with  $2n = 40$ .

Given the lack of chromosome information in *Anemopaegma* and the taxonomic problems encountered in the *Anemopaegma arvense* species complex, this study aims to investigate chromosome numbers in six species of *Anemopaegma* in order to evaluate the potential of chromosome numbers as taxonomic characters in this group.

## MATERIAL AND METHODS

### SAMPLING

Six species of *Anemopaegma* were sampled in the present study: *A. acutifolium*, *A. arvense*, *A. glaucum*, *A. scabriusculum*, *A. album* and *A. sp.* (a putative new species). Most of these species belong to the “*Anemopaegma arvense* species complex” except for *A. album*. In addition, given the

morphological variation encountered for *A. acutifolium* and *A. glaucum*, two populations corresponding to two different morphological forms of each species were also sampled: *A. acutifolium* “scandent morph”, *A. acutifolium* “shrubby morph”, *A. glaucum* “pubescent morph” and *A. glaucum* “glabrous morph”. The exact taxa sampled and location of the sampled populations are presented in Table 1.

Materials were collected in natural populations of the Brazilian savannas (Cerrado and Campo Rupestre vegetation types). During the field work, ripe fruits were collected and seeds were selected for germination studies. Species were subsequently identified through specialized bibliography, comparisons with herbarium specimens, and consultation with Bignoniaceae specialists (L. G. Lohmann and J. Semir). Vouchers of all sampled taxa were deposited in the herbarium of the Universidade Estadual de Campinas (UEC).

#### *CHROMOSOME COUNTS AND INTERPHASE NUCLEI STRUCTURE*

In order to obtain mitotic metaphases, seeds with embryos from all studied individuals were germinated on wet paper in Petri dishes kept between 28–30°C. Root tips were pre-treated with 2mM 8-hydroxyquinoline for 24 h, at 8 °C and fixed in Farmer solution (3 ethanol : 1 acetic acid) until the preparation of slides. Mitotic preparations in microscopic slides were frozen (-20 °C) and stained using the HCl-Giemsa method (Guerra, 1983). Slides were examined under light microscopy. Mitotic cells with a good chromosome condensation and spreading were recorded with a photomicroscope. Chromosome number were determined through the analysis of at least 10 metaphases per individual. Interphase nuclei were classified in three main types following Guerra (1983): (1) areticate; (2) semi-reticulate; and, (3) reticulate.

## RESULTS AND DISCUSSION

All studied species belonging to the *Anemopaegma arvense* species complex (*A. arvense*, *A. acutifolium*, *A. glaucum*, *A. scabriusculum* and *Anemopaegma* sp.) presented  $2n = 80$ . *Anemopaegma album*, the only species sampled that does not belong to the *A. arvense* complex presented  $2n = 40$ . Two other species of *Anemopaegma* outside the *A. arvense* complex (*A. chamberlaynii* and *A. orbiculatum*) were previously shown to also present  $2n = 40$  (Venkatasubban, 1945; Goldblatt & Gentry, 1979). The basic chromosome number for all species analysed is  $x = 20$ , corroborating the previous results found by Goldblatt & Gentry (1979) and Raven (1975). Apart from the uniformity of chromosome number  $2n = 80$  (inside the *A. arvense* complex), the interphase nuclei structure was useful to differentiate the shrubby and scandent morphs of *A. acutifolium*, both of which presented semi-reticulate nuclei. The other taxa sampled, *A. arvense*, *A. glaucum* (pubescent morph), *A. glaucum* (glaucum morph), *A. scabrisculum* and *Anemopaegma* sp., presented areticate nuclei (Figure 1, Table 2). This is the first study to document interphase nuclei structure in Bignoniaceae. However, these characters seem to be useful for future taxonomical purposes in the family. Species chromosome numbers and information on interphase nuclei types are summarized in Table 2.

Thus far, 18% of all species of *Anemopaegma* (8 of 45 species) have had their chromosome numbers studied. Out of all taxa sampled, six are shrubbs and two are lianas. Most species analysed in the present study are tetraploid shrubbs ( $2n = 4x = 80$ ), except for *A. album* that is diploid shrub ( $2n = 2x = 40$ ). Two other *Anemopaegma* species previously studied, *A. chamberlayni* (Venkatasubban, 1945) and *A. orbiculatum* (Goldblatt & Gentry, 1979) are diploid lianas (Table 2). Our findings represent the first records of polyploidy in *Anemopaegma*.

Despite the limited sample within *Anemopaegma* and the lack of a phylogeny for the genus, differentiation on ploidy levels between shrubby ( $4x$ ) and lianoid species ( $2x$ ), suggest a more recent

condition for the shrubby species of *Anemopaegma*. Varying chromosome numbers in taxa with different habits were also recorded in Sapindaceae (Lombelo & Forni-Martins, 1998) and Malpighiaceae (Lombelo & Forni-Martins, 2003). In Sapindaceae, lianoid taxa were derived from shrubby taxa by reduction of chromosome numbers and increase in chromatin length. For Malpighiaceae, the lianoid species (subfamily Malpighioideae) present basic chromosome numbers  $x = 5$  or  $x = 10$ , while another subfamily with shrubby representatives (Byrsonimoideae) presents  $x = 6$ . In Malpighiaceae  $x = 6$  represents the plesiomorphic condition in the family. Unfortunately, the short chromosome length ( $< 2\mu\text{m}$ ) and uniformity of  $x = 20$ , limits the application of chromosome characters in the taxonomy of *Anemopaegma*.

Although polyploidy has already been reported for the Bignoniaceae (Piazzano, 1998), it is a rare phenomenon in the family (Goldblatt & Gentry, 1979). In Bignoniaceae, tetraploidy ( $2n = 80$ ) has been well documented in *Dolichandra unguis-cati* (L.) L.G. Lohmann (Venkatasubban, 1945; Jullier, 1989; Piazzano, 1998), while triploidy ( $2n = 60$ ) has been reported for *Pyrostegia venusta* (Ker Gawl.) Miers (Joshi & Hardas, 1956). In Tecomeae, tetraploidy was reported for *Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex DC.) Mattos (Piazzano, 1998).

Polyploidy and ecological divergence are known to represent important processes for the hybrid establishment (Stebbins, 1971; Rieseberg, 1997). Chromosomal duplication can promote the hybrid fertility besides reproductive isolation of their parents being the reproductive barriers a crucial event for new species origin (Grant, 1981; Rieseberg, 1997; Ramsey & Schemske 1998; Otto & Whitton, 2000; Stace, 2000; Soltis & Soltis, 2000). The way through which polyploid species persist in their natural populations and the ecological and genetic consequences of polyploidy represent interesting questions for further research (Mable, 2003).

Notes made on labels of herbarium specimens by Alwyn Gentry indicate that he believed that several species of *Anemopaegma* had a hybrid origin (L.G. Lohmann, pers. comm.). In the polyploid species belonging to the *Anemopaegma arvense* species complex, successive hybridization

events may have occurred between parental diploids with  $2n = 40$ . Hand-made inter-specific pollination events among sympatric species indicate that some species from this complex are indeed inter-fertile (Firetti-Leggieri *et al.*, in prep). In natural conditions, gene flow among species of this complex is possible due to the shared phenology and pollinators (Firetti-Leggieri *et al.*, in prep.). Furthermore, in sympatric populations of *A. arvense* and *A. glaucum*, hybrid zones containing individuals with intermediate morphology were observed, corroborating a polyploid or hybrid origin of species of the *A. arvense* complex (Firetti-Leggieri *et al.*, in prep.).

## REFERENCES

- Alcorcés de Guerra N. 2002.** Cariología de dos especies del género *Tabebuia* Gomes (Bignoniaceae). *Revista UDO Agrícola* **2**: 14-21.
- Arnold ML. 1997.** *Natural hybridization and Evolution*. Oxford University Press. Oxford, UK.
- Barros MG. 2001.** Pollination ecology of *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. & Hook and *T. ochracea* (Cham.) Standl. (Bignoniaceae) in Central Brazil cerrado vegetation. *Revista Brasileira de Botânica* **24**: 255-261.
- Bittencourt Jr., NS., Semir J. 2005.** Late-acting self incompatibility and other breeding systems in *Tabebuia* (Bignoniaceae). *International Journal of Plant Science* **166**: 493-506.
- Briggs D, Walters SM. 1997.** Plant variation and evolution. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Chen ST, Zhou ZK, Guan KY, Nakata M. 2004.** Karyomorphology of *Incarvillea* (Bignoniaceae) and its implications in distribution and taxonomy. *Botanical Journal of the Linnean Society* **144**: 113-121.
- Fischer E, Theisen I, Lohmann LG. 2004.** Bignoniaceae. In: J.W. Kadereit; K. Kubitzki (Org.). *The families and genera of vascular plants*. 1 ed. Heidelberg (Alemanha). vol. 7 p.9-98.

- Gentry AH. 1973.** Flora do Panamá. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **60**: 781-977.
- Gentry AH. 1974.** Coevolutionary patterns in Central American Bignoniaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **61**: 728-759.
- Gentry AH. 1976.** Bignoniaceae of southern Central America: Distribution and ecological specificity. *Biotropica* **8**: 117-131.
- Gentry AH. 1980.** Bignoniaceae, Part 1 – Tribes Crescentieae and Tourrettieae. *Flora Neotropica Monograph* **25**: 1-130.
- Gentry AH. 1988.** Changes in plant community diversity and floristic composition environmental and geographical gradients. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **75**: 1-34.
- Goldblatt P, Gentry AH. 1979.** Cytology of Bignoniaceae. *Botaniska Notiser* **132**: 475-482.
- Goldblatt P. 1989.** Miscellaneous Chromosome Counts in Asteraceae, Bignoniaceae, Proteaceae and Fabaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **76**: 1186-1188.
- Grant V. 1981.** *Plant Speciation*. 2<sup>nd</sup> ed. Columbia University Press, New York and London.
- Guerra MS. 1985.** Estrutura e diversificação dos núcleos interfásicos em plantas. In: Aguiar-Perecin M.L.R., Martins P.S., Bandel G. (eds.). *Tópicos de Citogenética e Evolução de Plantas*. Sociedade Brasileira de Genética, Ribeirão Preto (Brasil). p137-153.
- Harrison RG. 1993.** Hybrids and hybrid zones: historical perspective. In: Hybrid zones and the Evolutionary. Process.R.G. Harrison (ed.), Oxford University Press, Oxford.
- Joshi AB, Hardas MW. 1956.** Ploidy in two Bignoniaceous garden climbers. *Indian Journal of Genetics and Plant Breeding* **16**: 57-59.
- Jullier S. 1989.** Cromosomas mitóticos de *Dolichandra cynanchoides* y *Macfadyena unguis-cati* (Bignoniaceae). *Kurtziana* **20**: 215-217.
- Lohmann LG. 2006.** Untangling the Phylogeny of Neotropical Lianas (Bignoniaceae, Bignoniaceae). *American Journal of Botany* **93**: 304-318.

- Lohmann LG. 2008.** A new generic classification for Bignoniaceae (Bignoniaceae). *Annals of the Missouri Botanical Garden* (in press)
- Lombello R, Forni-Martins ER. 1998.** Chromosomal studies and evolution in Sapindaceae. *Caryologia* **51**: 81-93.
- Lombello R, Forni-Martins ER. 2003.** Malpighiaceae: correlations between habit, fruit type and basic chromosome number. *Acta Botanica Brasilica* **17**: 171-178.
- Mable BK. 2003.** Breaking down taxonomic barriers in polyploidy research. *Trends in Plant Science* **8**: 582-590.
- Nakajima G. 1936.** Chromosome numbers in some crop and wild Angiosperms. *Japanese Journal of Genetics* **12**: 211-218.
- Olmstead RG., Zjhra ML, Lohmann LG, Grose SO, Eckert AJ. 2009.** A molecular phylogeny of Bignoniaceae. *American Journal of Botany*. **96**: 1731-1743.
- Otto SP, Whitton J. 2000.** Polyploidy: incidence and evolution. *Annual Review of Genetics* **34**: 401-437.
- Piazzano M. 1998.** Números cromosómicos em Bignoniaceae de Argentina. *Kurtziana* **26**: 179-219.
- Radford AE, Dickson WC, Massey JR, Bell CR. 1974.** Vascular plant systematics. Harper & Hall Publ, New York, USA.
- Ramsey J, Schemske DW. 1998.** Pathways, mechanisms, and rates of polyploid formation in flowering plants. *Annual Review of Ecology and Systematics* **29**: 467-501.
- Raven PH. 1975.** The bases of angiosperm phylogeny: cytology. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **62**: 724-764.
- Rieseberg LH. 1997.** Hybrid origins of plant species. *Annual Review Ecology and Systematics* **28**: 359-389.
- Schemske DW. 2000.** Understanding the origin of species. *Evolution* **54**: 1069-1073.

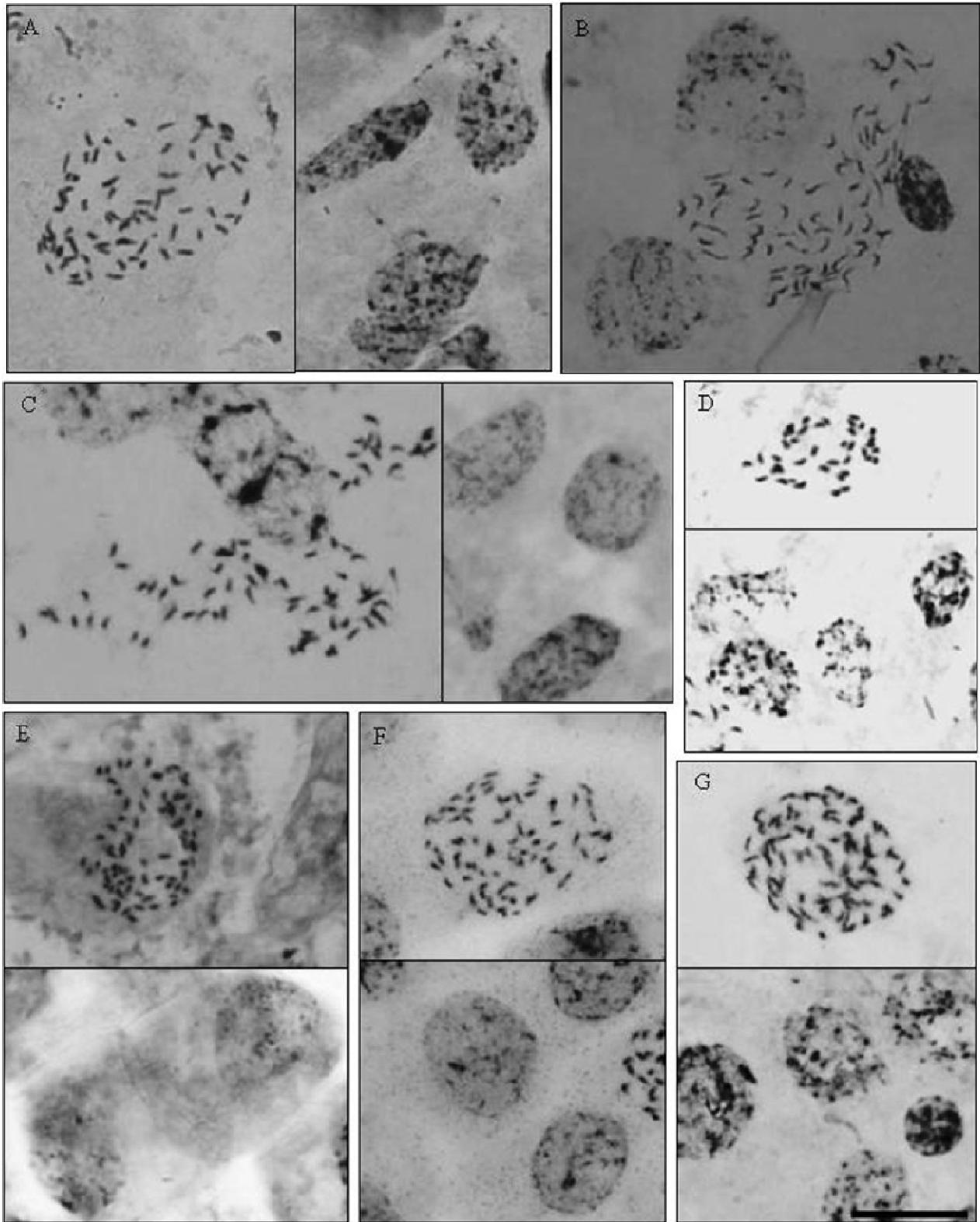
- Soltis PS, Soltis, DE. 2000.** The role of genetic and genomic attributes in the success of polyploids. *Proceeding of the Natural Academy Sciences U.S.A.* **97**: 7051–7057.
- Spangler RE, Olmstead RG. 1999.** Phylogenetic analysis of Bignoniaceae based on the cpDNA gene sequences *rbcL* and *ndhF*. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **86**: 33-46.
- Stace CA. 1991.** Plant taxonomy and biosystematics. 2nd ed. Cambridge University Press, Cambridge, UK.
- Stace CA. 2000.** Cytology and cytogenetics as a fundamental taxonomic resource for the 20th and 21th centuries. *Taxon* **49**: 451-477.
- Stebbins GL. 1959.** The role of hybridization in evolution. *Proceedings of the American Philosophical Society* **103**: 231-251.
- Stebbins GL. 1971.** Chromosome variation in higher plants. Edward Arnold, London, UK.
- Stevens P. 2001.** [www.mobot.org/MOBOT/Research/APweb/orders/lamialesweb.htm](http://www.mobot.org/MOBOT/Research/APweb/orders/lamialesweb.htm).
- Sugiura T. 1931.** A list of chromosome numbers in angiospermous plants. *Botanical Magazine (Tokyo)* **45**: 353-355.
- Sugiura T. 1936.** A list of chromosome numbers in angiospermous plants. II. *Proceedings of the Imperial Academy of Tokyo* **12**: 144-146.
- Venkatasubban KR. 1945.** Cytological studies in Bignoniaceae IV. The cytology of *Dolichandrone reedii* Seem. and allied genera. *Proceedings of the Indian Academy of Science B* **21**: 77-92.

Species	Location	Collection Number
<i>A. acutifolium</i> DC. (pop. 1; shrubby morph)	Minas Gerais, near Uberlândia, cerrado	F. Firetti et al. 430
<i>A. acutifolium</i> DC. (pop. 2; scandent morph)	Distrito Federal, Brasília, IBGE's Ecological Reserve, cerrado	F. Firetti & C.P. Firetti 1930
<i>A. album</i> Mart. ex DC	Bahia, Mucugê, CERR	F. Firetti et al. 1110
<i>A. arvense</i> (Vell.) Stellf. ex de Souza	Distrito Federal, Brasília, cerrado	F. Firetti & C.P. Firetti 1850
<i>A. glaucum</i> Mart. ex DC. (pop. 1; pubescent morph)	São Paulo, Assis, cerrado	F. Firetti et al. 270
<i>A. glaucum</i> Mart. ex DC. (pop. 2; glabrous morph)	Distrito Federal, Brasília, University of Brasília, cerrado	F. Firetti & C.P. Firetti 1780
<i>A. scabrusculum</i> Mart. ex DC	Bahia, Mucugê, campo rupestre	F. Firetti et al. 1000
<i>Anemopaegma</i> sp. 1	Distrito Federal, Brasília, IBGE's Ecological Reserve, cerrado	F. Firetti & C.P. Firetti 530

**Table 1.** Species of *Anemopaegma* sampled, followed by collection location and voucher number.

Species	2n	Interphase nuclei	Habit	Reference
<i>A. acutifolium</i> *(pop.1)	80	S-RET	S	This-work
<i>A. acutifolium</i> *(pop.2)	80	S-RET	S	This-work
<i>A. album</i> *	40	S-RET	S	This-work
<i>A. arvense</i> *	80	ARET	S	This-work
<i>A. chamberlayni</i> -(Sims)-Bureau-&K.Schum.	40	-	L	Venkatasubban-1945-(as- <i>Bigonia chamberlayni</i> Sims)
<i>A. glaucum</i> *(pop.1)	80	ARET	S	This-work
<i>A. glaucum</i> *(pop.2)	80	ARET	S	This-work
<i>A. orbiculatum</i> -(Jacq.)-A.DC.	40	-	L	Goldblatt-&Gentry-1979
<i>A. scabrusculum</i> *	80	ARET	S	This-work
	0	0	0	0
<i>Anemopaegma</i> sp1*	80	ARET	S	This-work

**Table 2.** Chromosome numbers and interphase nuclei types in *Anemopaegma* species. The species following the symbol (\*) represent new chromosome counts for the genus. Interphase nuclei: ARET: areticate, S-RET: semi-reticulate and RET: reticulate. Habit: S: shrubby, L: lianoid



**Figure 1.** Chromosomes and interphase nuclei of *Anemopaegma* species. **A** – *A. acutifolium* (pop1), **B** – *A. acutifolium* (pop2), **C** - *A. arvense*, **D** – *A. album*, **E** – *A. glaucum*, **F** – *A. scabriusculum*, **G** - *Anemopaegma* sp. Bars: 10 $\mu$ m.

# CAPÍTULO 4

**Delimitação das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*  
(Bignoniaceae, Bignonieae) baseada em marcadores AFLP**

## RESUMO

*Anemopaegma* constitui um dos maiores gêneros da tribo Bignonieae (Bignoniaceae) e um dos mais problemáticos taxonomicamente, apresentando diversas dúvidas quanto à delimitação de várias espécies. Dentre as espécies de delimitação controversa incluem-se às pertencentes ao complexo *Anemopaegma arvense*. As opiniões dos taxonomistas, baseadas em caracteres morfológicos, são controversas em considerá-las uma única espécie altamente polimórfica ou separá-las. O objetivo deste trabalho foi delimitar as espécies e morfoespécies do complexo *Anemopaegma arvense* através do uso de ferramentas moleculares, neste caso os marcadores AFLP. A técnica de AFLP é bastante eficaz em revelar diferenças genéticas extremamente pequenas, o que tem levado o uso da mesma nos estudos filogenéticos em níveis taxonômicos baixos e, em diferenciação de variedades de complexos de espécies. Das 19 combinações de iniciadores testadas, 3 foram escolhidas de acordo com o número de fragmentos gerados. Os resultados foram analisados utilizando métodos de análise multivariada de agrupamento (UPGMA) e de ordenação (PCA). Os dendrogramas e os gráficos de ordenação gerados mostram que as espécies e morfoespécies não formam grupos. Entretanto, houve a formação de um grupo de espécimes, pertencentes a distintas espécies e morfoespécies, procedentes do Distrito Federal. O não agrupamento das espécies pode ser explicado pela baixa quantidade de fragmentos polimórficos compartilhados entre os espécimes da mesma espécie ou da mesma morfoespécie. A baixa porcentagem de fragmentos polimórficos pode indicar uma pequena quantidade de variação molecular e baixa diversidade genética entre as espécies e morfoespécies de *Anemopaegma* utilizados neste estudo. A falta de diferenciação genética entre as espécies e morfoespécies pode ser explicada pelo fluxo gênico que ocorre entre os indivíduos de populações simpátricas de espécies distintas promovido pela floração sincrônica e, compartilhamento dos mesmos polinizadores.

**Palavras-chave:** AFLP, *Anemopaegma*, Bignonieae, Bignoniaceae, complexo de espécies

## INTRODUÇÃO

A família Bignoniaceae Juss., com 104 gêneros e cerca de 860 espécies (FISCHER *et al.* 2004), é composta principalmente por lianas, árvores e arbustos. Esta é uma das famílias de plantas lenhosas mais importantes na região Neotropical e a família de lianas mais importante da América Central (GENTRY 1974). A família é essencialmente pantropical, com 78% das espécies ocorrendo nos neotrópicos, e a maior parte da diversidade ocorrendo no Brasil (GENTRY 1974). A diversidade e abundância de indivíduos de Bignoniaceae são maiores em florestas secas do que em florestas úmidas, tendo sido considerada a segunda família mais diversificada em plantas lenhosas em florestas secas, após Leguminosae (GENTRY 1988). Uma das hipóteses para explicar a grande riqueza de espécies de Bignoniaceae em comunidades tropicais é a de que espécies simpátricas possuem nichos específicos, com as interações planta-polinizador e a fenologia estando entre os principais fatores determinantes da alta diversidade de espécies da família nas várias comunidades (GENTRY 1976).

Taxonomicamente, Bignoniaceae foi dividida por GENTRY (1980) em oito tribos diferenciadas pelo hábito e caracteres dos frutos: Tecomeae, Oroxyleae, Bignonieae, Eccremocarpeae, Tourretieae, Coleeae, Crescentieae e Schlegelieae. Porém, SPANGLER & OLMSTEAD (1999), num estudo de reconstrução filogenética da família com base no sequenciamento de DNA de cloroplasto (*rbcL* e *ndhF*), demonstraram que a tribo Schlegelieae está distantemente aparentada das demais Bignoniaceae, sugerindo que Schlegelieae deveria ser excluída da família.

A família está atualmente posicionada na ordem Lamiales (STEVENS 2001; APG II, 2003). As características diagnósticas do grupo se referem às folhas opostas e compostas, com nectário extrafloral nas folhas e no cálice, o disco nectarífero está geralmente presente nas flores. As flores são vistosas, com quatro estames e um estaminódio, ovário com duas séries de óvulos em cada

carpelo, estigma foliáceo, espatulado e sensitivo. Além disso, as sementes com endosperma reduzido são geralmente achatadas, com alas provenientes de óvulos unitegumentados e embrião com cotilédones profundamente lobados (JUDD *et al.* 2002).

Bignoniae Dumort. constitui uma linhagem monofilética bem sustentada dentro de Bignoniaceae (LOHMANN no prelo). Este grupo inclui 376 espécies distribuídas em 21 gêneros (LOHMANN 2006, no prelo), sendo considerada a maior das sete tribos atualmente reconhecidas na família (LOHMANN no prelo). Esta tribo está restrita aos Neotrópicos, com uma única espécie na América do Norte (FISCHER *et al.* 2004, LOHMANN no prelo). Todos os gêneros são compostos exclusivamente ou predominantemente por lianas (GENTRY 1976), com distribuição frequentemente centrada no Brasil (GENTRY 1980). Alguns gêneros também apresentam espécies arbustivas, como *Anemopaegma*, geralmente crescendo em vegetações secas e abertas como os cerrados brasileiros e as savanas paraguaias, bolivianas e argentinas (GENTRY 1980).

*Anemopaegma* Mart. ex. Meisn. é um gênero fortemente sustentado como monofilético (LOHMANN 2006). O gênero contém 45 espécies de lianas ou arbustos distribuídas em florestas úmidas ou secas, cerrado e caatinga do México ao Brasil e Argentina (LOHMANN no prelo). É caracterizado por caules cilíndricos, perfis dos botões axilares foliáceos e orbiculares ou cordiformes, glândulas muitas vezes presentes nas axilas das nervuras secundárias dos folíolos, gavinhas trifidas, inflorescências racemosas, flores amarelas com glândulas na base dos lobos, cálice glandular, ovário e fruto estipitados (uma sinapomorfia do gênero) (LOHMANN no prelo). Segundo GENTRY (1973) este é um dos gêneros mais complicados taxonomicamente, pois é constituído por muitas espécies similares morfológicamente, mas que apresentam grande plasticidade fenotípica e muitos fenótipos locais designados como espécies. Há evidências morfológicas de que algumas espécies de *Anemopaegma* tiveram origem por hibridação natural e introgressão.

A hibridação natural em Bignoniaceae foi relatada por BARROS (2001) e BITTENCOURT Jr. (2003) para espécies do gênero *Handroanthus* (tribo Tecomeae) (como *Tabebuia*). A partir de

experimentos manuais de cruzamento, BITTENCOURT Jr. (2003) constatou um maior sucesso reprodutivo em cruzamentos inter-específicos que em cruzamentos intraespecíficos legítimos para espécies de *Handroanthus* do cerrado. A hibridação natural é considerada um processo frequente entre espécies simpátricas de plantas e animais, onde as condições ecológicas são permissíveis (GRANT 1971). De acordo com ANDERSON (1949) e GRANT (1971, 1981), a ocorrência deste fenômeno está intimamente relacionada com a disponibilidade de habitats abertos para o estabelecimento dos híbridos e da sua progênie. A hibridação é mais freqüente após perturbações de habitats que criam novos ambientes e rompem os limites ecológicos. Essas condições podem resultar de processos naturais, porém na maioria das vezes é resultado da atividade humana, como desmatamento, fogos periódicos e agricultura (ANDERSON 1949, GRANT 1971, TSUKAYA *et al.* 2003, TOVAR-SANCHEZ & OYAMA 2004, WEEKS & SIMPSON 2004).

A hibridação pode ter diversas conseqüências evolutivas, incluindo aumento na diversidade genética intra-específica a partir da introdução de genes em outro genótipo, origem e transferência de adaptações genéticas, origem de novos ecótipos ou espécies e reforço ou ruptura das barreiras reprodutivas (RIESEBERG 1997).

A reprodução dos híbridos naturais, em muitos casos, segue um caminho denominado introgressão, o qual representa a incorporação permanente de genes de uma população em outra (RIESEBERG & WENDEL 1993). Segundo ANDERSON (1949), a hibridação introgressiva é o cruzamento repetido de um híbrido natural com uma ou ambas as populações parentais. Este processo resulta na transferência de genes de uma espécie para outra através de cruzamentos (GRANT 1971) e é facilitado por cruzamentos híbridos entre as populações parentais. Três entidades estão envolvidas na introgressão: duas populações parentais e uma população híbrida que participa em cruzamentos híbridos com as populações parentais.

A hibridação representa uma reversão no processo de divergência evolutiva. A reversão pode ser local ou amplamente distribuída dependendo da extensão geográfica na qual as espécies

envolvidas ocorrem. Pode ocorrer entre espécies simpátricas ou entre ecótipos que foram anteriormente separados, mas que restabeleceram contato em uma nova região geográfica. O resultado, no último caso, é uma zona com tipos intermediários, conhecida como zona híbrida (GRANT 1971).

Segundo GRANT (1971), a maioria das espécies vegetais pode ser derivada de eventos passados de hibridação. MASTERSON (1994), a partir da análise de células-guarda fossilizadas de angiospermas extintas, concluiu que o número cromossômico haplóide primitivo de todas as angiospermas era entre sete e nove. Esse resultado leva a inferir que a maioria (cerca de 70%) das angiospermas tem progenitores poliplóides. Dado que a maior parte da poliploidia em plantas deriva de hibridação, as observações de MASTERSON (1994) sustentam a hipótese de que a maioria das angiospermas é derivada de ancestrais híbridos (ARNOLD 1997).

Segundo anotações de A.H. GENTRY em exsicata (dados não publicados), o complexo *Anemopaegma arvense* é composto por quatro espécies: *Anemopaegma acutifolium* DC., *A. arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza, *A. glaucum* Mart. ex DC. e *A. scabriusculum* Mart ex DC. Além destas espécies, que apresentam características morfológicas relativamente bem definidas, há ainda uma variedade de morfoespécies intermediárias que aparentemente apresentam origem híbrida. As espécies e as morfoespécies intermediárias são distinguidas principalmente pelo hábito, morfologia da folha e da inflorescência (FIRETTI-LEGGIERI Capítulo 1). Apesar de inicialmente ser considerada pertencente a este complexo, *A. scabriusculum* foi retirada deste grupo de espécies por apresentar aspectos morfológicos e distribuição geográfica muito distintos das demais espécies (FIRETTI-LEGGIERI Capítulo 1). A separação de *A. scabriusculum* deste grupo de espécies foi corroborada pelo estudo filogenético do gênero *Anemopaegma* realizado por WINKWORTH & LOHMANN (dados não publicados).

Em experimentos envolvendo polinizações controladas, foi constatado que as espécies do complexo *A. arvense* também formam frutos e sementes viáveis provenientes de polinizações

interespecíficas (FIRETTI-LEGGIERI Capítulo 6). Estes dados corroboram a hipótese de GENTRY (1973a, b), de que novas espécies do gênero podem ser originadas por hibridação.

Estudos taxonômicos, baseados em caracteres morfológicos, descreveram um grande número de variedades para *A. arvense* e *A. glaucum*. Em estudo sobre as variedades de *Anemopaegma* que ocorrem no Distrito Federal, FERREIRA (1973) descreveu as seguintes variedades para *A. arvense*: *A. arvense* var. *arvense*, *A. arvense* var. *pubera*, *A. arvense* var. *latifolia* e *A. arvense* var. *peciolada*. Na Flora Brasiliensis, *A. glaucum* é apresentada com três variedades: *A. glaucum* var. *lanceifolia*, *A. glaucum* var. *triplinervia* e *A. glaucum* var. *pubescens*. O grande número de variedades descritas pelos diferentes autores indica a dificuldade na classificação das espécies desse complexo.

O uso de ferramentas moleculares em combinação com ferramentas morfológicas tem se mostrado cada vez mais significativas para estudos biosistemáticos (SOLTIS *et al.*, 1992; KARP *et al.*, 1996).

Por exemplo, a técnica de AFLP (Amplified Fragment Length Polymorphisms), foi desenvolvida por VOS *et al.* (1995), para a aplicação no DNA de qualquer organismo ou complexidade (FAY *et al.*, 2005). É uma técnica baseada em PCR que envolve a clivagem do DNA genômico, seguido por ligação de adaptadores aos fragmentos gerados e amplificação seletiva em PCR de um subgrupo desses fragmentos. Os fragmentos amplificados são separados em gel e visualizados por auto-radiografia ou aparelho de sequenciamento utilizando fluorescência (VOS *et al.*, 1995). AFLP combina RFLP (restriction fragment length polymorphisms) e métodos baseados em PCR (polymerase chain reaction) (VOS *et al.* 1995). É um método molecular robusto, que permite a detecção de um número de polimorfismos muito maior do que os revelados por outras técnicas semelhantes como RFLP e RAPD (KOOPMAN 2005; YONEMOTO *et al.* 2007).

A técnica de AFLP foi inicialmente desenvolvida para a construção de mapas genéticos de plantas (LECERTEAU & SZMIDT 1999) e animais (GIANNASI *et al.* 2001, AKESSON *et al.* 2007). No entanto, devido a sua grande eficácia na identificação de um grande número de polimorfismos,

sua aplicação em estudos de sistemática molecular e genética de populações foi quase imediata (KARDOLUS *et al.* 1998). A capacidade da técnica em revelar diferenças genéticas extremamente pequenas tem proporcionado o uso da mesma em estudos filogenéticos em níveis taxonômicos baixos (infra-específico), em estudos de distinção de morfoespécies em complexos de espécies (HEDRÉN *et al.* 2001, DESPRÉS *et al.* 2003, LIHOVÁ *et al.* 2004, PINHEIRO 2005, KOEHLER 2007), na avaliação de diversidade genética de plantas cultivadas (RIDOUT & DININI 1999, GARCIA-MAS *et al.* 2000, BONATO *et al.* 2006, VIEIRA *et al.* 2007, YONEMOTO *et al.* 2007, YOON *et al.* 2007) e nativas de interesse econômico (KARDOLUS *et al.* 1998, CARDOSO *et al.* 2000, KJAER *et al.* 2004). Os estudos supracitados revelam uma discriminação genética dos morfoespécies e/ou cultivares com o uso de pequena quantidade de pares de iniciadores de AFLP, confirmando assim a facilidade e rapidez no emprego da técnica como afirmado por VOS *et al.* (1995).

Alguns autores ressaltam ainda a aplicabilidade da técnica em estudos de identificação de genótipos parentais em híbridos interespecíficos (HAN *et al.* 2000, GOBERT *et al.* 2002), avaliação de fluxo gênico e dispersão, níveis de xenogamia (SMITH 1988; QIAN *et al.* 2006) e identidade clonal entre indivíduos, permitindo inferências sobre o modo de reprodução (MUELLER & WOLFENBARGER 1999).

Na técnica de AFLP, o genoma total do organismo de interesse (nuclear e das organelas) é clivado com duas enzimas de restrição, uma de “corte raro” com seis a oito bases de reconhecimento e outra de “corte freqüente” com quatro bases de reconhecimento. *EcoR* I é a enzima de “corte raro” mais utilizada. Esta enzima corta o DNA no limite da seqüência G-AATTC. Por outro lado, *Mse* I é a enzima de “corte freqüente” mais utilizada; esta enzima corta o DNA no limite da seqüência T-TAA (PINHEIRO 2005; GORT *et al.* 2006). O alto grau de especificidade das enzimas de restrição resulta na produção de um grupo de fragmentos replicáveis. Três tipos de fragmentos de restrição são gerados após a digestão: (1). fragmentos clivados nas duas extremidades pela enzima de “corte

raro”; (2). fragmentos clivados nas duas extremidades pela enzima de “corte frequente”; (3). fragmentos clivados com ambas enzimas (uma em cada extremidade) (BLEARS *et al.* 1998).

Nas extremidades dos fragmentos originados por clivagem são ligados adaptadores específicos usando T4 DNA ligase., que reconhecem os sítios cortados por cada uma das enzimas de restrição (PINHEIRO 2005). A seqüência dos adaptadores e o local de restrição adjacente servem como locais de ligação dos iniciadores para a subsequente amplificação (BLEARS *et al.* 1998).

A primeira etapa da amplificação é denominada amplificação pré-seletiva. Nesta amplificação, os fragmentos ligados a adaptadores são amplificados utilizando iniciadores que possuem seqüência complementar aos adaptadores. Desta forma, apenas os fragmentos que possuem adaptadores são amplificados. Nesta primeira amplificação, os iniciadores podem conter (além de sua seqüência usual) um nucleotídeo adicional. Este nucleotídeo tem por função restringir o número de fragmentos que serão amplificados, já que para ser amplificado, o fragmento precisa estar ligado a um adaptador e possuir um nucleotídeo complementar àquele do iniciador (PINHEIRO 2005).

A segunda etapa de amplificação é denominada amplificação seletiva. Nesta amplificação os iniciadores utilizados contém dois ou três nucleotídeos extras além das seqüências complementares às dos adaptadores. Estes nucleotídeos também têm como função restringir o número de fragmentos que serão amplificados. Em particular, cada nucleotídeo seletivo diminui o número de fragmentos pelo fator 4 (PINHEIRO 2005, GORT *et al.* 2006). Os iniciadores desta etapa de amplificação contém três tipos de seqüência de DNA: a região 5' complementar ao adaptador, a seqüência do local de restrição e os nucleotídeos seletivos 3'. Dos dois nucleotídeos utilizados, um é complementar ao adaptador e adjacente à seqüência do local de restrição da enzima de “corte raro”, o qual inclui 1-3 nucleotídeos seletivos na extremidade 3'(ex. *EcoRI* 3'-XXX, onde X denota os nucleotídeos seletivos). O segundo iniciador é complementar ao adaptador e à seqüência do local de reconhecimento da enzima de “corte frequente”, com extensão de uma a três bases seletivas (ex. *MseI* 3'-XXX) (BLEARS *et al.* 1998). O número de fragmentos amplificados é determinado pela

complexidade do DNA genômico, pela escolha das enzimas e pelo número e tipo de nucleotídeos seletivos dos iniciadores (BLEARS *et al.* 1998). Para genomas pequenos ( $10^6$ - $10^7$  pb), um ou dois nucleotídeos seletivos na extremidade 3' de cada iniciador pode ser suficiente para revelar polimorfismos. Entretanto, para genomas mais complexos ( $10^8$ - $10^9$  pb) nucleotídeos adicionais são necessários para a produção de uma quantidade desejável de fragmentos amplificados. Tipicamente, o número ideal de fragmentos está em torno de 50-100 (BLEARS *et al.* 1998). Os fragmentos obtidos podem ser verificados num gel de poliacrilamida, com marcação radioativa ou por prata. Outra alternativa é a detecção dos fragmentos em um seqüenciador automático de DNA, através de marcação por fluorescência (PINHEIRO 2005).

AFLP apresenta várias vantagens sobre as técnicas pré-existentes. Em particular: (1). AFLP pode ser usado para avaliar DNA de diferentes origens e complexidades (VOS *et al.* 1995; FAY *et al.* 2005); (2). AFLP produz grande quantidade de polimorfismos, gerando alta resolução mesmo em organismos proximamente aparentados; (3). AFLP permite a geração de um número muito alto de marcadores através da variação nas enzimas de restrição, a natureza e número de nucleotídeos seletivos (BLEARS *et al.* 1998); (4) Os marcadores de AFLP são produzidos em todo o genoma do organismo, excluindo as limitações relacionadas às análises de parentesco que tomam em base apenas algumas regiões do genoma; (5). Análises de AFLP podem ser realizadas sem um conhecimento prévio da identidade das sequências das regiões que serão amplificadas; (6). Uma baixa quantidade de DNA é necessária para cada reação, um aspecto bastante vantajoso quando o tecido vegetal é de difícil obtenção; (7). A obtenção dos marcadores é, geralmente, rápida e barata em comparação a outras técnicas, (e.g., microssatélites); (8). Um grande número de loci podem ser analisados simultaneamente; (9). Os resultados são facilmente reproduzidos (MUELLER & WOLFENBARGER 1999); (10). É possível utilizar amostras desidratadas em sílica gel para a extração de DNA, permitindo o estudo de organismos de difícil cultivo (KOEHLER 2007).

Apesar das vantagens supra citadas, a técnica de AFLP apresenta uma limitação relacionada ao uso destes dados em reconstruções filogenéticas. Isto se deve a problemas relacionados a homologia dos fragmentos gerados. Em particular, a homologia entre os fragmentos é contestada porque não se conhece a seqüência de nucleotídeos que compõe cada fragmento (ROBINSON & HARRIS 1999). Porém, trabalhos como os de VAN DER VOORT *et al.* (1997) e EL-RABEY *et al.* (2002) demonstram que a homoplasia parece ser rara em níveis taxonômicos baixos (dentro de uma mesma espécie ou em complexos de espécies), onde os marcadores AFLP são frequentemente utilizados. VAN DER VOORT *et al.* (1997), sequenciaram 20 bandas de AFLP de cinco indivíduos de batata e encontraram homoplasia em apenas uma banda. Segundo RIESEBERG (1996) e MECHANDA *et al.* (2004), o nível de erro na indicação da homologia dos fragmentos de AFLP aumenta com a divergência taxonômica do grupo em questão. De uma forma geral, os marcadores AFLP parecem fornecer informações filogenéticas para a elucidação de parentesco em níveis infragenéricos e infraespecíficos, onde os dados de sequenciamento não são informativos.

O objetivo geral do presente trabalho é delimitar geneticamente as morfoespécies do complexo *Anemopaegma arvense* com o uso de marcadores AFLP, visando a uma caracterização em nível molecular e a uma melhor delimitação taxonômica destes táxons.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Coleta de material*

As amostras utilizadas no estudo de AFLP consistiram de folhas jovens coletadas e acondicionadas em sacos de plástico zip-loc contendo sílica gel (CHASE & HILLS 1991), procedimento adotado para todos os indivíduos incluídos na análise, buscando uma padronização do tecido utilizado.

As coletas foram realizadas em áreas de cerrado dos estados da Bahia, Goiás, Minas Gerais, São Paulo e no Distrito Federal, sendo coletadas amostras das seguintes morfoespécies pertencentes ao complexo: *Anemopaegma acutifolium* “típica”, *A. acutifolium* “sarmentosa”, *A. arvense* “típica”, *A. arvense* “lanceifolia pilosa”, *A. glaucum* “típica”, *A. glaucum* “não glauca”, *A. glaucum* “pubescente”, *A. glaucum* “triplinérvea pilosa”. Além de tais morfoespécies foram incluídas amostras de *A. scabriusculum*, inicialmente considerada integrante deste grupo de espécies e, *A. album* espécie externa ao complexo (Tabela 1).

Juntamente com a coleta de material em sílica realizou-se a coleta de ramos dos espécimes para a confecção de exsiccatas que se encontram depositadas no herbário UEC da Universidade Estadual de Campinas (Anexo 3).

#### *Extração de DNA total*

O DNA total foi extraído de folhas jovens, secas em sílica gel, de acordo com o protocolo de FERREIRA & GRATTAPAGLIA (1995), que consta no anexo 1. Cerca de 30mg de material vegetal seco foram macerados em nitrogênio líquido até a obtenção de um pó fino. Ao material triturado, adicionou-se 700 µl de CTAB com 1,4 µl de 2-mercaptoetanol. Os tubos com a mistura foram colocados em banho-maria a 65 °C por uma hora, sendo agitados a cada dez minutos.

Após uma hora no banho, os tubos foram retirados e deixados em repouso para esfriar. Após frios, adicionou-se 650 µl de CIA, e estes foram centrifugados a 13.000 rpm durante cinco minutos em microcentrífuga. A fase superior formada, após a centrifugação, foi retirada e transferida para um novo tubo.

Neste novo tubo repetiu-se a adição de CIA (mesma quantidade), a centrifugação e a transferência do material para um terceiro novo tubo.

A este novo tubo, adicionou-se 40 µl de NaOAc e 500 µl de isopropanol frio. Nesta fase, o processo de extração foi estacionado, quando os tubos permaneceram em freezer a -20 °C durante a noite (overnight).

No dia seguinte, os tubos foram centrifugados a 13.000 rpm durante cinco minutos, sendo, após a centrifugação, descartado o líquido restando somente o pellet. Ao pellet adicionou-se 1 ml de etanol a 70%, onde permaneceu em repouso por 10 minutos. Após o repouso, os tubos foram centrifugados novamente a 13.000 rpm durante três minutos e o sobrenadante foi descartado. O processo foi repetido.

Após lavado com etanol 70%, adicionou-se ao pellet álcool absoluto onde o pellet ficou por três minutos. Após a lavagem com álcool absoluto, o pellet ficou exposto ao ambiente para secar. Após seco, o pellet foi ressuscitado com água MiliQ.

#### *Quantificação do DNA*

Após a extração, o DNA foi quantificado em fluorômetro (DyNA Quant 200, Hoefer), já que é preciso iniciar as reações de digestão (primeira etapa da técnica de AFLP) com quantidades de DNA semelhantes entre as amostras, para que não ocorram digestões incompletas em algumas das amostras, fato que pode influenciar o resultado final (APPLIED BIOSYSTEMS 2000; PINHEIRO 2005).

Um total de 205 amostras das espécies e morfoespécies supracitadas tiveram seu DNA extraído e quantificado, para posterior uso no estudo de AFLP.

#### *AFLP*

Para o trabalho com AFLP foi utilizado o protocolo AFLP Plant Mapping Protocol (APPLIED BIOSYSTEMS 2005) modificado por PINHEIRO (2005) (Anexo 2).

O DNA total foi digerido por duas enzimas de restrição, *Eco* RI 10 U/ $\mu$ l e *Mse* I 5 U/ $\mu$ l (Invitrogen™). A quantidade de DNA total utilizado nesta etapa foi calculado, para cada amostra, para a obtenção de um volume correspondente a uma concentração 50 ng de DNA. O tampão utilizado para a reação de digestão foi o 5X DNA Ligase Reaction Buffer (Invitrogen™), que acompanha a enzima T4 DNA Ligase (Invitrogen™).

A reação de ligação dos adaptadores foi realizada utilizando a enzima T4 DNA Ligase, o tampão T4 DNA Ligase 10x, NaCl 0,5M, BSA (bovine serum albumin) (Invitrogen™) 1 mg/ml e adaptadores *Eco* RI e *Mse* I (Applied Biosystems, 2000) e 5,5  $\mu$ l da amostra digerida. A mistura (mix-ligação) permaneceu no termociclador a 37 °C por duas horas.

Nas etapas de amplificação pré-seletiva e seletiva, todos os reagentes usados são do kit AFLP Plant Mapping Kit da Applied Biosystems. O kit utilizado neste estudo foi o Small Plant Genome Kit, para genoma com 50 a 500 megabases.

Para a amplificação pré-seletiva, o mix foi preparado contendo 2  $\mu$ l do produto de ligação diluído com água MiliQ (1:10, 1:15 e 1:30), 0,5  $\mu$ l do iniciador *Eco* RI e 0,5  $\mu$ l do iniciador *Mse* I (iniciadores pré-seletivos) e 7,5  $\mu$ l de Core Mix. A amplificação pré-seletiva foi feita em um termociclador PCR Mastercycler Gradient Eppendorf, usando seguinte programa: 72 °C por 2 minutos; 20 ciclos: 94 °C por 20 segundos, 56 °C por 30 segundos, 72 °C por 2 minutos; 60 °C por 30 minutos; 4 °C infinito. De cada amostra retirou-se 5  $\mu$ l para verificar o resultado da amplificação em gel de agarose 1,5% em tampão TBE 1x, com ladder 100 pb.

Para a amplificação seletiva foram testadas 19 combinações de iniciadores, das 64 possíveis. As combinações testadas foram as seguintes: *Eco* RI-AA e *Mse* I-CAA, *Eco* RI-AC e *Mse* I-CTT, *Eco* RI-AT e *Mse* I-CAG, *Eco* RI-AG e *Mse* I-CAT, *Eco* RI-TC e *Mse* I-CTA, *Eco* RI-TT e *Mse* I-CTC, *Eco* RI-TA e *Mse* I-CTG, *Eco* RI-TG e *Mse* I-CAC, *Eco* RI-AA e *Mse* I-CAC, *Eco* RI-AC e *Mse* I-CTG, *Eco* RI-AT e *Mse* I-CTA, *Eco* RI-AG e *Mse* I-CTC, *Eco* RI-TC e *Mse* I-CAT, *Eco* RI-

TT e *Mse* I-CAG, *Eco* RI-TA e *Mse* I-CTT, *Eco* RI-TG e *Mse* I-CAA, *Eco* RI-AA e *Mse* I-CAG, *Eco* RI-TC e *Mse* I-CTC, *Eco* RI-TT e *Mse* I-CAC.

Para a amplificação seletiva, o mix foi preparado contendo 1,5 µl do produto da pré-seletiva diluído em água MiliQ (1:10, 1:15 e 1:30), 7,5 µl de Core Mix, 0,5 µl do iniciador *Mse* I a 5 µM e 0,5 µl do iniciador *Eco* RI a 1 µM (iniciadores seletivos). O mix foi colocado em tubos específicos para a leitura no seqüenciador. A amplificação seletiva foi feita com a seguinte programação (termociclador com a especificação acima citada): 94 °C por 2 minutos; 10 ciclos: 94 °C por 20 segundos, 66 °C por 30 segundos, redução de 1 °/segundo, 72 °C por 2 minutos; 30 ciclos; 94 °C por 20 segundos, 56 °C por 30 minutos; 72 °C por 2 minutos, 60 °C por 30 minutos; 4 °C infinito.

A separação e detecção dos fragmentos nas amostras foram realizadas com o seqüenciador automático de DNA ABI Prism 310 da Applied Biosystems. A cada amostra a ser seqüenciada adicionou-se 11 µl de formamida e 0,5 µl de DNA padrão (com fragmentos de tamanhos conhecidos) GeneScan 500 Rox Standard.

Para os testes das combinações de iniciadores foram utilizadas 44 amostras, das 210 disponíveis. Estas amostras foram escolhidas por representarem morfoespécies distintas e provenientes de diferentes populações. Além das amostras serem testadas com diferentes combinações de iniciadores, as amostras também foram testadas com diferentes diluições.

Os dados colhidos pelo seqüenciador passaram por uma análise prévia realizada pelo programa Genescan Analysis Software 3.1 (APPLIED BIOSYSTEMS 1998). A análise seguinte consistiu na conversão dos eletroferogramas com os fragmentos selecionados, em matrizes de presença e ausência (matriz do tipo 0 e 1) realizada pelo programa ABI Prism Genotyper 2.5 Software (APPLIED BIOSYSTEMS 2001). Nesta etapa foram geradas matrizes para cada combinação de iniciadores, uma matriz para duas combinações de iniciadores e uma matriz para três combinações de iniciadores.

Os dados presentes em tais matrizes foram analisados por dois métodos de agrupamento e dois coeficientes de similaridade. Os métodos de agrupamento foram UPGMA e Ligação Completa e os coeficientes de similaridade foram Jaccard e Ochiai. Na fase de testes dos métodos para a geração dos dendrogramas, os coeficientes e os métodos de agrupamento foram testados utilizando todas as combinações possíveis de forma que apenas as combinações que geraram coeficientes de correlação cofenética acima de 0,8, pudessem ser selecionados (VALENTIN 2000). Para a aplicação das análises multivariadas, foi utilizado o programa FITOPAC 2 (SHEPHERD 2008).

Para a apresentação dos resultados foram escolhidos os dendrogramas gerados a partir das seguintes planilhas: (1) Planilha com uma única combinação de iniciadores (A3 = *Eco* RI-AA e *Mse* I-CAG); (2) Planilha com duas combinações de iniciadores (A3: *Eco* RI-AA e *Mse* I-CAG, C5 = *Eco* RI-AT e *Mse* I-CTA) e (3) Planilha com as três combinações de iniciadores (A3: *Eco* RI-AA e *Mse* I-CAG, C5 = *Eco* RI-AT e *Mse* I-CTA e D4 = *Eco* RI-AG e *Mse* I-CAT). O objetivo da escolha de tais dendrogramas consiste na verificação da influência do número de amostras e do número de fragmentos polimórficos gerados na representação das relações entre as espécies e morfoespécies. Os dados gerados a partir da união das três combinações também foram submetidos à análise de coordenadas principais (PCA). Os símbolos dos espécimes utilizados estão representados na Tabela 4.

**Tabela 1.** Material coletado para o estudo de AFLP. Espécies e morfoespécies, localidade e número de amostras coletadas.

<b>Espécie</b>	<b>Estado</b>	<b>Populações</b>	<b>Amostras coletadas/população</b>	<b>Total amostras coletadas/espécie</b>
<i>A. acutifolium</i> “típica”	DF	EMBRAPA-Cerrados	2	20
		IBGE	1	
	MG	Serra do Cipó	4	
		Uberlândia	3	
	SP	Fazenda Campininha	10	
<i>A. cf. acutifolium</i> “sarmentosa”	DF	IBGE	30	53
	MG	Uberlândia	2	
	SP	Assis	1	
		Itirapina	20	
<i>A. album</i>	BA	Mucugê	4	4
<i>A. arvense</i> “típica”	DF	IBGE	10	43
		UnB	4	
	GO	Alto Paraíso	4	
	MG	Uberlândia	1	
	SP	Fazenda Campininha	13	
		Itirapina	11	
<i>A. arvense</i> “lanceifolia pilosa”	DF	EMBRAPA-Cerrados	1	11
		IBGE	8	
	GO	Alto Paraíso	2	
<i>A. glaucum</i> “típica”	BA	Luis Eduardo Magalhães	2	13
	DF	IBGE	9	
		UnB	2	
<i>A. glaucum</i> “não glauca”	DF	EMBRAPA-Cerrados	2	25
		IBGE	14	
		UnB	4	
	MG	Serra do Cipó	3	
	SP	Assis	1	
<i>A. glaucum</i> “pubescente”	DF	IBGE	2	8
		UnB	6	
<i>A. glaucum</i> “triplinérvea pilosa”	GO	Alto Paraíso	5	5
<i>A. scabriusculum</i>	BA	Luís Eduardo Magalhães	9	24
		Mucugê	13	
		Caetité	2	

## RESULTADOS

De acordo com as análises de sequenciamento, das 19 combinações de iniciadores testadas, três foram escolhidas para o desenvolvimento do trabalho. O critério utilizado para a escolha dos iniciadores foi a quantidade de fragmentos gerados por cada par de iniciadores nas amostras testadas, sendo considerado 50 o número mínimo. As combinações de iniciadores escolhidas foram: A3: *Eco* RI-AA e *Mse* I-CAG, C5 = *Eco* RI-AT e *Mse* I-CTA e D4 = *Eco* RI-AG e *Mse* I-CAT.

Das três combinações, C5 foi o par de iniciadores que gerou o maior número total de fragmentos individualmente e A3 foi o que gerou o maior número de fragmentos polimórficos (23,7%). O número total de fragmentos obtidos por cada par de iniciadores e a partir da junção das diferentes combinações está apresentado na Tabela 2.

Para as análises dos dados foram escolhidos os dois coeficientes de similaridade testados, Jaccard e Ochiai em conjunto com o método de agrupamento UPGMA. Os dendrogramas gerados pelo método de Ligação Completa não foram considerados na análise devido aos baixos valores dos coeficientes de correlação cofenética obtidos (menores que 0,7). Como as análises com dois coeficientes de similaridade apresentaram resultados bastante semelhantes, apenas os dendrogramas produzidos pelo coeficiente de Jaccard serão apresentados.

Os dendrogramas foram gerados a partir de um par de iniciadores (A3) (Figura 1), dois pares de iniciadores combinados (A3-C5) (Figura 2) e os três pares de iniciadores combinados (A3-C5-D4) (Figura 3). O dendrograma construído a partir de um único par de iniciadores apresenta maior número de espécimes isolados (não formando grupos) e grupos com maior número de espécimes, sendo formados, portanto, agrupamentos distintos dos apresentados nos dendrogramas das combinações de dois pares de iniciadores e de três pares de iniciadores.

Apesar de diferentes constituições dos grupos de acordo com a quantidade de pares de iniciadores e de espécimes utilizados, pode-se constatar em todas as análises realizadas que as

espécies e morfoespécies raramente formam grupos entre si, sendo os grupos formados preferencialmente por espécies e morfoespécies distintas. Com relação à distribuição geográfica, constata-se a formação de um grupo, na parte basal do dendrograma, formado por espécimes localizados no cerrado do Distrito Federal: UnB (Universidade de Brasília), IBGE (Reserva Ecológica do IBGE) e Embrapa (fazenda pertencente à Embrapa-Cerrados). Com exceção deste grupo, os outros espécimes amostrados não formaram grupos de acordo com a localização geográfica. O não agrupamento das espécies pode ser explicado pela baixa quantidade de fragmentos polimórficos compartilhados entre os espécimes da mesma espécie ou da mesma morfoespécie, como ilustrado na Tabela 3.

Em todos os dendrogramas foram observados arranjos semelhantes dos espécimes, entre eles: (1) O espécime SC 3 que corresponde a *A. acutifolium* localizada na Serra do Cipó (MG) e dois espécimes da Reserva Ecológica do IBGE (Brasília-DF), IBGE 140 (*A. glaucum* “típica”) e IBGE 22B (*A. arvense* “lanceifolia pilosa”) aparecem isolados (não formando grupo com outros espécimes); (2) O espécime IBGE 5 (*A. acutifolium* “sarmentoso”), apesar de pertencer à mesma população dos espécimes IBGE 75, IBGE 202 e IBGE 18 (grupo B na Figura 3) e apresentar morfologia semelhante a estes últimos, mostrou-se isolado em todos os dendrogramas; (3) Os indivíduos das espécies localizadas na Bahia, *A. scabriusculum* e *A. album* (espécie externa ao complexo), mostraram-se geneticamente semelhantes aos espécimes das populações do Distrito Federal, Goiás, Minas Gerais e São Paulo.

Os resultados da análise de coordenadas principais (PCA), gerados a partir dos dados da combinação dos três pares de iniciadores, geralmente confirmaram as relações encontradas pelas análises de agrupamento, com as duas primeiras coordenadas principais explicando 22,73% da variação entre as amostras (Figura 4A) e a primeira com a terceira coordenada explicando 20,43% da variação (Figura 4B).

**Tabela 2.** Número total de fragmentos gerados e número de fragmentos polimórficos por par de iniciadores, com a combinação de dois pares de iniciadores e com a combinação de três pares de iniciadores.

<i>Pares de iniciadores</i>	<i>Nº total de amostras</i>	<i>Nº total de fragmentos</i>	<i>Nº total de fragmentos polimórficos</i>	<i>% de polimorfismo</i>
<b>A3</b>	115	1035	246	23,7
<b>C5</b>	107	2675	117	4,3
<b>D4</b>	72	1008	92	9,1
<b>A3-C5</b>	83	2822	286	10,1
<b>A3-C5-D4</b>	48	2304	239	10,3

**Tabela 3.** Número de fragmentos polimórficos presentes nas amostras de cada espécie/morfotipo (A) e número de fragmentos polimórficos compartilhados por todas as amostras de cada espécie/morfotipo (B) com a análise das três combinações de iniciadores.

<b>Espécie/Morfoespécie</b>	<b>A</b>	<b>B</b>
<i>A. acutifolium</i> “típica”	5; 8; 5; 4; 4; 1; 2; 5	0
<i>A. acutifolium</i> “sarmentosa”	4; 4; 4; 4;	0
<i>A. album</i>	5; 5	1
<i>A. arvense</i> “típica”	7; 4; 5; 3; 5	1
<i>A. arvense</i> “lanceifolia pilosa”	3; 2; 5	0
<i>A. arvense</i> “lanceifolia glabra”	4	-
<i>A. glaucum</i> “típica”	0; 4	0
<i>A. glaucum</i> “não glauca”	6; 7; 4; 2; 5; 4; 5; 4	0
<i>A. glaucum</i> “pubescente”	6; 7; 6; 3	2
<i>A. glaucum</i> “triplinérvea”	4; 6	1
<i>A. glaucum</i> “triplinérvea pilosa”	10; 6	5
<i>A. scabriusculum</i>	6; 6; 9; 3; 9; 10; 9	0

**Tabela 4.** Espécies/morfoespécies e códigos utilizados no estudo de AFLP.

<b>Espécie/Morfotipo</b>	<b>Local-Estado</b>	<b>Código</b>
<i>A. acutifolium</i> “típica”	Campininha-SP  Embrapa-DF  Estrada Prata-Uberlândia-MG  Serra do Cipó-MG  Universidade de Brasília-DF	CAMP 1 CAMP 2 CAMP 4 CAMP 9 CAMP 12 CAMP 24 EMBR 7 EMBR 14B MG 3 MG 4 MG 5 MG 7 SC 3 SC 4 SC 6 UnB 40 UnB 47
<i>A. acutifolium</i> “sarmentosa”	IBGE-DF	IBGE 5 IBGE 9 IBGE 18 IBGE 25 IBGE 48 IBGE 75 IBGE 202
<i>A. acutifolium</i> “touceira”	Itirapina	ITIR 1 ITIR 2 ITIR 3 ITIR 18 ITIR 20 ITIR 21 ITIR 23
<i>A. album</i>	Mucugê-BA	BA 23 BA 25 BA 26
<i>A. arvense</i> “típica”	Alto Paraíso-GO  Campininha-SP  Embrapa-DF	AP 7 AP 8 AP 9 AP 10 CAMP 5A CAMP 5B CAMP 7 CAMP 17 CAMP 25 CAMP 27 EMBR 2 EMBR 9

	Estrada Prata-Uberlândia-MG  IBGE-DF  Itirapina-SP	MG 2  IBGE 11 IBGE 32 ITIR 4 ITIR 8 ITIR 9 ITIR 11 ITIR 12 ITIR 27 ITIR 28
<i>A. arvense</i> “lanceifolia glabra”	Universidade de Brasília-DF	UnB 45
<i>A. arvense</i> “lanceifolia pilosa”	Alto Paraíso-GO Embrapa-DF  IBGE-DF  Universidade de Brasília-DF	AP 2 EMBR 1 EMBR 11 IBGE 22B IBGE 85 UnB 44 UnB 46
<i>A. glaucum</i> “típica”	IBGE-DF  Universidade de Brasília-DF	IBGE 47 IBGE 86 IBGE 140 IBGE 150 UnB 20 UnB 49 UnB 52
<i>A. glaucum</i> “não glauca”	Assis-SP Embrapa-DF  IBGE-DF  Luís Eduardo Magalhães-BA  Serra do Cipó-MG  Universidade de Brasília-DF	ASS 10 EMBR 8 EMBR 10 EMBR 12 IBGE 26 IBGE 29 IBGE 201 IBGE 202 IBGE 203 BA 4  SC 2 SC 5 UnB 42 UnB 43 UnB 49 UnB 51 UnB Gla
<i>A. glaucum</i> “pubescente”	IBGE-DF  Universidade de Brasília-DF	IBGE 30 IBGE 205 UnB 22 UnB 25

		UnB 51 UnB 54
<i>A. glaucum</i> “triplinérvea glabra”	IBGE-DF	IBGE 41 IBGE 200 IBGE 204
<i>A. glaucum</i> “triplinérvea pilosa”	Alto Paraíso-GO	AP 1 AP 4
<i>A. scabriusculum</i>	Caetité-BA  Luís Eduardo Magalhães-BA  Mucugê-BA	CAE 1 CAE 2 CAE 10 CAE 14 BA 1 BA 3 BA 5 BA 28 BA 29 BA 30 BA 31 BA 7 BA 10 BA 33 BA 34

## DISCUSSÃO

O número de fragmentos gerados por cada par de iniciador individualmente e a partir da junção das combinações de iniciadores foi alto. No entanto, a quantidade de fragmentos polimórficos foi baixa quando comparada a outros estudos semelhantes que utilizaram AFLP. Por exemplo, CARDOSO *et al.* (2000) encontraram 92% de polimorfismo em populações de *Euterpe edulis*, TOMKINS *et al.* (2001) obtiveram 79% de fragmentos polimórficos em *Hemerocallis* spp. e GUO *et al.* (2005) que encontraram 97% de fragmentos polimórficos entre espécies de *Achillea*. A baixa porcentagem de fragmentos polimórficos pode indicar uma pequena quantidade de variação molecular e baixa diversidade genética entre as espécies e morfespécies de *Anemopaegma* utilizados neste estudo. Entretanto, FAY *et al.* (2005) concluíram que a utilização de iniciadores com dois nucleotídeos extras, integrantes do kit para genoma pequeno da Applied Biosystems (kit utilizado

neste estudo), pode produzir grande quantidade de fragmentos sem, no entanto, gerar uma grande quantidade de polimorfismos. Nestes casos, fragmentos de um mesmo tamanho podem ser gerados em diferentes regiões do genoma, não apresentando homologia entre si e mascarando polimorfismos que podem estar presentes entre os espécimes, já que, como estão presentes em todas as amostras, serão retirados das análises posteriores por não serem polimórficos (PINHEIRO 2005).

A obscura limitação genética das morfoespécies pode ser uma consequência da evolução reticulada que parece estar envolvida na radiação inicial do complexo *A. arvense*, através da formação de novas morfoespécies poliplóides a partir de espécies diplóides por hibridação, sugerindo um processo ainda ativo nas populações simpátricas. O acompanhamento dos processos reprodutivos das populações das morfoespécies, presentes na Reserva Ecológica do IBGE, indicou a ocorrência de um intenso fluxo gênico em populações simpátricas destas, pois apresentam a mesma época de floração, compartilham os mesmos polinizadores, são poliplóides e inter-férteis (FIRETTI-LEGGIERI Capítulos 5 e 6). As características reprodutivas apresentadas pelos membros do complexo podem sugerir uma adaptação dos mesmos para a colonização de novas áreas, como beiras de estrada e áreas sujeitas a fogos periódicos.

O agrupamento preferencial de espécies de diferentes localidades em detrimento do agrupamento das espécies por área geográfica sugere que a estruturação encontrada nas espécies e nas morfoespécies do complexo segue o modelo de ilhas, onde uma única população de tamanho indefinido poderia dar origem às populações atuais. Este mesmo modelo foi encontrado por BATISTINI (2006) em seu estudo sobre a diversidade genética de populações de *Anemopaegma arvense* do Estado de São Paulo com o uso de RAPD, que demonstrou haver uma maior variabilidade genética intra-populacional do que entre populações.

A formação de grupos da espécie diplóide *A. album*, externa ao complexo, com espécies poliplóides do complexo sugere uma origem comum das mesmas e um período curto de isolamento geográfico e reprodutivo, que seria então insuficiente para um acúmulo de caracteres genéticos

divergentes entre estas espécies. Entretanto, a divergência genética encontrada entre os espécimes de *A. album* e *A. scabriusculum* localizados na Chapada Diamantina (Mucugê-Bahia) pode ser explicada pelo isolamento reprodutivo existente entre elas devido à diferenças nos seus números cromossômicos (*A. album*  $2n = 40$  e *A. scabriusculum*  $2n = 80$ ).

Os marcadores AFLP utilizados não se mostraram eficientes para a delimitação de espécies do complexo *Anemopaegma arvense*. Isso pode ser explicado pela baixa diferenciação genética existente entre as espécies, devido à uma recente especiação a partir das espécies parentais. Além disso, o intenso fluxo gênico existente entre populações simpátricas das diversas morfoespécies que compartilham o mesmo nível de ploidia pode também ter contribuído para tal.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Anderson E. 1949.** *Introgressive Hybridization*. John Wiley, New York.
- Akesson M, Hansson B, Hasselquist D, Bensch S. 2007.** Linkage mapping of AFLP markers in a wild population of great reed warblers: importance of heterozygosity and number of genotyped individuals. *Molecular Ecology* **16**: 2189-2202.
- Angiosperm Phylogeny Group (APG) 1998.** An ordinal classification for the families of flowering plants. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **85**: 531-553.
- Angiosperm Phylogeny Group (APG) 2003.** An update of the Angiosperm for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society* **141**: 399-436.
- Barros MG. 2001.** Pollination ecology of *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. & Hook. and *T. ochracea* (Cham.) Standl. (Bignoniaceae) in Central Brazil cerrado vegetation. *Revista Brasileira de Botânica* **24**: 255-261.
- Batistini AP. 2006.** *Diversidade morfológica, genética e química de populações naturais de Anemopaegma arvense (Vell.) Steff.* Tese de Doutorado. Universidade Estadual Paulista, Jaboticabal, SP.
- Bleas MJ, Grandis SA, Lee K, Trevors JT. 1998.** Amplified fragment length polymorphisms (AFLP): a review of the procedure and its applications. *Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology* **21**: 99-114.

- Bittencourt Jr. NS. 2003.** *Auto-incompatibilidade de ação tardia e outros sistemas reprodutivos em Bignoniaceae*. Tese de Doutorado. Departamento de Biologia Vegetal. Universidade estadual de Campinas, Campinas, SP.
- Bonato ALV, Calvo ES, Geraldi IO, Arias CAA. 2006.** Genetic similarity among soybean (*Glycine max* (L.) Merrill) cultivars released in Brazil using AFLP markers. *Genetics and Molecular Biology* **29**: 692-704.
- Bureau E, Schumann K. 1896.** Bignoniaceae. In: Martius, CFP, Eichler AG. (eds.) *Flora Brasiliensis*. Vol. 8, part 2, Frid. Fleischer, Lipsiae (Leipzig), 1-451.
- Cardoso SRS, Eloy NB, Provan J, Cardoso MA, Ferreira PCG. 2000.** Genetic differentiation of *Euterpe edulis* Mart. populations estimated by AFLP analysis. *Molecular Ecology* **9**: 1753-1760.
- Chase MW, Hills HH. 1991.** Silica gel: an ideal material for field preservation of leaf samples for DNA studies. *Taxon* **40**: 215-220.
- Després L, Gielly L, Redoutet B, Taberlet P. 2003.** Using AFLP to resolve phylogenetic relationships in a morphologically diversified plant species complex when nuclear and chloroplast sequences fail to reveal variability. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **27**: 185-196.
- El-Rabey HA, Badr A, Schäfer-Pregl R, Martin W, Salamini F. 2002.** Speciation and species separation in *Hordeum* L. (Poaceae) resolved by discontinuous molecular markers. *Plant Biology* **4**: 567-575.
- Fay MF, Cowan RS, Leitch IJ. 2005.** The Effects of Nuclear DNA Content (C-value) on the Quality and Utility of AFLP Fingerprints. *Annals of Botany* **95**: 237-246.
- Ferreira MB. 1973.** Bignoniaceae do Distrito Federal – I. O Gênero *Anemopaegma* Mart. *Oréades* **4**: 28-39.
- Ferreira ME, Grattapaglia D. 1995.** *Introdução ao uso de marcadores RAPD e RFLP em análise genética*. Brasília, Embrapa-Cenargen. 220p.
- Garcia-Mas J, Oliver M, Gómez-Paniagua H, Vicente MC. 2000.** Comparing AFLP, RAPD and RFLP markers for measuring genetic diversity in melon. *Theoretical Applied of Genetics* **101**: 860-864.
- Gedebo A, Apillegren M, Bjórnsstad A, Tsegaye A. 2006.** Genetic diversity and differentiation of cultivated amochi (*Arisaema schimperianum* Schott) in Ethiopia is revealed by AFLP markers. *Hereditas* **143**: 229-235.
- Gentry AH. 1973a.** Bignoniaceae. *Flora do Panamá* **60**: 781-977.

- Gentry AH. 1973b.** Generic delimitations of Central American – Bignoniaceae. *Brittonia* **25**: 226-242.
- Gentry AH. 1974.** Coevolutionary patterns in Central American Bignoniaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **61**: 728-759.
- Gentry AH. 1980.** Bignoniaceae, Part 1 – Tribes Crescentieae and Tourrettieae. *Flora Neotropica Monographs* **25**: 1-130. New York Botanical Garden, New York.
- Gentry AH. 1988.** Changes in plant community and floristic composition environmental and geographical gradients. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **75**: 1-34.
- Giannasi N, Thorpe RS, Malhotra A. 2001.** The use of amplified fragment length polymorphism in determining species trees at fine taxonomic levels: analysis of a medically important snake, *Trimeresurus albolabris*. *Molecular Ecology* **10**: 419-426.
- Gobert V, Moja S, Colson M, Taberlet P. 2002.** Hybridization in the section *Mentha* (Lamiaceae) inferred from AFLP markers. *American Journal of Botany* **89**: 2017-2023.
- Grant V. 1971.** *Plant Speciation*. Columbia University Press, New York and London.
- Han TH, Jeu M, van Eck HJ, Jacobsen E. 2000.** Genetic diversity of Chilean and Brazilian *Alstroemeria* species assessed by AFLP analysis. *Heredity* **84**: 564-569.
- Harrison RG. 1993.** Hybrids and hybrid zones: historical perspective. In: Harrison RG. (ed.) *Hybrid zones and the Evolutionary Process*. Oxford University Press, Oxford.
- Hedrén M, Fay MF, Chase MW. 2001.** Amplified fragment length polymorphisms (AFLP) reveal details of polyploid evolution in *Dactylorhiza* (Orchidaceae). *American Journal of Botany* **88**: 1868-1880.
- Judd WS, Campbell CS, Kellogg EA, Stevens P.F. 1999.** *Plant systematics: a phylogenetic approach*. Sunderland: Sinauer Associates.
- Kardolus JP, van Eck HJ, van der Berg RG. 1998.** The potencial of AFLPs in biosystematics: a first application in *Solanum* taxonomy (Solanaceae). *Plant Systematics and Evolution* **210**: 87-103.
- Koehler S. 2007.** Relações filogenéticas e diversificação no complexo 'Maxillaria madida' (Maxillariinae: Orchidaceae). Tese de doutorado. Universidade Estadual de Campinas, UNICAMP. Campinas, SP.
- Lihová J, Marhold K, Tribsch A, Stuessy TF. 2004.** Morphometric and AFLP Re-evaluation of Tetraploid *Cardamine amara* (Brassicaceae) in the Mediterranean. *Systematic Botany* **29**: 134-146.

- Lohmann LG. 2006.** Untangling the phylogeny of Neotropical lianas (Bignoniaceae, Bignoniaceae). *American Journal of Botany* **93**: 304-318.
- Lohmann LG. no prelo.** A new generic classification of Bignoniaceae (Bignoniaceae) based on molecular phylogenetic data and morphological synapomorphies. *Annals of the Missouri Botanical Garden*.
- Masterson J. 1994.** Stomatal size in fossil plants: evidence for polyploidy in majority of angiosperms. *Science* **264**: 421-424.
- Mechanda SM, Baum BR, Johnson DA, Arnason JT. 2004.** Sequence assessment of comigrating AFLP bands in *Echinacea*-implications for comparative biological studies. *Genome* **47**: 15-25.
- Mueller UG, Wolfenbarger LL. 1999.** AFLP genotyping and fingerprinting. *Tree* **14**: 389-394.
- Pinheiro F. 2005.** Avaliação das relações intra e interespecíficas no complexo *Epidendrum secundum* e espécies afins (Orchidaceae) através de AFLP. Dissertação de Mestrado. Universidade de São Paulo, São Paulo, SP.
- Qian W, Ge S, Hong DY. 2006.** Genetic diversity in accessions of wild rice *Oryza grannulata* from south and southeast Asia. *Genetic Resources and Crop Evolution* **53**: 197-204.
- Ridout C, Donini P. 1999.** Use of AFLP in cereal research. *Trends in Plant Science* **4**: 76-79.
- Rieseberg LH. 1996.** Homology among RAPD fragments in interespecific comparisons. *Molecular Ecology* **5**: 99-103.
- Rieseberg LH. 1997.** Hybrid origins of plant species. *Annual Review Ecology and Systematics* **28**: 359-389.
- Rieseberg LH, Wendel JF. 1993.** Introgression and its consequences in plants. In: Harrison RG. (ed.). *Hybrid zones and the Evolutionary Process*. Oxford University Press, Oxford.
- Soltis PS, Soltis DE, Doyle JJ. 1992.** *Molecular systematics of plants*. New York, London: Chapman & Hall.
- Thormann CE, Ferreira ME, Camargo LEA, et al. 1994.** Comparison of RFLP and RAPD markers to estimating genetic relationships within and among cruciferous species. *Theoretical Applied Genetics* **88**: 973-980.
- Tovar-Sanchez E, Oyama K. 2004.** Natural hybridization and hybrid zones between *Quercus crassifolia* and *Quercus crassipes* (Fagaceae) in Mexico: Morphological and molecular evidence. *American Journal of Botany* **91**: 1352-1363.
- Tsukaya H, Fukuda T, Yokoyama J. 2003.** Hybridization and introgression between *Callicarpa japonica* and *C. mollis* (Verbenaceae) in central Japan, as inferred from nuclear and chloroplast DNA sequences. *Molecular Ecology* **12**: 3003-3011.

- van der Voort RJNA, van Zandvoort P, van Eck HJ, Folkertsma RT, Hutten RCB, Draaistra J, Gommers FJ, Jacobsen E, Helder J, Bakker J. 1997.** Use of allele specificity of comigrating AFLP markers to align genetic maps from different potato genotypes. *Molecular and General Genetics* **255**: 438-447.
- Vieira EA, Carvalho FIF, Bertan I, Kopp MM, Zimmer PD, Benin G, Silva JAD, Hartwig I, Malone G, Oliveira AC. 2007.** Association between genetic distances in wheat (*Triticum aestivum* L.) as estimated by AFLP and morphological markers. *Genetics and Molecular Biology* **30**: 392-399.
- Vos P, Hogers R, Bleeker M, et al. 1995.** AFLP: a new technique for DNA finger printing. *Nucleic Acids Research* **23**: 4407-4414.
- Weeks A, Simpson B. 2004.** Molecular genetic evidence for interspecific hybridization among endemic hispaniolan *Bursera* (Burseraceae). *American Journal of Botany* **9**: 976-984.
- Yonemoto Y, Chowdhury AK, Kato H, Macha MM, Okuda H. 2007.** Characterization of white sapote (*Casimiroa edulis* Llave & Lex.) germplasm using floral morphology, RAPD and AFLP markers. *Scientia Horticulturae* **112**: 366-375.
- Yoon MS, Lee J, Kim CY, Baek HJ. 2007.** Genetic relationships among cultivated and wild *Vigna angularis* (Willd.) Ohwi et Ohashi and relatives from Korea based on AFLP markers. *Genetics Resources Crop Evolution* **54**: 875-883.

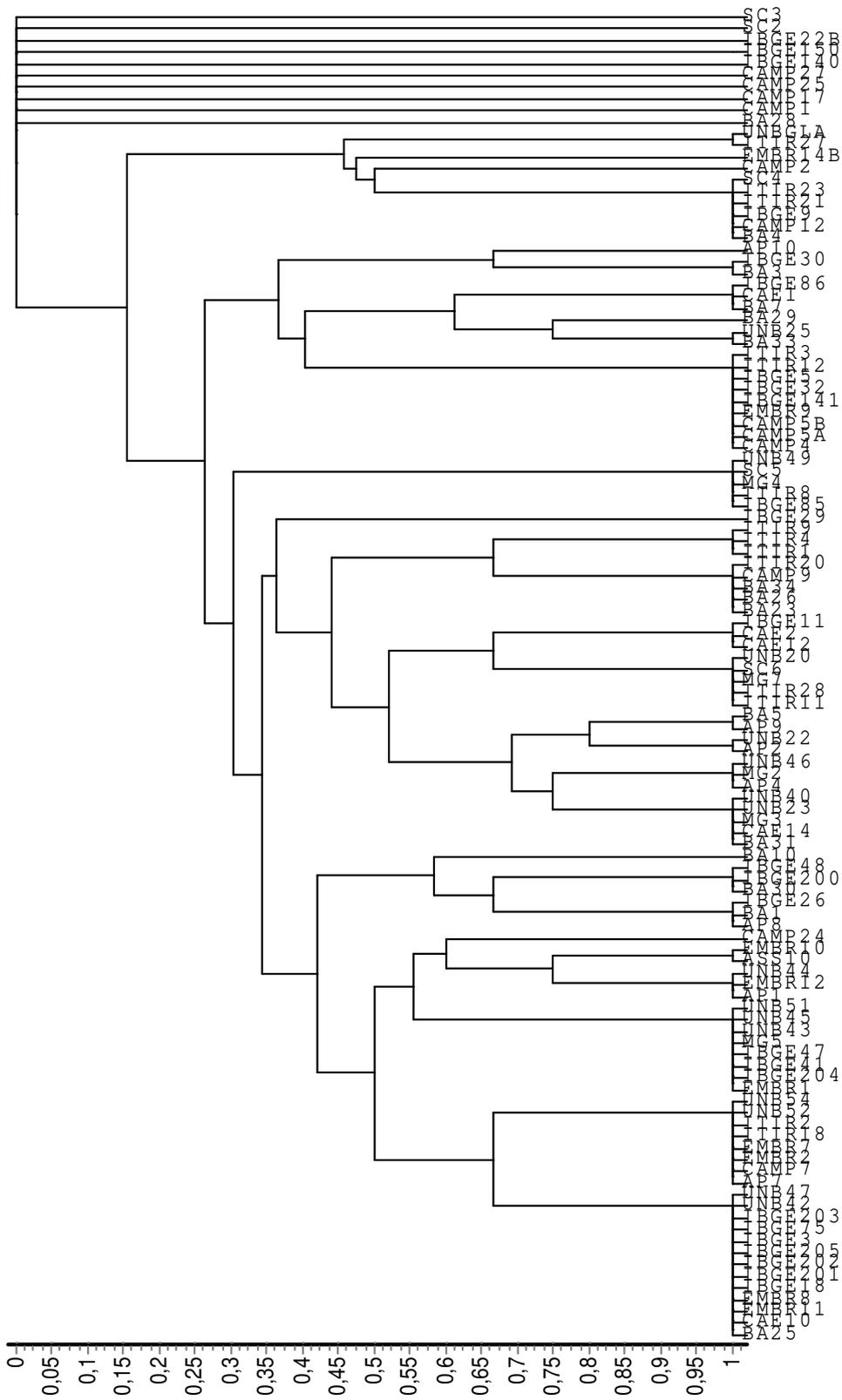
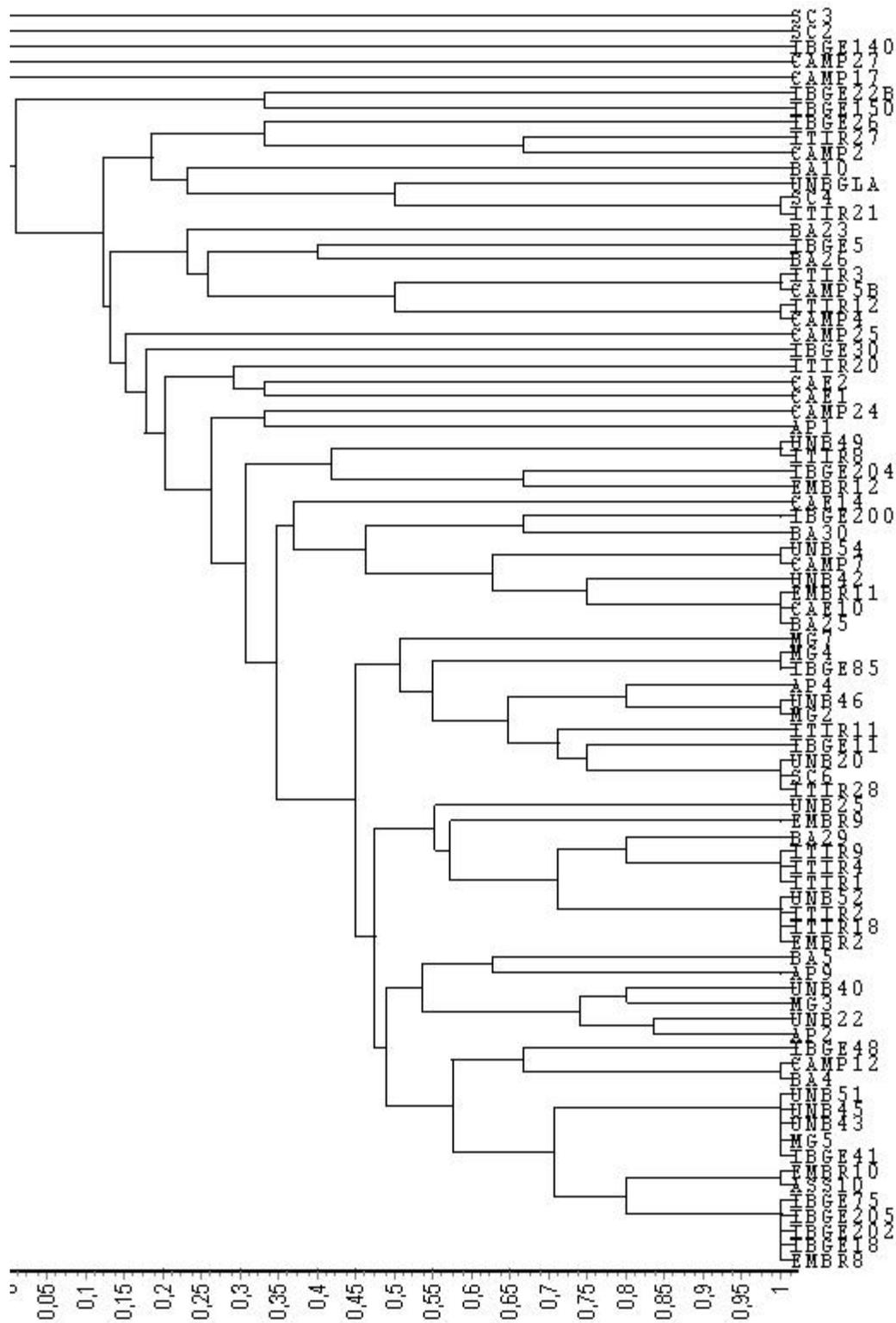
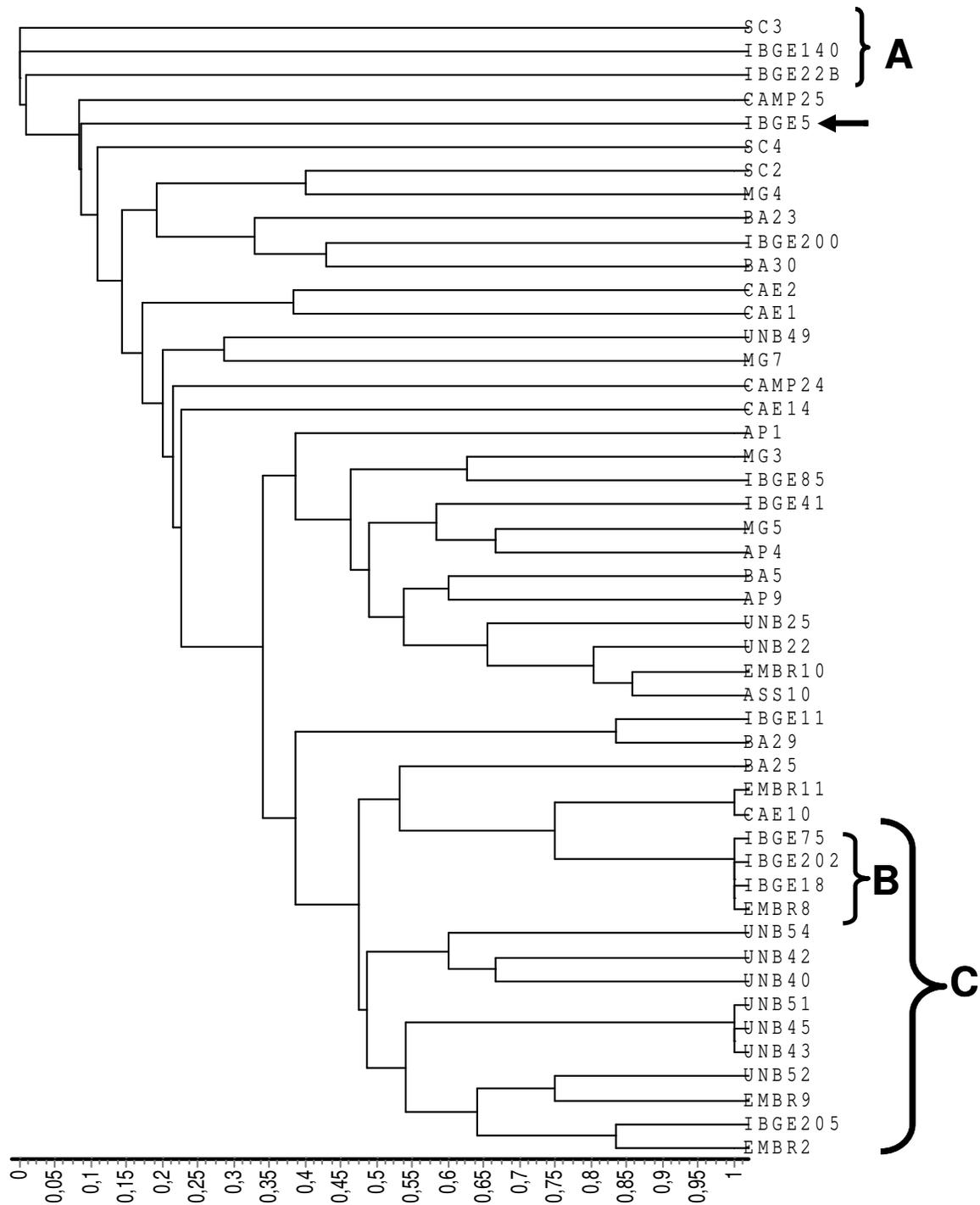


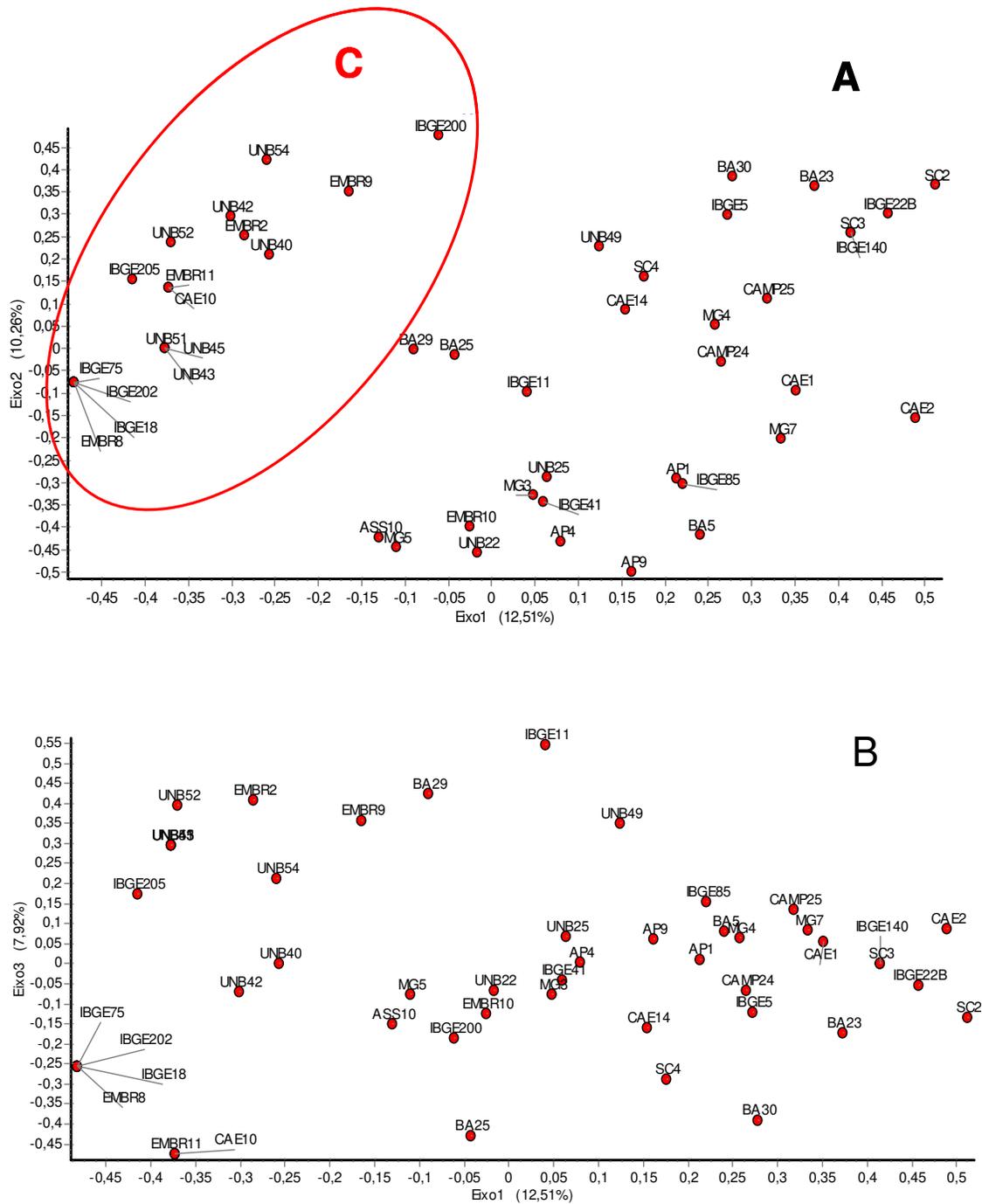
Figura 1. Dendrograma de um par de iniciadores (A3) utilizando o coeficiente de similaridade de Jaccard e o método de agrupamento UPMGA.



**Figura 2.** Dendrograma de duas combinações de iniciadores (A3-C5) utilizando o coeficiente de similaridade de Jaccard e o método de agrupamento UPGMA.



**Figura 3.** Dendrograma das três combinações de iniciadores utilizando o coeficiente de similaridade de Jaccard e o método de agrupamento UPMGA. **A.** Espécimes que ocorrem isoladas em todos os dendrogramas: SC3 = *A. acutifolium* da Serra do Cipó e dois espécimes da Reserva Ecológica do IBGE-DF, IBGE 140 = *A. glaucum* “típica” e IBGE 22B = *A. arvense* “lanceifolia pilosa”; seta indica espécime de *A. acutifolium* “sarmentosa” separado do conjunto **B** formado por espécimes do mesmo morfotipo. **C** = espécimes do Distrito Federal.



**Figura 4.** Análise de componentes principais (PCA) a partir dos dados gerados pela combinação dos três pares de iniciadores. **A.** Componentes 1º e 2º eixo. **B.** Componentes 1º e 3º eixo. **C.** Grupo formado por espécimes do Distrito Federal.

## ANEXO 1

Protocolo para extração de DNA de plantas, modificado de Ferreira & Grattapaglia (1995).

1. Pese 30-50 mg de tecido seco e macere-o, num eppendorf, utilizando um pilãozinho de plástico duro (ou bastão de vidro) através de nitrogênio líquido até o tecido se tornar um pó fino;
2. Adicione 700 µl de Solução Tampão de Extração e misture (com palito de dente esterilizado) para umedecer o tecido;
3. Encube os tubos em banho-maria a uma temperatura de 60-65 °C por 60 minutos. Durante a incubação, agite cuidadosamente os tubos a cada 20 minutos para homogeneizar a suspensão;
4. Retire os tubos do banho-maria e deixe-os esfriar por 5 minutos;
5. Extraia com solvente orgânico adicionando 600 µl de CIA (clorofórmio:álcool isoamílico 24:1). Agite os tubos em vórtex por cerca de 5 minutos ou até fazer uma emulsão homogênea;
6. Centrifugue os tubos em microcentrífuga a velocidade máxima (12.000-15.000 rpm) durante 5 minutos;
7. Retire os tubos da centrífuga cuidadosamente, evitando perturbar a interface entre as duas fases formadas. Pipete a fase superior (aquosa) para um novo tubo;
8. Repita os passos 5,6 e 7;
9. Adicione ao novo tubo 40 µl de NaOAc e 500 µl de isopropanol frio (-20 °C). Misture suavemente para precipitar os ácidos nucléicos. Leve os tubos ao freezer (-20 °C) overnight. O procedimento de extração deve ser interrompido nesta fase;
10. Centrifugue os tubos a 7.000-13.000 rpm por 5 minutos. Descartar o sobrenadante sem perder o pellet;
11. Adicionar 1 ml de etanol 70% e deixar repousar por 10 minutos. Centrifugar os tubos a 7.000-13.000 rpm por 3 minutos;
12. Descartar o sobrenadante sem perder o pellet;
13. Repetir os passos 11 e 12;
14. Adicionar 1 ml de etanol absoluto (quando houver fragmento de DNA disperso no tubo centrifugar por 3 minutos). Deixar o pellet imerso por 3 minutos. Retirar o sobrenadante com auxílio de uma pipeta. Deixe o pellet secar no ambiente.

15. Ressuspender o pellet em 50-100  $\mu$ l de água MilliQ.

## ANEXO 2

### Protocolo para AFLP

#### 1. Reação de Digestão

- 1.1. Tirar o Tampão T4 DNA ligase da geladeira 1 hora antes de utiliza-la, pois deve ser usado em temperatura ambiente. Verificar se há precipitado na solução, se sim, a solução não deve ser usada. Antes de utilizar o tampão, agité-lo vigorosamente.
- 1.2. Para cada amostra preparar o mix-enzima (as enzimas devem ser mantidas em banho de gelo):
  - Tampão T4 DNA ligase      2  $\mu$ l
  - *Mse* I                              0,25  $\mu$ l
  - *Eco* RI                                0,50  $\mu$ l
- 1.3. Para o volume final de reação de 10  $\mu$ l calcular a quantidade de amostra a ser utilizada que corresponda a uma concentração de 25 ng de DNA;
- 1.4. Programação do PCR: 37 °C por 2 horas; 70 °C por 15 minutos; 20 °C por 30 minutos (opcional); 4 °C infinito (após reação, guardar em freezer).

#### 2. Reação de Ligação

- 2.1. Para preparar o mix-ligação, calcular a quantidade de adaptadores *Mse* I Adaptador pair e *Eco* RI Adaptador pair a ser utilizada. Separar essa quantidade em tubos de PCR e proceder à desnaturação em PCR com a seguinte programação: 95 °C por 5 minutos (manter a 20 °C);
- 2.2. Para o volume final da reação de 12  $\mu$ l preparar o mix-ligação. Deixar a T4 DNA ligase em banho de gelo durante o processo. Mix-ligação:
  - Tampão T4 DNA ligase 10x      2  $\mu$ l
  - NaCl 0,5 M                              1  $\mu$ l
  - BSA 1 mg/ml                            0,5  $\mu$ l
  - *Mse* I Adapter                            1  $\mu$ l
  - *Eco* RI Adapter                            1  $\mu$ l
  - T4 DNA ligase                            1  $\mu$ l

- 2.3. Misturar 6,5 µl do mix-ligação e 5,5 µl da amostra digerida;
- 2.4. Deixar overnight a 15-20 °C (após reação, guardar em freezer) ou 2 horas a 37 °C.

### 3. Amplificação Pré-Seletiva

- 3.1. Diluir o produto da ligação 1:10 ou 1:15 em água MilliQ;
- 3.2. Em tubos para PCR 0,2 ml misturar:
- 2 µl do produto da ligação diluído;
  - 0,5 µl primers AFLP pré-seletivos;
  - 7,5 µl AFLP core mix (descongelar no gelo e spin)
- 3.3. Programação do PCR: 72 °C por 2 minutos; 30 ciclos: 94 °C por 20 segundos, 56 °C por 30 segundos, 72 °C por 2 minutos; 60 °C por 30 minutos; 4 °C infinito;
- 3.4. Verificar o resultado em gel de agarose 1,5% em tampão TBE 1x (com ladder 100 pb) (35-40 V; ± 4 µl);
- 3.5. Estocar o produto pré-seletivo em freezer até a utilização.

### 4. Amplificação Seletiva

- 4.1. Diluir o produto da seletiva 1:10 ou 1:15 em água MilliQ;
- 4.2. Em tubos para PCR 0,2 ml misturar:
- 7,5 µl core mix
  - 0,5 µl primers *Mse* I a 5 µM
  - 0,5 µl primers *Eco* RI a 1 µM
  - 1,5 µl do produto da pré-seletiva diluído
- 4.3. Fazer um tubo para cada combinação desejada;
- 4.4. Programação do PCR: 94 °C por 2 minutos, 10 ciclos; 94 °C por 20 segundos, 66 °C por 30 segundos com redução de 1 °/ segundo, 72 °C por 2 minutos; 20 ciclos; 94 °C por 20 segundos, 56 °C por 30 segundos, 72 °C por 2 minutos, 60 °C por 30 minutos; 4 °C infinito.

### 5. Análise no ABI Prism 310

- 5.1. Misturar (homogeneizar bem para não formar duas fases):
- 11 µl de formaminda

- 0,5  $\mu$ l de GeneScan 500 (rox)
- 1,5  $\mu$ l da amostra

5.2. Aquecer 95 °C por 5 minutos e colocar imediatamente em banho de gelo;

5.3. Levar ao equipamento ou deixar em temperatura ambiente até a leitura (máximo uma semana).

### ANEXO 3

#### *Anemopaegma acutifolium* “típica”

**BRASIL. DISTRITO FEDERAL: Brasília**, VIII.2007, *F. Firetti et al.* 74 (UEC). VIII.2007, *F. Firetti et al.* 87 (UEC). VIII.2007, *F. Firetti et al.* 88 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 113 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 136 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 147 (UEC). **MINAS GERAIS: Prata**, IX. 2006, *F. Firetti et al.* 43 (UEC). IX. 2006, *F. Firetti et al.* 44 (UEC). IX. 2006, *F. Firetti et al.* 46 (UEC); **SÃO PAULO: Mogi Guaçu**, VIII.2005, *F. Firetti et al.* 01 (UEC); Mogi Guaçu, IX.2007, *F. Firetti et al.* 128 (UEC).

#### *Anemopaegma acutifolium* “sarmentoso”

**BRASIL: DISTRITO FEDERAL: Brasília**, X.2006, *F. Firetti et al.* 54 (UEC). X.2006, *F. Firetti et al.* 55 (UEC). VIII.2007, *F. Firetti et al.* 72 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 149 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 150 (UEC).

#### *Anemopaegma acutifolium* “touceira”

**BRASIL: SÃO PAULO: Itirapina**, XII.2006, *F. Firetti et al.* 59 (UEC). XII.2006, *F. Firetti et al.* 60 (UEC). Itirapina, XII.2006, *F. Firetti et al.* 61 (UEC). XII.2006, *F. Firetti et al.* 62 (UEC). XII.2006, *F. Firetti et al.* 63 (UEC). XII.2006, *F. Firetti et al.* 64 (UEC). XII.2006, *F. Firetti et al.* 65 (UEC). XII.2006, *F. Firetti et al.* 66 (UEC). XII.2006, *F. Firetti et al.* 67 (UEC).

#### *Anemopaegma album*

**BRASIL. BAHIA: Mucugê**, VII, 2006, *F. Firetti et al.* 39 (UEC). V.2007, *F. Firetti et al.* 108 (UEC). V.2007, *F. Firetti et al.* 109 (UEC). V.2007, *F. Firetti et al.* 110 (UEC). V.2007, *F. Firetti et al.* 111 (UEC).

*Anemopaegma arvense* “típica”

**BRASIL: DISTRITO FEDERAL: Brasília**, VIII.2007, *F. Firetti et al.* 78 (UEC). VIII.2007, *F. Firetti et al.* 79 (UEC). VIII.2007, *F. Firetti et al.* 80 (UEC). VIII.2007, *F. Firetti et al.* 81 (UEC). VIII.2007, *F. Firetti et al.* 82 (UEC). VIII.2007, *F. Firetti et al.* 86 (UEC). **GOIÁS: Alto Paraíso**, VII, 2006, *F. Firetti et al.* 33 (UEC). **MINAS GERAIS: Prata**, IX, 2006, *F. Firetti et al.* 45 (UEC). IX, 2006, *F. Firetti et al.* 47 (UEC). IX, 2006, *F. Firetti et al.* 48 (UEC). **SÃO PAULO: Assis**, II.2006, *F. Firetti et al.* 25 (UEC). II.2006, *F. Firetti et al.* 26 (UEC). **Mogi Guaçu**, IX.2007, *F. Firetti et al.* 129 (UEC).

*Anemopaegma arvense* “lanceifolia”

**BRASIL. DISTRITO FEDERAL: Brasília**, IX.2006, *F. Firetti et al.* 49 (UEC). IX.2006, *F. Firetti et al.* 50 (UEC). X.2006, *F. Firetti et al.* 53 (UEC). X.2006, *F. Firetti et al.* 71 (UEC). VIII.2007, *F. Firetti et al.* 83 (UEC). VIII.2007, *F. Firetti et al.* 84 (UEC). VIII.2007, *F. Firetti et al.* 85 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 133 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 134 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 135 (UEC).

*Anemopaegma glaucum* “típica”

**BRASIL. BAHIA: Luís Eduardo Magalhães**, VII.2006, *F. Firetti et al.* 34 (UEC). VII.2006, *F. Firetti et al.* 35 (UEC). V.2007, *F. Firetti et al.* 112 (UEC). **DISTRITO FEDERAL: Brasília**, IX.2006, *F. Firetti et al.* 51 (UEC). X.2006, *F. Firetti et al.* 57 (UEC). X.2006, *F. Firetti et al.* 58 (UEC). VIII.2007, *F. Firetti et al.* 76 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 130 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 132 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 138 (UEC). VIII.2007, *F. Firetti et al.* 139 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 157 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 158 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 160 (UEC).

*Anemopaegma glaucum* “não glauca”

**BRASIL. DISTRITO FEDERAL : Brasília**, X.2007, *F. Firetti et al.* 114 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 115 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 116 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 117 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 118 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 120 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.*

123 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 131 (UEC). VIII.2007, *F. Firetti et al.* 140 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 141 (UEC) X.2007, *F. Firetti et al.* 142 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 143 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 145 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 146 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 148 (UEC) X.2007, *F. Firetti et al.* 151 (UEC). **MINAS GERAIS: Prata**, VIII.2007, *F. Firetti et al.* 68 (UEC); VIII.2007, *F. Firetti et al.* 69 (UEC). VIII.2007, *F. Firetti et al.* 70 (UEC). **SÃO PAULO: Assis**, II. 2006, *F. Firetti et al.* 19 (UEC). II. 2006, *F. Firetti et al.* 21 *et al.* (UEC). II. 2006, *F. Firetti et al.* 22 *et al.* (UEC). II.2006, *F. Firetti et al.* 27 (UEC).

*Anemopaegma glaucum* “pubescente”

**BRASIL: DISTRITO FEDERAL: Brasília**, X.2006, *F. Firetti et al.* 56 (UEC). VIII.2007, *F. Firetti et al.* 73 (UEC). VIII.2007, *F. Firetti et al.* 75 (UEC). VIII.2007, *F. Firetti et al.* 77 (UEC). VIII.2007, *F. Firetti et al.* 119 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 121 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 122 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 124 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 137 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 144 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 152 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 153 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 154 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 155 (UEC). X.2007, *F. Firetti et al.* 156 (UEC) X.2007, *F. Firetti et al.* 159 (UEC).

*Anemopaegma glaucum* “triplinérvea”

**BRASIL. DISTRITO FEDERAL: Brasília**, IX.2006, *F. Firetti & C.P. Firetti* 52 (UEC). X. 2007, *F. Firetti & C.P. Firetti* 130 (UEC). X. 2007, *F. Firetti & C.P. Firetti* 138 (UEC). X. 2007, *F. Firetti & C.P. Firetti* 139 (UEC). **GOIÁS: Alto Paraíso**, VII, 2006, *F. Firetti et al.* 30 (UEC). VII, 2006, *F. Firetti et al.* 31 (UEC).

*Anemopaegma scabriusculum* Mart. ex DC.

**BRASIL. BAHIA: Luís Eduardo Magalhães**, V.2007, *F. Firetti et al.* 97 (UEC). V.2007, *F. Firetti et al.* 98 (UEC). V.2007, *F. Firetti et al.* 99 (UEC). V.2007, *F. Firetti et al.* 100 (UEC). V.2007, *F. Firetti et al.* 101 (UEC). V.2007, *F. Firetti et al.* 102 (UEC). V.2007, *F. Firetti et al.* 103 (UEC). V.2007, *F. Firetti et al.* 104 (UEC). **Mucugê**, VII, 2006, *F. Firetti et al.* 41 (UEC). VII, 2006, *F. Firetti et al.* 42 (UEC). V.2007, *F. Firetti et al.* 89 (UEC). V.2007, *F. Firetti et al.* 90 (UEC). V.2007, *F. Firetti et al.* 91 (UEC). V.2007, *F. Firetti et al.* 92 (UEC). V.2007,

*F.Firetti et al. 93 (UEC). V.2007, F.Firetti et al. 94 (UEC). V.2007, F.Firetti et al. 95 (UEC). V.2007, F.Firetti et al. 96 (UEC). V.2007, F.Firetti et al. 105 (UEC). V.2007, F.Firetti et al. 106 (UEC). V.2007, F.Firetti et al. 107 (UEC).*

# CAPÍTULO 5

**Fenologia das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*  
(Vell.) Steff. ex de Souza (Bignoniaceae, Bignonieae)**

## RESUMO

Os eventos fenológicos, vegetativos e reprodutivos das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* foram determinados através de dados de herbário, literatura e dados obtidos em campo. Observações frequentes destes eventos foram realizadas na Reserva Ecológica do IBGE (RECOR-IBGE) (15°56'41"S 47°53'07"W), Brasília, DF, no período de agosto de 2005 a agosto de 2006 em populações de *A. acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum*. Observações adicionais foram feitas em área de cerrado antropizado da Universidade de Brasília (UnB) (15°45'57"S 47°57'22"W), após esta ser queimada em julho de 2007. As espécies apresentaram dois comportamentos distintos quanto ao crescimento vegetativo. *Anemopaegma scabriusculum* possui crescimento indeterminado dos ramos, enquanto que nas demais espécies, ocorre a morte dos ramos após o término dos ciclos reprodutivos (floração e frutificação). A floração em nível populacional de *A. glaucum* foi registrada durante todo o ano de observação. Em contraste, os indivíduos de *A. acutifolium* floresceram na estação seca e na transição da estação seca para a úmida, coincidindo com os meses de menor pluviosidade. A floração de *A. arvense* não foi contínua, porém ocorreu tanto no período mais seco do ano (junho a outubro) quanto no mês de maior pluviosidade (março). Em condições naturais, indivíduos das três espécies floresceram assincronicamente, porém apresentaram um pico de atividade e de intensidade de floração no final da estação seca. Após a queimada ocorrida em julho de 2007, os indivíduos de *A. arvense* e *A. glaucum* floresceram de forma sincrônica e intensa. Os indivíduos de tais espécies apresentaram evento anual de floração, enquanto que em *A. scabriusculum* foram registrados indivíduos florescendo duas a três vezes ao ano. A disponibilidade de flores é feita de forma gradativa, sendo produzidas, no máximo, três flores por dia em cada inflorescência. A frutificação, em nível de espécie e de população, mostrou-se contínua, sendo encontrados indivíduos com fruto, em algum estágio de desenvolvimento, em todos os meses do ano. Os indivíduos de *A. acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum* apresentaram frutificação anual, com um período longo de desenvolvimento dos frutos, que alcançou doze meses, em casos mais extremos. Em condições naturais, os frutos de um mesmo indivíduo maturam paulatinamente e de maneira assincrônica e dispersam duas sementes nos meses mais secos do ano. Entretanto, todos os frutos maduros de *A. arvense* e *A. glaucum* liberaram suas sementes sincronicamente poucos dias após a passagem do fogo. De acordo com a duração, a sincronia entre os indivíduos e a disponibilidade diária de flores e as estratégias de floração das espécies de *Anemopaegma* aqui estudadas foram caracterizadas como o padrão "steady state" modificado. Ao contrário do observado nas espécies de Bignoniaceae da

América Central, as espécies simpátricas de *Anemopaegma* floresceram no mesmo período. Deste modo, a fenologia de floração não pode ser considerada uma barreira pré-zigótica eficiente para impedir o fluxo gênico entre tais espécies. O fogo foi um elemento promotor da floração e da dispersão de sementes nas espécies *A. arvense* e *A. glaucum*.

**Palavras-chave:** *Anemopaegma*, Bignoniaceae, fenologia, floração, frutificação.

## INTRODUÇÃO

Fenologia é definida por LIETH (1974) como o estudo da ocorrência de eventos biológicos recorrentes, a influência de fatores bióticos e abióticos nestes eventos e a relação das diferentes fenofases entre indivíduos da mesma espécie ou entre espécies distintas. É reconhecidamente uma das linhas de pesquisa mais importantes em ecologia, sendo considerada um dos principais parâmetros para a caracterização de ecossistemas (LIETH 1974; MONASTERIO & SARMIENTO 1976). As observações dos eventos fenológicos realizadas de forma sistemática auxilia no entendimento da dinâmica do ciclo de vida de uma determinada espécie bem como das comunidades vegetais. Em nível de espécie, os estudos fenológicos proporcionam o conhecimento sobre estabelecimento, período de crescimento e reprodução, e disponibilidade de recursos para os polinizadores e dispersores (FRANKIE *et al.* 1974). Na prática, as informações geradas por tais estudos proporcionam o direcionamento de esforços para a realização de trabalhos de campo, como nos estudos de biologia reprodutiva ou de coleta de sementes por produtores de mudas de espécies nativas (OLIVEIRA & PAULA 2001).

A fenologia das espécies vegetais de formações savânicas, como o Cerrado brasileiro, tem sido abordada por vários autores que enfocam diferentes aspectos do ciclo de vida das plantas e da dinâmica de comunidades vegetais (MONASTERIO & SARMIENTO 1976; SARMIENTO & MONASTERIO 1983; MANTOVANI & MARTINS 1988; MIRANDA 1995; OLIVEIRA 1998; BATALHA & MANTOVANI 2000; BULHÃO & FIGUEIREDO 2002; RIVERA *et al.* 2002; MCLAREN & MCDOLNARD 2005; MUNHOZ & FELFILI 2005). Tais estudos mostram que nas espécies do Cerrado, assim como as de outras formações savânicas, o crescimento vegetativo e os eventos reprodutivos são periódicos e sazonais. A sazonalidade das diversas fenofases pode representar uma adaptação a fatores abióticos como pluviosidade, temperatura e comprimento do dia (MONASTERIO & SARMIENTO 1976; MORELLATO *et al.* 1989, 2000; RIVERA *et al.* 2002),

aos fatores bióticos como polinizadores e dispersores (BAWA 1983; RATHCKE & LACEY 1985) ou são determinados geneticamente (MARTIN *et al.* 2007). De acordo com WILLIAMS *et al.* (1997), os padrões temporais de crescimento e de reprodução das espécies das savanas tropicais estão diretamente ligados à sazonalidade climática. Essa relação entre padrões fenológicos das espécies de cerrado e sazonalidade foi apontada pela primeira vez por WARMING (1892 *apud* MONASTERIO & SARMIENTO 1976).

Estudos sobre a fenologia de Bignoniaceae têm abordado tanto o comportamento reprodutivo de uma única espécie (BITTENCOURT Jr. 2003 várias espécies), como os aspectos do crescimento vegetativo e das estratégias reprodutivas de espécies congênicas, simpátricas e de mesmo hábito ou de gêneros e hábitos distintos (GENTRY 1974a, b, 1976; MORELLATO 1991; AMARAL 1992; BARROS 2001). O trabalho mais abrangente sobre estratégias de floração para esta família foi realizado por GENTRY (1974a, b, 1976). A partir de observações sobre os padrões de floração apresentados pelas espécies de Bignoniaceae da América Central, o autor classificou as diversas estratégias em cinco principais tipos de acordo com a duração, o número de flores produzidas por dia e o tipo de polinizador associado. O tipo denominado cornucópia foi o mais comumente encontrado por GENTRY, sendo considerado pelo autor uma condição ancestral de estratégia de floração na família (GENTRY 1974a). Segundo GENTRY (1974a, b), as diferentes estratégias de floração apresentadas pelas espécies de Bignoniaceae do Panamá e da Costa Rica caracterizam um importante isolamento reprodutivo entre tais espécies e um mecanismo para a manutenção de uma alta diversidade das comunidades vegetais tropicais, já que as espécies simpátricas, com morfologia floral semelhante e que utilizam a mesma guilda de polinizadores disponibilizam suas flores de diferentes formas e em épocas distintas (GOTTSBERGER 1986).

Apesar da grande disponibilidade de trabalhos referentes aos aspectos fenológicos de espécies tropicais e de Bignoniaceae, raros destes quantificam tais eventos em nível de população ou de espécie (AUGSPURGER 1983). A quantificação dos eventos reprodutivos é um aspecto

importante a ser considerado principalmente em nível de comunidade, pois pode predizer a oferta de recursos aos polinizadores e dispersores ao longo do ano.

O presente trabalho teve como objetivo analisar as estratégias fenológicas apresentadas pelas espécies do complexo *Anemopaegma arvense* através da determinação de seus períodos de floração e frutificação ao longo da distribuição geográfica destas e, em nível populacional e individual a partir das observações de campo, assim como verificar o efeito do fogo na regeneração e reprodução das espécies localizadas em áreas de cerrado sujeitas à passagem regular do fogo.

## MATERIAL E MÉTODOS

O estudo de campo foi desenvolvido na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF (15°56'41"S 47°53'07"W), em áreas de cerrado *sensu stricto* preservado (dentro da Reserva) e em áreas de cerrado antropizado (próximo à DF-001, limite entre IBGE e rodovia). A Reserva está localizada cerca de 30 Km da região central de Brasília. O clima da região é do tipo Aw, segundo a classificação de Köppen e caracteriza-se por duas estações bem definidas: uma quente e chuvosa, de outubro a abril e outra fria e seca, de maio a setembro. A temperatura média máxima é de 28,5 °C e a média mínima é de 12 °C.

Além da Reserva Ecológica do IBGE, considerada neste estudo a área principal das observações dos eventos fenológicos, uma área de cerrado pertencente à Universidade de Brasília (UnB) (15°45'57"S 47°57'22"W), Brasília, DF, foi utilizada para observações fenológicas após a ocorrência de fogo.

O acompanhamento fenológico foi realizado durante um ano, de agosto de 2005 a agosto de 2006, sendo feitas de uma a cinco observações por mês. Neste período foram acompanhados os

eventos fenológicos de 32, 13 e 22 indivíduos das espécies *Anemopaegma acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum*, respectivamente, tendo sido consideradas as seguintes fenofases: brotamento (surgimento de ramos e folhas novas), floração (de botão até final da antese) e frutificação (de início do desenvolvimento até a dispersão).

Além das observações de campo, dados complementares dos períodos de floração e frutificação das espécies do complexo foram obtidos através de informações contidas em 551 exsicatas pertencentes aos seguintes herbários: BHCN, CEN, CESJ, HEPH, HRCB, IBGE, INPA, SP, SPF, UB, UEC, UFMT, UFU, VIC. A fenologia reprodutiva de *A. scabriusculum*, espécie do complexo que não ocorre na região onde foram realizadas as observações de campo, foi obtida somente através de dados de herbário. A obtenção de informações fenológicas através de material herborizado é comumente utilizada e serve tanto como ponto de partida para outros estudos de campo como para orientação de coletas de material fértil por taxonomistas ou de sementes por produtores de mudas de espécies nativas (OLIVEIRA & PAULA 2001).

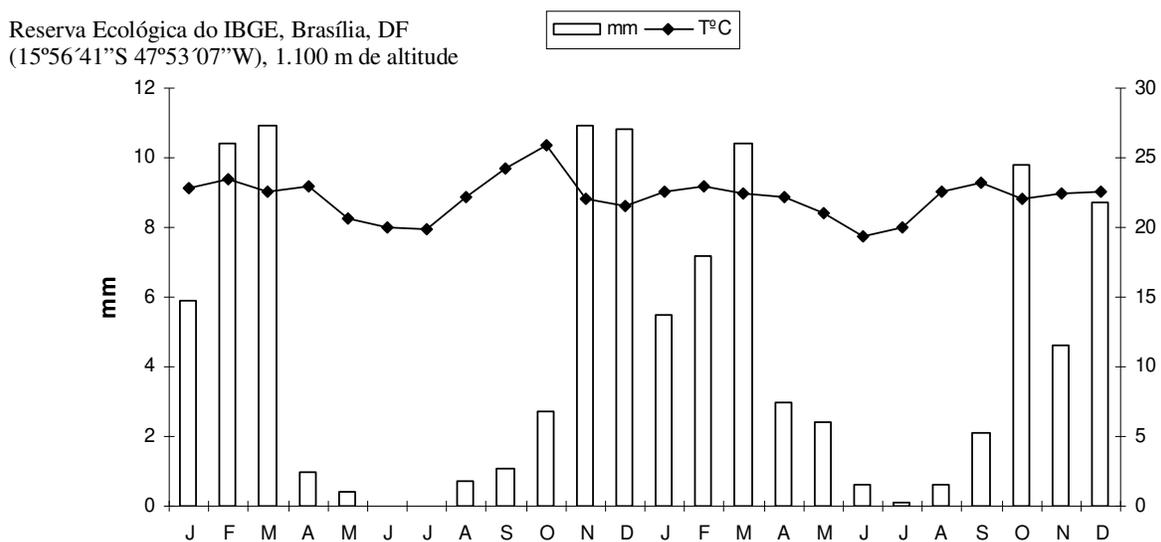
A partir dos dados obtidos e seguindo o trabalho de BENCKE & MORELLATO (2002), foram utilizados os seguintes métodos de análise: (1) **Índice de intensidade (Escala de mensuração direta)**: diferente de BENCKE & MORELLATO (2002) que utilizaram o percentual de intensidade de Fournier, neste trabalho o índice de intensidade reprodutivo foi obtido através da contagem de todas as flores nas fases de botão floral, flores abertas jovens e flores velhas, e de todos os frutos presentes em cada indivíduo analisado; (2) **Índice de atividade**: nesta análise considerou-se somente presença ou ausência de determinada fenofase em cada indivíduo; para esta avaliação foram utilizadas informações de campo e também as obtidas a partir de material de herbário. A aplicação desses dois métodos de avaliação permite a utilização de diferentes fontes de informação e proporciona um conhecimento mais completo dos eventos fenológicos das espécies. O índice de atividade pode ser obtido através de informações de campo e de exsicatas, sendo geralmente utilizado para uma avaliação prévia da fenologia de determinada espécie como suporte para

posteriores trabalhos de campo e indica sincronismo dos indivíduos de uma população. Já o índice de intensidade mostra quando uma determinada fenofase ocorre mais intensamente numa determinada população (BENCKE & MORELLATO 2002).

## RESULTADOS

### Clima

A partir da Figura 1 observa-se que, nos anos de 2005 e 2006, o período mais seco de cada ano se concentrou nos meses de junho e julho, entretanto, a baixa pluviosidade abrangeu os meses de abril a setembro. Os meses notadamente mais secos também apresentaram as menores temperaturas médias do ano. O total de precipitação foi de 1.651,8 mm em 2005 e de 1.667 mm em 2006. A média anual da temperatura média de 2005 foi 22,4 °C e de 21,9 °C em 2006.



**Figura 1.** Variação da pluviosidade e da temperatura média ao longo do período de estudo (anos 2005-2006). Dados obtidos da Estação Meteorológica da Reserva Ecológica do IBGE (RECOR/IBGE) localizada em Brasília, DF.

## **Brotamento**

As espécies do complexo *Anemopaegma arvense* apresentaram dois comportamentos distintos quanto ao crescimento vegetativo. *Anemopaegma acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum* apresentaram crescimento determinado dos ramos com a morte destes após a floração e a frutificação. Já em *A. scabriusculum* notou-se um crescimento indeterminado dos ramos, com crescimento deste e formação de folhas novas na parte apical, geralmente acima da região contendo frutos em desenvolvimento.

O brotamento de ramos e folhas novas em *A. acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum*, foi registrado tanto no período chuvoso do ano, nos meses de março e abril como também no período seco, de maio a agosto. Em duas observações realizadas em populações de *A. scabriusculum* (julho/2006 e maio/2007), observou-se a produção de folhas novas juntamente com as fases reprodutivas, principalmente com a frutificação.

Indivíduos de *Anemopaegma arvense* e *A. glaucum* presentes em áreas de cerrado antropizado, lançaram ramos novos em um período de quinze dias a um mês após a passagem do fogo (Figura 7). Esses indivíduos ramificaram de forma profusa e sincrônica quando comparados aos indivíduos localizados em áreas livres da ação do fogo, sendo observada inclusive uma modificação na arquitetura de tais plantas (Figuras 2-6). Comportamento semelhante foi observado em indivíduos destas espécies que tiveram toda a parte aérea eliminada após o aceiro realizado em certas áreas de cerrado.

## **Floração**

O período de floração das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* foi verificado a partir dos dados de herbário pelo qual foi possível obter uma visão geral deste evento fenológico através da distribuição geográfica das espécies e, a partir de observações de campo para *A.*

*acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum* onde o período de floração considerado abrange desde o momento em que os botões florais são passíveis de visualização (a olho nu) e de contagem até a senescência das flores, momento em que estas perdem a corola.

#### *Anemopaegma acutifolium* DC.

A Tabela 1 e a Figura 8 mostram, a partir de dados obtidos de material herborizado, o período de floração de *Anemopaegma acutifolium* ao longo da distribuição geográfica e o índice de atividade para esta dada fenofase, respectivamente. A partir da Tabela 1 nota-se que indivíduos de *A. acutifolium* em flor podem ser encontrados durante todo o ano ao longo da distribuição geográfica. Porém, o índice de atividade de floração, isto é, o número de indivíduos em flor em determinado mês, revela que há um predomínio de indivíduos florescendo nos meses de setembro e outubro.

Os resultados de campo obtidos para a população de *Anemopaegma acutifolium* localizada na Reserva Ecológica do IBGE (RECOR/IBGE) são mostrados nas Figuras 9-13. Na Figura 9, que mostra o índice de atividade da população em cada fenofase, pode-se notar que o florescimento dos indivíduos da população é assincrônico, sendo registrado em cada observação indivíduos em diferentes estágios fenológicos. Apesar da notada assincronia, foi verificado um maior número de indivíduos em flor nos meses de setembro e outubro, final da estação seca e início da chuvosa no Distrito Federal (Figura 1). A Figura 10 refere-se à porcentagem de indivíduos em flor ao longo do ano. A partir do observado, nota-se que a floração de *A. acutifolium* não é dependente da alta pluviosidade, já que esta espécie apresenta o início e o pico da floração nos meses mais secos do ano. O índice de intensidade de floração, isto é, o total de botões florais e flores encontrados nos indivíduos em cada observação, demonstrado na Figura 11, revela que a população de *A. acutifolium* floresceu de agosto a novembro e apresentou um pico desta fenofase no final de setembro e início de

outubro, portanto coincidindo com o pico de atividade de floração desta população mostrado na Figura 10.

As Figuras 12 e 13 mostram as fenofases de um único indivíduo da população de *Anemopaegma acutifolium*. A partir da Figura 12 nota-se que os indivíduos desta espécie, representados na Figura pelo indivíduo número 10, florescem uma única vez ao longo do ano e, esta fenofase se concentra entre final de agosto e início de outubro. A floração de cada indivíduo ocorre durante quatro a cinco semanas, sendo neste período disponibilizadas de uma a três flores jovens (com recursos) ao dia por cada inflorescência.

#### *Anemopaegma arvense* (Vell) Stellf. ex de Souza

Os resultados da fenologia reprodutiva de *Anemopaegma arvense*, obtidos através de material herborizado, estão apresentados na Tabela 2 e na Figura 14. Nota-se que a floração da espécie ocorre em todos os meses do ano ao longo de sua distribuição geográfica. Em regiões onde o esforço de coleta foi maior, como nos cerrados do Distrito Federal (DF), a espécie mostrou uma floração quase contínua, não sendo registrados indivíduos em flor somente nos meses de fevereiro e dezembro. O índice de atividade apresentado na Figura 14 revela que apesar da ocorrência de indivíduos de *A. arvense* em flor na maioria dos meses em que houve coleta, a espécie apresenta um pico desta fenofase nos meses de setembro e outubro.

Os resultados de campo obtidos para população de *Anemopaegma arvense* do Distrito Federal estão representados nas Figuras 15-19. Na Figura 15, observa-se indivíduos em diferentes fenofases, caracterizando assincronia entre os indivíduos da população estudada. A população de *A. arvense* apresentou maior porcentagem de indivíduos em flor nos meses de agosto a outubro, que correspondem ao final da estação seca e início da chuvosa no DF e em março, um dos meses de maior precipitação em 2006 (Figura 16). O pico de floração da população de *A. arvense* foi

verificado no mês de setembro de 2005. Porém, a produção de botões florais e de flores foi registrada também no mês de agosto dos dois anos e entre fevereiro e abril de 2006 (Figura 17).

A floração do indivíduo 24 de *A. arvense*, escolhido para representar a dinâmica de floração dos indivíduos da espécie, é anual e possui uma duração de três semanas a um mês (Figuras 18-19). Após a queimada ocorrida em julho de 2007 no cerrado da UnB, os indivíduos de *A. arvense* presentes naquele local floresceram copiosamente (Figura 3) e de forma sincrônica.

#### *Anemopaegma glaucum* Mart. ex DC.

A Tabela 3 e a Figura 20 mostram os eventos reprodutivos de *Anemopaegma glaucum* adquiridos através de dados de herbário. Na Tabela 3 nota-se a ocorrência de floração em quase todos os meses do ano, exceto em dezembro e janeiro. A Figura 20, que corresponde à atividade reprodutiva da espécie ao longo da distribuição geográfica, mostra um pico de floração em outubro, ou seja, mês do ano em que houve maior número de indivíduos coletados em flor.

Os resultados de floração da população de *Anemopaegma glaucum* localizada na Reserva Ecológica do IBGE (RECOR/IBGE) estão representados nas Figuras 21-25. As Figuras 21-23 mostram que o evento de floração foi contínuo ao longo de um ano, havendo registros de indivíduos em flor em todos os meses. Apesar da notada floração contínua em nível populacional, observa-se também uma intensa assincronia desta fenofase entre os indivíduos. Entretanto, foi observado um aumento no número de indivíduos em flor e consequente diminuição da assincronia nos meses de setembro e outubro (Figuras 21-22).

A maioria dos indivíduos apresentou floração anual (Figura 24), sendo registrados somente dois indivíduos com floração subanual. A duração da floração foi de um a dois meses em indivíduos com um único evento de floração (Figura 25) e de cerca de duas semanas em indivíduos com dois

eventos de floração no mesmo. Como observado na Figura 25, a produção de flores jovens (com recursos) por dia é pequena, sendo que cada inflorescência abre de uma a três flores por dia.

Assim como verificado em *Anemopaegma arvense*, os indivíduos de *A. glaucum* que tiveram a perda de sua parte aérea pela ação do fogo floresceram sincronicamente e apresentaram uma abundante produção de flores novas por dia.

#### *Anemopaegma scabriusculum* Mart. ex DC.

A fenologia reprodutiva de *Anemopaegma scabriusculum* foi verificada através de informações de herbário e os resultados encontram-se compilados na Tabela 4 e na Figura 26. A partir da Tabela 4 verifica-se uma floração praticamente contínua da espécie, condição demonstrada nos espécimes coletados no estado da Bahia. Apesar da presença de indivíduos em flor ao longo do ano, o pico de atividade de floração da espécie foi verificado no mês de maio.

Apesar de não ter sido realizada uma observação sistemática anual dos eventos fenológicos desta espécie, a dinâmica de abertura das flores pelos indivíduos de uma população de *A. scabriusculum* localizada na Chapada Diamantina foi acompanhada durante uma semana em julho de 2006 e durante quinze dias em maio de 2007. A partir destas observações verificou-se que há abertura de uma a três flores por dia em cada inflorescência.

#### *Floração das populações simpátricas das espécies do complexo Anemopaegma arvense*

O índice de atividade e o índice de intensidade de floração para as populações de *Anemopaegma acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum* presentes na Reserva Ecológica do IBGE (RECOR/IBGE) estão representados nas Figuras 27 e 28, respectivamente. A compilação destes parâmetros de quantificação da floração revela a disponibilidade de flor, ou seja, de recursos florais aos polinizadores o ano todo. A continuidade da floração ao longo do ano deve-se principalmente à

população de *A. glaucum*, que apresentou indivíduos florescendo profusamente em todos os meses, especialmente nos meses mais úmidos, período em que indivíduos das demais espécies não floresceram ou disponibilizaram poucas flores. O pico de floração, independente do índice utilizado, ocorre ao longo do mês de setembro, final da estação seca.

## **Frutificação**

O período de frutificação das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* foi verificado através de informações de material herborizado e a partir de observações de campo para *Anemopaegma acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum*. O acompanhamento dos frutos foi feito desde a formação (quando do intumescimento do ovário) até a deiscência destes.

### *Anemopaegma acutifolium* DC.

A partir dos dados obtidos de material herborizado, mostrados na Tabela 1 e na Figura 8, verifica-se que espécimes em fruto de *Anemopaegma acutifolium* podem ser encontrados ao longo do ano, exceto nos meses de janeiro e maio. O maior número de espécimes em fruto foi observado nos seguintes meses: abril, julho, agosto, outubro e novembro.

O período de frutificação verificado na população de *Anemopaegma acutifolium* ocorreu durante todo o ano de observação (Figura 9), sendo registrado um pico desta fenofase no mês de dezembro de 2005. O desenvolvimento inicial dos frutos é verificado quando os indivíduos ainda estavam no período de floração, observando-se, portanto, um maior número de indivíduos com flor e fruto no mês de setembro de 2005. O processo completo de frutificação, desde o intumescimento do ovário até a deiscência do fruto, durou entre oito a doze meses. A maioria dos frutos formados no período de floração de 2005 dispersou suas sementes na estação seca do ano seguinte, como demonstrado pelo indivíduo número 10 (Figura 12).

*Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza

Espécimes de *Anemopaegma arvense* em fruto foram coletados em todos os meses do ano ao longo de sua distribuição geográfica (Tabela 2). Porém, o pico de atividade desta fenofase foi observado em novembro, mês em que houve maior número de indivíduos coletados com fruto. (Figura 14).

Em nível populacional, a frutificação de *Anemopaegma arvense* foi registrada ao longo do ano de observação (Figura 15). O pico desta fenofase na população de *A. arvense* localizada na RECOR/IBGE, revelado pelo índice de atividade, ocorreu nos meses de novembro e dezembro, logo após o pico da atividade de floração. Assim como observado em *A. acutifolium*, o tempo de desenvolvimento dos frutos (até a maturação) de *A. arvense* foi de seis a doze meses. A dispersão das sementes aladas ocorreu principalmente entre os meses de junho a setembro, estação seca do ano, porém foram registrados frutos em deiscência também no mês de janeiro (período mais úmido do ano). A deiscência dos frutos e, conseqüentemente a dispersão das sementes, dos indivíduos localizados na RECOR/IBGE ocorreram gradativamente após estes atingirem a maturação. Já em áreas onde ocorreu a passagem do fogo constatou-se a abertura de 100% dos frutos.

O pico de frutificação em nível individual, como demonstrado na Figura 18, ocorreu nos meses de setembro e outubro, período correspondente ao início de desenvolvimento dos frutos. A queda na quantidade de frutos verificada após este período deve-se ao aborto dos mesmos, já que os indivíduos desta espécie produzem somente um ou dois frutos maduros por ramo (FIRETTI-LEGGIERI Capítulo 6).

*Anemopaegma glaucum* Mart. ex DC.

O período de frutificação de *Anemopaegma glaucum* em nível de espécie, obtido através de informações de herbário, é verificado ao longo do ano, exceto em maio onde não houve registros de

espécimes nesta fenofase (Tabela 3). Porém, o pico de atividade foi registrado em outubro, mês em que houve maior número de espécimes em fruto coletado (Figura 20).

Os resultados da fenologia de frutificação de *Anemopaegma glaucum* em nível de população e de indivíduo, obtidos a partir das observações de campo, são apresentados nas Figuras 21 e 24, respectivamente. A partir da Figura 21 observa-se uma frutificação contínua em nível populacional, sendo encontrados indivíduos somente com fruto ou com flor e fruto em todos os meses do ano. Entretanto, o pico de atividade da população para esta fenofase é verificado no mês de dezembro, dois meses após o pico de floração. O intervalo de tempo registrado entre o início de desenvolvimento e a deiscência dos frutos foi de quatro meses a um ano, sendo mais comumente observado a maturação dos frutos e a dispersão das sementes na estação seca do ano seguinte à floração que deu origem aos mesmos (Figura 24). Assim como na população, a frutificação contínua foi também verificada em alguns indivíduos de *A. glaucum* (Figura 24). Como mencionado para *A. arvense*, o fogo promoveu a deiscência sincronizada dos frutos de *A. glaucum* em contraste à deiscência registrada nos indivíduos da RECOR/IBGE que se mostrou paulatina e assincrônica.

#### *Anemopaegma scabriusculum* Mart. ex DC.

O período de frutificação de *Anemopaegma scabriusculum*, verificado a partir de informações de material herborizado, ocorreu nos meses de fevereiro a agosto e em outubro (Tabela 4), sendo registrado o pico de atividade desta fenofase em maio (Figura 26), mês em que foi registrado maior número de coletas.

## DISCUSSÃO

### *Brotamento*

As espécies do complexo *Anemopaegma arvense* apresentaram dois comportamentos distintos quanto ao crescimento vegetativo. As espécies *Anemopaegma acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum* apresentaram morte dos ramos logo após o término dos eventos reprodutivos. Ao contrário destas, *A. scabriusculum* apresentou crescimento indeterminado dos ramos, sendo verificado o desenvolvimento vegetativo concomitante com o período reprodutivo, geralmente a frutificação.

O surgimento de novos ramos e folhas nas espécies *Anemopaegma acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum* não se mostrou sazonal, ou seja, foram observados indivíduos com ramos e folhas novas tanto nos meses que correspondem à estação chuvosa quanto nos meses da estação seca. A ausência de sazonalidade para o crescimento vegetativo destas espécies contrapõe a marcada sazonalidade registrada em outros estudos que contemplaram a fenologia das espécies herbáceo-subarbusivas do Cerrado (BATALHA *et al.* 1997; BATALHA & MANTOVANI 2000; MUNHOZ & FELFILI 2005).

Em condições naturais, a senescência dos ramos parece ser determinada por fatores intrínsecos (determinação genética) da planta e, demonstra estar intimamente relacionada à maturação dos frutos, já que a morte dos ramos destas espécies foi registrada logo após a dispersão das sementes. Segundo MANTOVANI & MARTINS (1988), o padrão fenológico vegetativo da maioria das espécies herbáceas e subarbusivas está mais relacionado a adaptações reprodutivas do que as do componente arbustivo-arbóreo. Esses autores afirmam ainda que espécies com sistema subterrâneo de reserva, como xilopódio, podem emitir ramos novos em diferentes épocas do ano.

Fatores externos como ocorrência de fogo e poda, influenciaram positivamente a ramificação dos indivíduos de *Anemopaegma arvense* e *A. glaucum*. Indivíduos destas espécies que tiveram sua parte aérea completamente eliminada por tais fatores lançaram um número maior de

ramos quando comparados aos indivíduos não sujeitos a tais fatores externos. Já em *A. acutifolium*, a ação da poda teve um efeito neutro não alterando a quantidade de ramos produzidos, ficando, portanto, todos os indivíduos desta espécie com a mesma arquitetura. COUTINHO (1976) relatou o aspecto positivo da eliminação da parte aérea das plantas, através do fogo ou da poda, para o lançamento de novos ramos e de posterior floração em cerca de 150 espécies, entre as quais o autor citou *Anemopaegma arvense*. Segundo o autor, esta espécie de Bignoniaceae, assim como outras espécies do Cerrado que compõem o componente herbáceo-subarbuscivo, depende da eliminação das partes aéreas para serem induzidas a produzir novos ramos e florescer.

### *Fenologia de floração*

O período de floração das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*, obtido a partir de informações de material herborizado, se mostrou contínuo ao longo do ano havendo coletas de indivíduos em flor em praticamente todos os meses nos locais mais amostrados. Tal condição foi corroborada por observações de campo realizadas em populações de *Anemopaegma acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum* localizadas na Reserva Ecológica do IBGE (RECOR/IBGE), Brasília, DF. Portanto, o evento de floração destas espécies em nível de população pode ser considerado contínuo. OPLER *et al.* (1980a), ao avaliarem o comportamento reprodutivo de espécies de florestas neotropicais, notaram que períodos extensos de floração são característicos de espécies colonizadoras, situação ecológica observada em *A. acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum*.

Apesar das espécies apresentarem floração contínua, os índices de atividade desta fenofase, calculados para as espécies (informações de exsicatas) e para as populações (informações de campo), revelaram um pico de atividade nos meses de setembro e outubro para *Anemopaegma acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum* e, em maio para *A. scabriusculum*. O maior número de

indivíduos em flor no final da estação seca e início da chuvosa, condição mostrada pelas populações das primeiras três espécies referidas, é contrária ao encontrado em outros trabalhos sobre fenologia reprodutiva de espécies do componente herbáceo-subarbusivo (MONASTERIO & SARMIENTO 1976; SARMIENTO & MONASTERIO 1983; BARBOSA 1997; BATALHA & MANTOVANI 2000; MUNHOZ & FELFILI 2005) e, semelhante ao encontrado em espécies do componente arbustivo-arbóreo de áreas de savanas tropicais (MANTOVANI & MARTINS 1988, BATALHA *et al.* 1997). Em áreas com alternância de estações secas e frias com úmidas e quentes, como é o caso das regiões de Cerrado, as espécies herbáceas e subarbusivas, com sistema radicular superficial, têm suas atividades limitadas principalmente pela disponibilidade de água. Elas realizam o crescimento vegetativo e acúmulo de carboidratos, essencial para o desenvolvimento floral (LEBON *et al.* 2005), no início da estação chuvosa e, utilizam o carboidrato acumulado nos eventos reprodutivos que ocorrem no final do período chuvoso. Segundo SARMIENTO & MONASTERIO (1983), a estratégia de acúmulo de carboidratos com floração no final da estação chuvosa é essencial para garantir a reprodução destas espécies no período mais seguro quanto à disponibilidade de água. Por outro lado, estes autores afirmam que para as espécies com sistema radicular profundo, como é o caso de muitas espécies arbustivas e arbóreas de vegetações savânicas, o florescimento na estação mais seca do ano e o acúmulo de carboidratos na estação mais úmida é uma condição vantajosa, já que a atividade de insetos polinizadores é facilitada pela ausência de chuvas pesadas que possam danificar as flores (JANZEN 1980).

A competição por polinizadores e a diminuição da possibilidade de fluxo gênico e, conseqüentemente, da formação de híbridos entre espécies simpátricas, geneticamente interférteis e que partilham os mesmos polinizadores, podem ser fatores determinantes na divergência do período de floração entre tais espécies (WASER 1983; MARTIN *et al.* 2007). O extensivo estudo de GENTRY (1974a, b) sobre as estratégias de floração das espécies de Bignoniaceae da América

Central levou o autor a concluir que o isolamento reprodutivo e a manutenção da diversidade de tais espécies naquelas florestas eram promovidos principalmente pela divergência no período de floração das espécies que compartilhavam a mesma guilda de polinizadores. Ao contrário do comportamento observado nas espécies do Panamá e da Costa Rica, a fenologia de floração não parece constituir um isolamento pré-zigótico eficiente para o fluxo gênico entre as espécies de Bignoniaceae do Cerrado. Assim como verificada por SAMPAIO *et al.* (2008) em *Adenocalymma* e por BARROS (2001) e BITTENCOURT Jr. & SEMIR (2005) em *Handroanthus*, a floração sincrônica de espécies simpátricas, do mesmo gênero, com morfologia floral semelhante, e polinizadas pelas mesmas espécies de abelhas foi registrada em *Anemopaegma acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum*. As populações destas espécies localizadas na Reserva Ecológica do IBGE (RECOR/IBGE) apresentaram picos de atividade e de intensidade de floração no mesmo período do ano, facilitando, deste modo, o fluxo gênico entre tais espécies e promovendo assim, a formação de indivíduos híbridos, morfologicamente intermediários, comumente encontrados nas áreas onde populações destas espécies ocorrem juntas.

O padrão de floração de uma população é definido por seus componentes individuais. A variação na ocorrência desta fenofase entre os indivíduos determina a sincronia do evento e afeta a abundância de flor no período de floração (AUGSPURGER 1983). As observações realizadas durante o período de um ano revelaram que a floração contínua em nível populacional de *Anemopaegma acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum* deveu-se principalmente à assincronia desta fenofase entre os vários indivíduos da população de cada espécie. De acordo com RATHCKE & LACEY (1985), a assincronia do período de floração entre os indivíduos poderia garantir o sucesso reprodutivo das espécies em várias situações quando: (1) reduz a competição intraespecífica por polinizadores; (2) aumenta a diversidade de possíveis parceiros sexuais para o fluxo gênico ao longo do tempo; (3) aumenta as chances das flores serem polinizadas em locais onde os vetores de pólen

são escassos, como em beiras de estrada onde as populações, principalmente de *A. arvense*, predominam.

A estratégia de floração em nível individual é definida pela duração da floração bem como pelo número e distribuição temporal das flores (AUGSPURGER 1983). Os indivíduos de *Anemopaegma acutifolium* e *A. arvense* e a maioria dos indivíduos de *A. glaucum* apresentaram um único evento de floração por ano, com duração em torno de um mês. No caso de *A. scabriusculum*, SILVA & QUEIROZ (2003) relataram a ocorrência de dois a três eventos de floração por ano, sendo estes de curta duração. BAWA (1983) aponta possíveis forças seletivas que afetam a duração do período de floração em nível individual. De acordo com o autor, os fatores mais importantes são: (1) regulação do fluxo de pólen; (2) comportamento de forrageamento dos polinizadores; (3) taxa de desenvolvimento dos frutos em resposta à disponibilidade de recursos; (4) hábitat e (5) disponibilidade de sinal ambiental para sincronizar a floração de um indivíduo com seus conspecíficos.

De acordo com a duração, a sincronia entre os indivíduos e a disponibilidade diária de flores, as estratégias de floração das espécies de *Anemopaegma* aqui estudadas foram caracterizadas como o padrão “steady state” modificado, dentre os tipos de floração descritos por GENTRY (1974a, b) para as espécies de Bignoniceae da América Central. Este padrão de floração caracteriza plantas que não apresentam sazonalidade nos períodos de floração, possuem baixo sincronismo de florescimento entre os indivíduos e estes produzem poucas inflorescências com poucas flores por dia, com duração de semanas a meses. Segundo GENTRY (1974b), os padrões “steady state” e “steady state” modificado estão associados a polinizadores de vida longa que estabelecem rotas fixas diárias de forrageamento, denominados “trapliners” por JANZEN (1971). As principais diferenças entre esses dois tipos de floração são o tipo de polinizador associado a cada padrão fenológico e a duração do evento. Espécies que apresentam o padrão “steady state” geralmente têm os morcegos como seus

polinizadores efetivos e possuem floração que se prolonga por toda a vida reprodutiva da planta. Já no padrão “steady state” modificado, as flores são polinizadas por abelhas e a floração ocorre em períodos mais curtos, como semanas ou meses ao longo do ano.

A assincronia entre os indivíduos e a produção de poucas flores por dia notadas nas populações simpátricas das espécies de *Anemopaegma* localizadas na RECOR/IBGE, são tidas como estratégias positivas que asseguram o sucesso reprodutivo das plantas. A floração dos indivíduos em diferentes épocas do ano, apesar da existência de um pico de floração, promoveram a oferta de flores durante todo o ano. O prolongado período de floração e a ausência de sazonalidade desta fenofase fornecem uma fonte constante de recursos, néctar no caso de *Anemopaegma*, aos polinizadores fazendo estes vetores de pólen mais fidedignos (GENTRY 1974b). A disponibilidade de poucas flores por dia é entendida como uma estratégia promotora da polinização cruzada, já que força a movimentação dos polinizadores entre as plantas para a obtenção de quantidade adequada de recursos (RATHCKE & LACEY 1985) e que também permite a redução na quantidade de energia despendida nos eventos reprodutivos (HEINRICH & RAVEN 1972). A economia de energia pode ser observada na diminuta quantidade de flores que tais espécies produzem quando comparadas às espécies com floração massiva e, segundo LLOYD (1980) esta estratégia de floração também permite a regulação do número de flores com relação ao número de frutos em resposta às mudanças na disponibilidade de recursos.

Os estudos realizados até o momento, que contemplam a fenologia reprodutiva de espécies de *Anemopaegma* demonstram um predomínio de ambos os padrões “steady state” de floração (*A. chrysoleucum* GENTRY 1974b, *A. chamberlaynii* AMARAL 1992, *A. laeve* CARVALHO). Apesar da predominância deste tipo de floração no gênero, AMARAL (1992) e CORREIA *et al* (2006) registraram diferentes estratégias de floração em distintas populações de *A. chamberlaynii*. De acordo com AMARAL (1992), a população da referida espécie, presente em floresta semidecídua de Campinas (SP), apresenta floração do tipo “steady state” modificado. Em contraste, CORREIA *et al*.

(2006) classificaram o padrão de floração das populações de *A. chamberlaynii* localizadas na restinga de Maricá (RJ) como múltiplo “bang”, já que foram registrados vários eventos de floração ao longo do ano e estes ocorreram sincronicamente entre os indivíduos.

Os indivíduos de *Anemopaegma arvense* e *A. glaucum* expostos à ação do fogo apresentaram um comportamento de floração distinto do padrão supracitado. Estes floresceram intensa e sincronicamente cerca de um mês após terem a parte aérea queimada, em contraste à floração assincrônica e paulatina observada nos indivíduos não sujeitos ao fogo. De acordo com as observações de WARMING (1908 *apud* COUTINHO 1976), algumas espécies do Cerrado não dependem do fogo para florescer, porém florescem com maior intensidade após a queimada. Em seu estudo sobre o efeito do fogo na floração da vegetação do estrato herbáceo-subarbustivo do Cerrado, COUTINHO (1976) apresentou uma lista com 150 espécies, dentre as quais estava *A. arvense*, que floresceram em até 90 dias após a ocorrência do fogo. Segundo o autor, a maioria destas espécies responde com floração muito intensa às queimadas feitas em qualquer época do ano. Porém, neste mesmo estudo, COUTINHO (1976) constatou que o fogo não é uma condição essencial para a promoção de sua floração, pelo aumento da temperatura ou dos nutrientes depositados no solo em forma de cinzas, mas a intensa floração parece ser estimulada pela eliminação dos órgãos aéreos mais velhos.

#### *Fenologia de Frutificação*

As espécies do complexo *Anemopaegma arvense* apresentaram frutificação contínua, ou seja, foram registrados indivíduos em fruto em todos os meses do ano. Esta condição foi verificada também em nível populacional nas espécies *A. acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum*, para as quais foram observados indivíduos com frutos em variados estágios de desenvolvimento ao longo do ano.

O pico de atividade de frutificação foi verificado cerca de dois meses após o pico de atividade de floração, o que corresponde à estação mais chuvosa do ano, quando os frutos ainda se encontravam imaturos e em desenvolvimento. Após este período, a quantidade de indivíduos em frutificação diminuiu devido ao alto índice de abortamento dos frutos ao longo do desenvolvimento dos mesmos (FIRETTI-LEGGIERI Capítulo 6), sendo que alguns indivíduos chegaram a abortar 100% dos frutos produzidos.

Em nível individual verificou-se um padrão anual de frutificação em *Anemopaegma acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum*, enquanto que SILVA & QUEIROZ (2003) evidenciaram de dois a três ciclos anuais de frutificação em *A. scabriusculum*. O período de maturação dos frutos (do intumescimento do ovário até a deiscência dos frutos maduros) das espécies com um único evento de frutificação ao ano foi considerado longo, excedendo 12 meses em alguns casos. Esta foi uma condição comumente observada por OPLER *et al.* (1980b) em espécies arbóreas de florestas secas da Costa Rica; porém, rara nas espécies arbustivas da mesma formação vegetacional. Segundo BAWA (1983), um período prolongado de maturação dos frutos pode refletir a incerteza ou a escassez de recursos necessários para o desenvolvimento destes.

Independente do tipo de formação vegetacional, as espécies presentes em áreas com clima sazonal mostram uma preferência por determinado período para a dispersão de seus diásporos e esta preferência parece estar intimamente relacionada ao tipo de agente dispersor (MANTOVANI & MARTINS 1988; MORELLATO *et al.* 1990; BATALHA *et al.* 1997; BATALHA & MANTOVANI 2000). Segundo JANZEN (1980), a seleção natural favoreceria as espécies que produzem frutos quando as condições ambientais fossem propícias à dispersão, à germinação e posterior estabelecimento de plântulas. Assim como as espécies anemocóricas citadas em outros estudos (MANTOVANI & MARTINS 1988; MORELLATO *et al.* 1990; BARBOSA 1997; BATALHA *et al.* 1997; BATALHA & MANTOVANI 2000; MUNHOZ & FELFILI 2005), as

espécies de *Anemopaegma* presentes no Distrito Federal dispersaram suas sementes aladas preferencialmente entre junho e setembro, meses que correspondem à estação seca. A maturação dos frutos e a liberação de diásporos dispersos pelo vento na estação seca são favorecidas pela presença de ventos fortes e pela diminuição parcial da vegetação rasteira, condições que facilitam a disseminação dos diásporos para longe da planta-mãe.

Apesar da notada sazonalidade para a dispersão das sementes, a deiscência dos frutos de um mesmo indivíduo se mostrou gradativa, sendo observados intervalos de até um mês entre a deiscência de dois frutos. A assincronia na dispersão das sementes apresentada pelos frutos de uma mesma planta estende o período de frutificação daquele indivíduo e pode representar uma estratégia contra a incerteza das oportunidades de colonização (BWA 1983). Tal comportamento observado principalmente em espécies arbóreas de estágios sucessionais iniciais e em herbáceas colonizadoras é entendido como um modo da planta-mãe aumentar as chances de suas sementes alcançarem condições ideais para o estabelecimento das plântulas.

A assincronia na deiscência dos frutos dos indivíduos de *Anemopaegma arvense* e *A. glaucum* foi superada pela ação do fogo, que provocou a deiscência de todos os frutos maduros poucos dias após a queimada. O papel ecológico do fogo como elemento promotor da deiscência de frutos foi descrito por COUTINHO (1976, 1977) para algumas espécies do estrato herbáceo-subarbusto dos cerrados de várias regiões brasileiras. Segundo o autor, as queimadas têm papel fundamental na reprodução destas espécies via sementes, por promoverem a liberação sincronizada das sementes e por consumirem a camada graminóide que impede a dispersão destas. A liberação de um grande número de sementes ao mesmo tempo poderia garantir a sobrevivência da maioria destas, já que a quantidade de sementes disponível para os predadores das mesmas superaria a quantidade que estes seriam capazes de consumir. Em um experimento com *Hybanthus prunifolius*, AUGSPURGER (1981) mostrou que indivíduos com frutificação assincrônica tiveram maior

quantidade de sementes predadas do que os indivíduos com frutificação sincrônica. Além da sobrevivência de grande parte das sementes promovida pela saciação dos predadores, o fogo também favoreceria a dispersão destas ao consumir as folhas e ramos secos que permanecem no solo, dificultando a ação do vento na dispersão destas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Amaral MEC 1992.** *Ecologia floral de dez espécies da tribo Bignonieae (Bignoniaceae), em uma floresta semidecídua no município de Campinas.* Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.
- Augspurger CK. 1981.** Reproductive synchrony of a tropical shrub: experimental studies on effects of pollinators and seed predators on *Hybanthus prunifolius* (Violaceae). *Ecology* **62**: 775-788.
- Augspurger CK. 1983.** Phenology, Flowering Synchrony, and Fruit Set of Six Neotropical Shrubs. *Biotropica* **15**: 257-267.
- Barbosa AAA 1997.** Biologia reprodutiva de uma Comunidade de Campo Sujo, Uberlândia/MG. Tese de Doutorado. UNICAMP, Campinas, SP.
- Barros MG. 2001.** Pollination ecology of *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. & Hook. and *T. ochracea* (Cham.) Standl. (Bignoniaceae) in Central Brazil cerrado vegetation. *Revista Brasileira de Botânica* **24**: 255-261.
- Batalha MA, Aragaki S, Mantovani W. 1997.** Variações Fenológicas das Espécies do Cerrado de Emas (Pirassununga, SP). *Acta Botânica Brasilica* **11**: 61-78.
- Batalha MA, Mantovani W. 2000.** Reproductive Phenological Patterns of Cerrado Plant Species at the Pé-de-Gigante Reserve (Santa Rita do Passa Quatro, SP, Brazil): A Comparison between the Herbaceous and Woody Floras. *Revista Brasileira de Biologia* **60**: 129-145.
- Bawa KS. 1983.** Patterns of Flowering in Tropical Plants. In: Jones CE, Little RJ. eds. *Handbook of Experimental Pollination Biology*. Van Nostrand Reinhold Company Inc., NY. Pp. 395-410.
- Bencke CSC, Morellato LPC. 2002.** Comparação de dois métodos de avaliação da fenologia de plantas, sua interpretação e representação. *Revista Brasileira de Botânica* **25**: 269-275.
- Bittencourt Jr NS. 2003.** *Auto-incompatibilidade de ação tardia e outros sistemas reprodutivos em Bignoniaceae.* Tese de doutorado. UNICAMP. Campinas, São Paulo.

- Bittencourt Jr NS, Semir J. 2005.** Late-acting self-incompatibility and other breeding systems in *Tabebuia* (Bignoniaceae). *International Journal of Plant Science* **166**: 493-506.
- Bulhão CF, Figueiredo PS. 2002.** Fenologia de leguminosas arbóreas em uma área de cerrado marginal no nordeste do Maranhão. *Revista Brasileira de Botânica* **25**: 361-369.
- Carvalho AT, Santos-Andrade FG, Schlindwein C. 2007.** Baixo sucesso reprodutivo em *Anemopaegma laeve* (Bignoniaceae) no Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco. *Revista Brasileira de Biociências* **5(Supl. 1)**: 102-104.
- Correia MCR, Pinheiro MCB, Lima HA. 2005.** Produção de frutos e germinação das sementes de *Anemopaegma chambelaynii* Bur. & K. Schum. (Bignoniaceae) – Um registro de poliembrionia. *Sitientibus Série Ciências Biológicas* **5**: 68-71.
- Coutinho LM. 1976.** Contribuição ao conhecimento do papel ecológico das queimadas na floração de espécies do Cerrado. Tese de Livre Docência, USP, São Paulo, SP.
- Coutinho LM. 1977.** Aspectos ecológicos do fogo no Cerrado. II – As queimadas e a dispersão de sementes de algumas espécies anemocóricas do estrato herbáceo-subarbustivo. *Boletim de Botânica da Universidade de São Paulo* **5**: 57-64.
- Frankie GW, Baker HG, Opler PA. 1974.** Comparative phenological studies of trees in tropical wet and dry forests in the lowlands of Costa Rica. *Journal of Ecology* **62**: 881-913.
- Gentry AH. 1974a.** Coevolutionary Patterns in Central American Bignoniaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **61**: 728-759.
- Gentry AH. 1974b.** Flowering phenology and diversity in tropical Bignoniaceae. *Biotropica* **6**: 64-68.
- Gentry AH. 1976.** Bignoniaceae of Southern Central America: Distribution and Ecological Specificity. *Biotropica* **8**: 117-131.
- Gottsberger G. 1986.** Some Pollination Strategies in Neotropical Savannas and Forests. *Plant Systematics and Evolution* **152**: 29-45.
- Heinrich B, Raven PH. 1972.** Energetics and pollination ecology. *Science* **176**: 597-602.
- Janzen DH. 1967.** Synchronization of sexual reproduction of trees within the dry season in Central America. *Evolution* **21**: 620-637.
- Janzen DH. 1971.** Euglossini bees as long-distance pollinators of tropical plants. *Science* **171**: 203-205
- Janzen DH. 1980.** *Ecologia Vegetal nos Trópicos*. EPU e EDUSP, São Paulo.
- Lebon G, Duchêne E, Brun O, Clément C. 2005.** Phenology of Flowering and Starch Accumulation in Grape (*Vitis vinifera* L.) Cuttings and Vines. *Annals of Botany* **95**: 943-948.

- Lieth H. 1974.** *Phenology and seasonality modeling*. Springer Verlag. Berlin.
- Lloyd DG. 1980.** Sexual strategies in plants. I. Na hypothesis of serial adjustment of maternal investment during one reproductive session. *New Phytologist* **86**: 69-79.
- Mantovani W, Martins FR. 1988.** Variações fenológicas das espécies do cerrado da Reserva Biológica de Moji Guaçu, Estado de São Paulo. *Revista Brasileira de Botânica* **11**: 101-112.
- Martin NH, Bouck AC, Arnold ML. 2007.** The Genetic Architecture of Reproductive Isolation in Louisiana Irises: Flowering Phenology. *Genetics* **175**: 1803-1812.
- McLaren KP, McDonald MA. 2005.** Seasonal Patterns of Flowering and Fruiting in a Dry Tropical Forest in Jamaica. *Biotropica* **37**: 584-590.
- Miranda LS. 1995.** Fenologia do estrato arbóreo de uma comunidade de cerrado em Alter-do-Chão, Pará. *Revista Brasileira de Botânica* **18**: 235-240.
- Monasterio M, Sarmiento G. 1976.** Phenological strategies of plant species in the tropical savanna and the semi-deciduous forest of the Venezuelan Llanos. *Journal of Biogeography* **3**: 325-356.
- Morellato LPC, Leitão-Filho HF, Rodrigues RR, Joly CA. 1990.** Estratégias fenológicas de espécies arbóreas em floresta de altitude na Serra do Japi, Jundiaí, São Paulo. *Revista Brasileira de Biologia* **50**: 149-162.
- Morellato LPC 1991.** *Estudo da fenologia de árvores, arbustos e lianas de uma floresta semidecídua no sudeste do Brasil*. Tese de Doutorado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.
- Munhoz CBR, Felfili JM. 2005.** Fenologia do estrato herbáceo-subarbusivo de uma comunidade de campo sujo na Fazenda Água Limpa no Distrito Federal, Brasil. *Acta Botânica Brasilica* **19**: 979-988.
- Oliveira PE. 1998.** Fenologia e biologia reprodutiva das espécies de cerrado. In: Sano SM, Almeida SP (orgs). *Cerrado: ambiente e flora*. Embrapa-CPAC, Brasília, DF.
- Oliveira PEAM, Paula FR. 2001.** Fenologia e biologia reprodutiva de plantas de Matas de Galeria. In: Ribeiro JF, Fonseca CEL, Sousa-Silva JC. (eds). *Cerrado: caracterização e recuperação de matas de galeria*. Embrapa-Cerrados. Planaltina, DF. Pp. 303-332.
- Opler PAG, Baker HG, Frankie GW. 1980a.** Plant reproductive characteristics during secondary succession in neotropical lowland forest ecosystems. *Biotropica* **12 (Suppl.)**: 40-46.
- Opler PAG, Frankie GW, Baker HG. 1980b.** Comparative phenological studies of treelet and shrub species in tropical wet and dry forests in the lowlands of Costa Rica. *Journal of Ecology* **68**: 167-188.

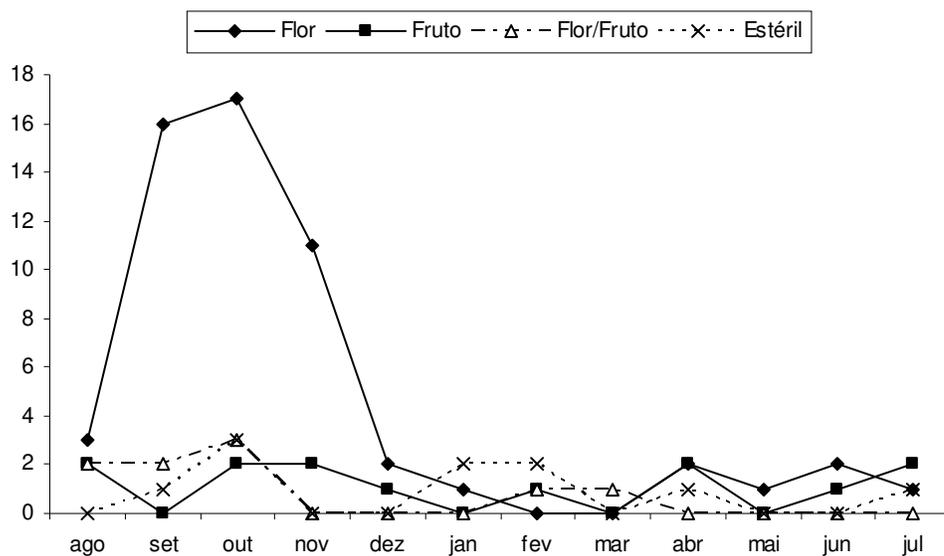
- Rathcke B, Lacey EP. 1985.** Phenological patterns of terrestrial plants. *Annual Review Ecology and Systematics* **16**: 179-214.
- Rivera G, Elliott S, Caldas LS, Nicolossi G, Coradin VTR, Borchert R. 2002.** Increasing day-length induces spring flushing of tropical dry forest trees in the absence of rain. *Trees* **16**: 445-456.
- Sarmiento G, Monasterio M. 1983.** Life forms and Phenology. In: Bouliere F. (ed). *Tropical savannas*. Elsevier, Amsterdam. Pp. 79-108.
- Silva, M.M. & L.P. Queiroz 2003.** A família Bignoniaceae na região de Catolés, Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. *Sitientibus Série Ciências Biológicas* **3**: 3-21.
- Waser NM. 1983.** Competition for pollination and floral character differences among sympatric plant species: a review of evidence. In: Jones CE, Little RJ. (eds). *Handbook of Experimental Pollination Biology*. Van Nostrand Reinhold Company Inc., NY. Pp. 277-293.
- Williams RJ, Myers BA, Muller WJ, Duff GA, Eamus D. 1997.** Leaf phenology of woody species in a north Australian tropical savanna. *Ecology* **78**: 2542-2558.



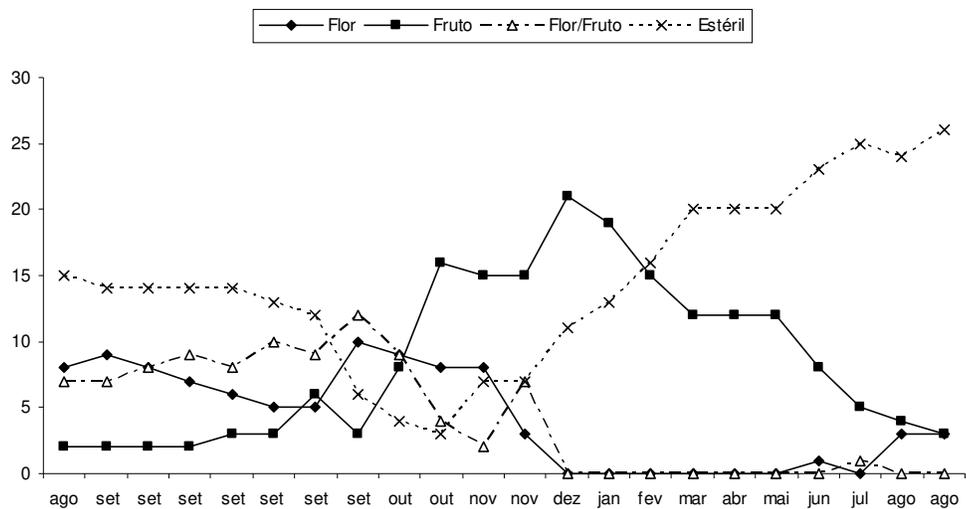
**Figuras 2-7.** Brotamento e floração de indivíduos das espécies *Anemopaegma arvense* e *A. glaucum* em local preservado e após a passagem do fogo. **2.** Dispersão de sementes e brotamento de ramos novos de indivíduo de *A. glaucum* cerca de um mês após passagem do fogo. **3.** Floração sincrônica dos indivíduos de *A. glaucum* após queimada. **4.** Indivíduo de *A. arvense* em local preservado. **5.** Indivíduo de *A. arvense* em flor após a passagem do fogo. **6.** Indivíduo de *A. glaucum* em local preservado. **7.** Indivíduo de *A. glaucum* em flor após a passagem do fogo.

**Tabela 1.** Período de floração e de frutificação de *A. acutifolium* DC observados ao longo da distribuição da espécie. Dados gerados a partir de informações de exsicatas (N = 88). Barras cinzas = floração. Barras pretas = frutificação.

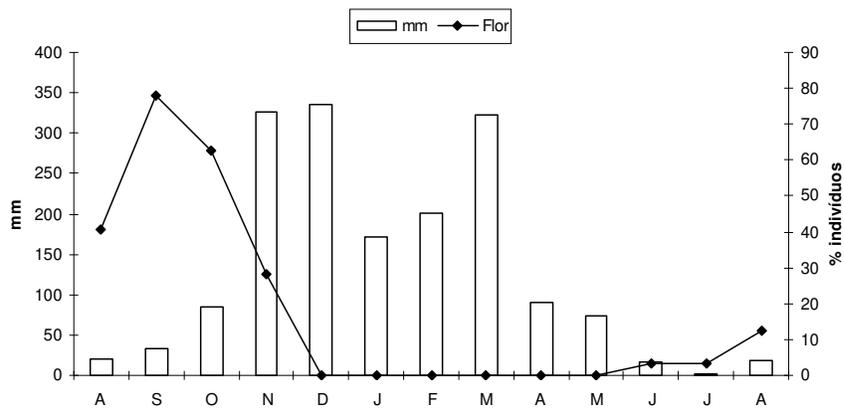
<i>Localidade</i>	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
BA								■			■	
TO												
GO											■	
DF								■		■		
MT												
Bolívia												
MG			■	■	■	■	■			■		
SP		■		■			■	■	■	■		■



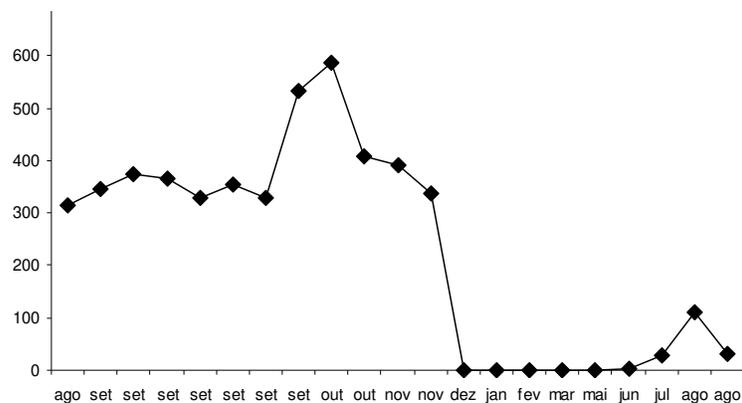
**Figura 8.** Índice de Atividade dos eventos fenológicos de *Anemopaegma acutifolium* DC. ao longo da distribuição geográfica da espécie. Dados obtidos a partir de material herborizado (N = 88).



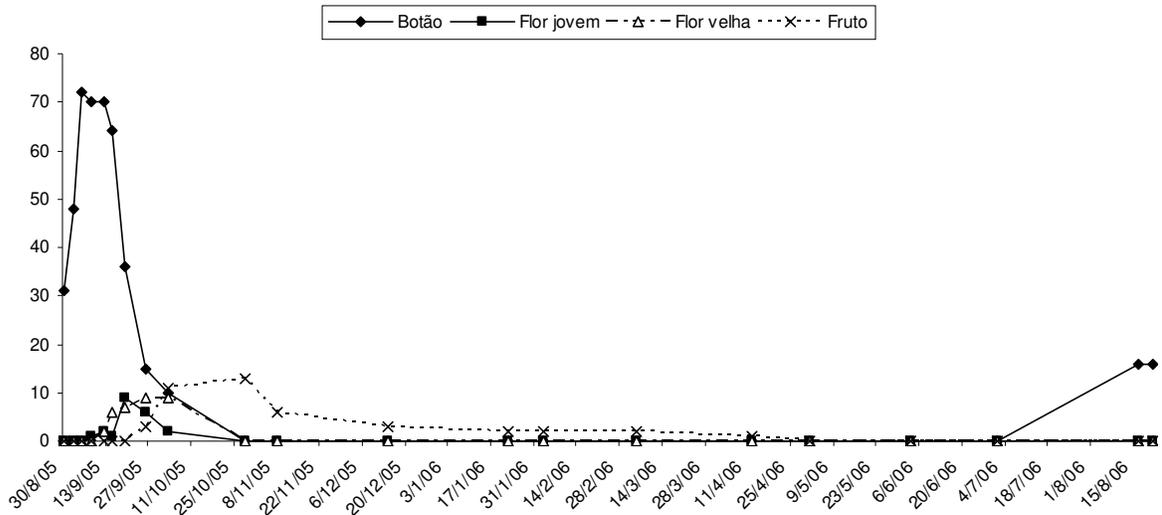
**Figura 9.** Índice de atividade da população de *Anemopaegma acutifolium* localizada na Reserva Ecológica do IBGE (RECOR/IBGE), Brasília, DF. Registro do número de indivíduos da população em diferentes fenofases no período de um ano de observação. (N = 32 indivíduos)



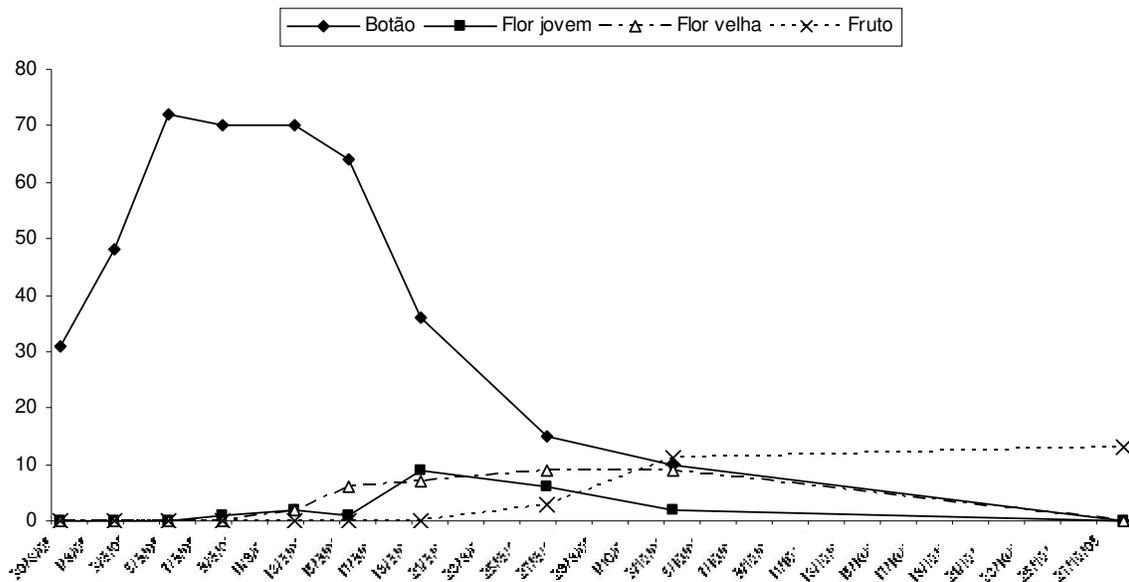
**Figura 10.** Porcentagem de indivíduos em flor da população de *Anemopaegma acutifolium* localizada na Reserva Ecológica do IBGE (RECOR/IBGE), Brasília, DF e pluviosidade registrada na RECOR/IBGE durante o período de estudo. (N = 32 indivíduos)



**Figura 11.** Índice de intensidade de floração da população de *Anemopaegma acutifolium* localizada na Reserva Ecológica do IBGE (RECOR/IBGE), Brasília, DF. Registro do número de botões florais e flores produzidos pela população durante o período de observação. (N = 32 indivíduos).



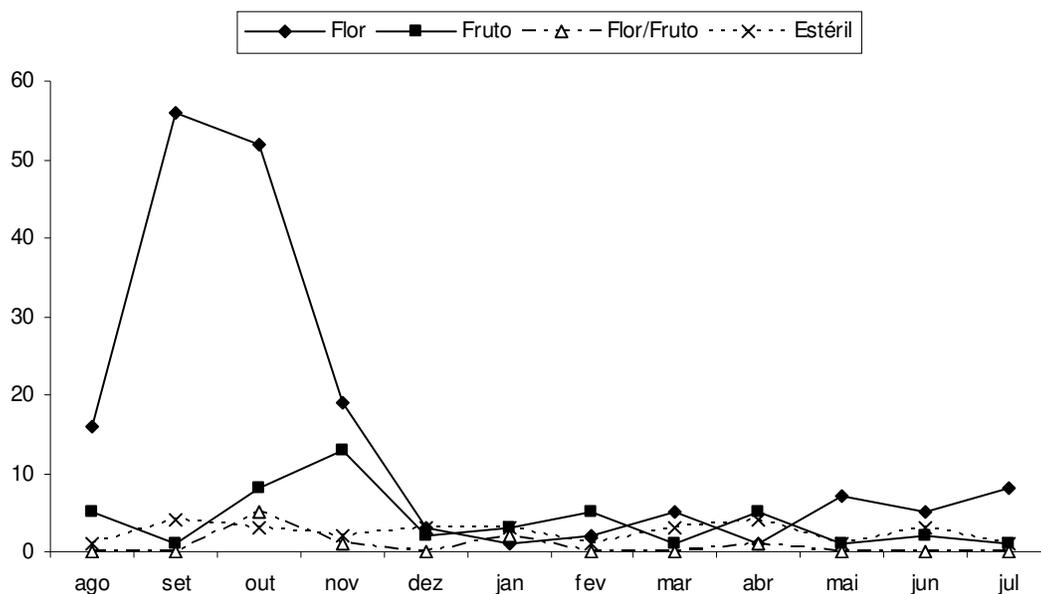
**Figura 12.** Índice de intensidade das fenofases reprodutivas mostrado pelo indivíduo número 10 de *Anemopaegma acutifolium* no período de um ano (ago/2005 a ago/2006).



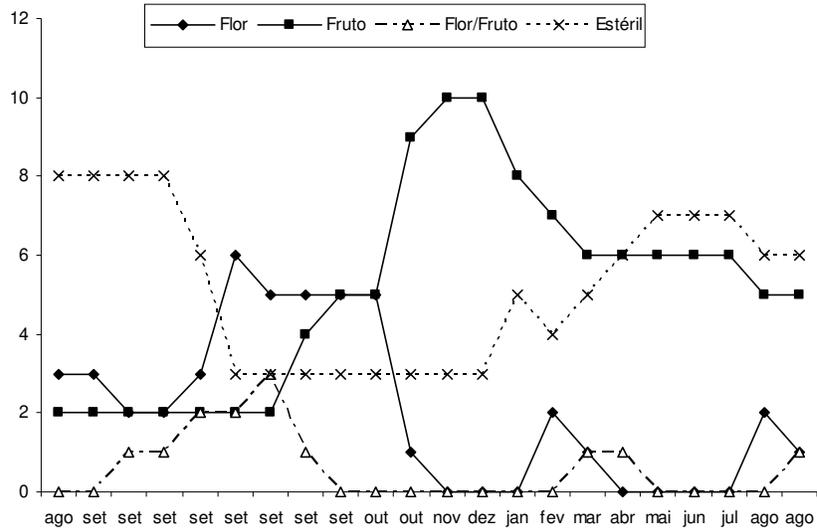
**Figura 13.** Índice de intensidade de floração mostrado pelo indivíduo número 10 de *Anemopaegma acutifolium* no período de agosto a outubro de 2005.

**Tabela 2.** Período de floração e de frutificação de *A. arvense* (Vell) Stellf. ex de Souza observado ao longo da distribuição geográfica. Dados gerados a partir de informações de exsicatas (N = 261). Barras cinzas = floração. Barras pretas = frutificação.

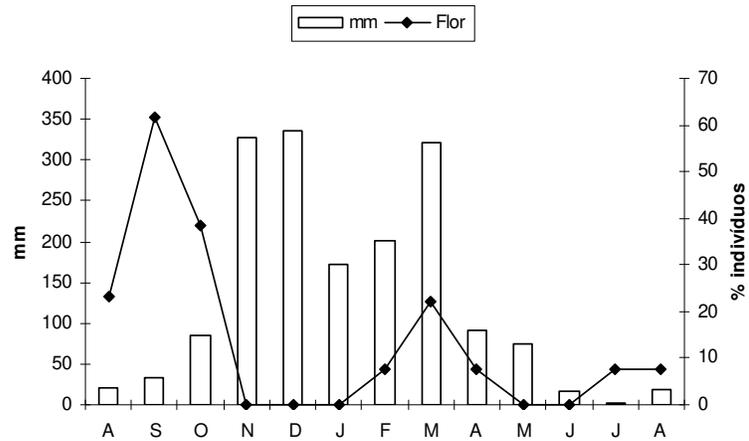
<i>Localidade</i>	<i>Jan</i>	<i>Fev</i>	<i>Mar</i>	<i>Abr</i>	<i>Mai</i>	<i>Jun</i>	<i>Jul</i>	<i>Ago</i>	<i>Set</i>	<i>Out</i>	<i>Nov</i>	<i>Dez</i>
MA												
TO												
RO												
GO	■		■			■				■	■	■
DF	■							■	■	■	■	■
MT		■			■	■	■				■	■
Bolívia		■		■								
MG				■			■	■	■	■	■	■
SP		■		■			■				■	■
MS		■									■	■
PR												
Paraguai								■		■		



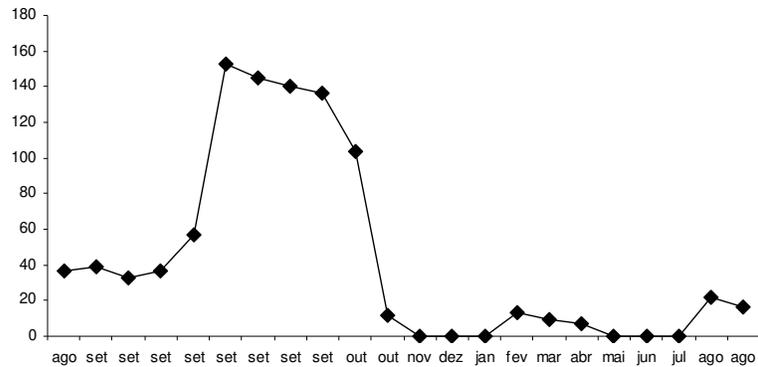
**Figura 14.** Índice de Atividade dos eventos fenológicos de *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza ao longo da distribuição geográfica da espécie. Dados obtidos a partir de material herborizado.



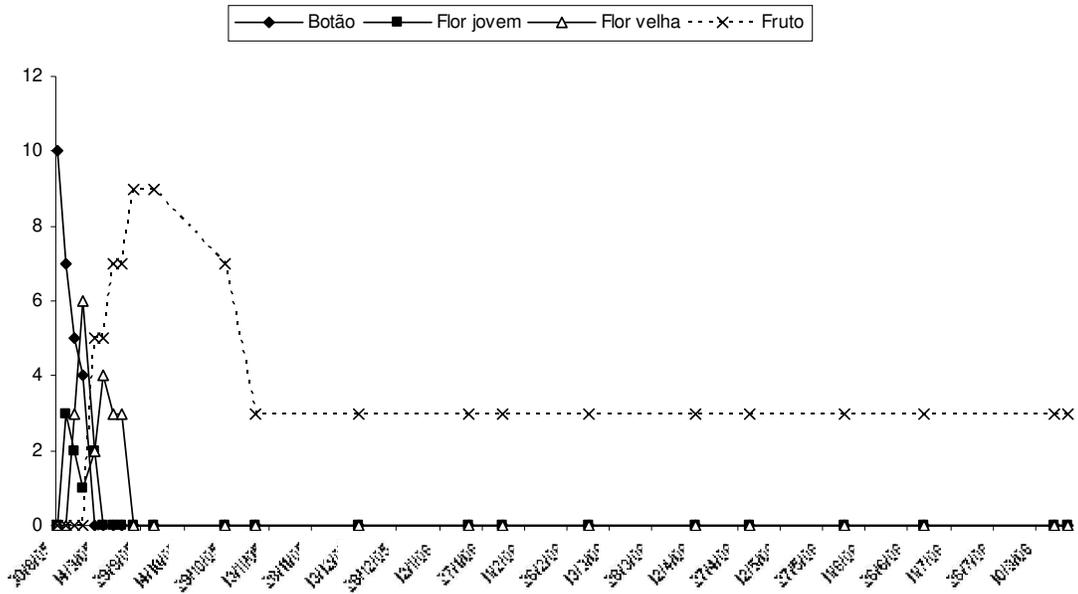
**Figura 15.** Índice de atividade da população de *Anemopaegma arvense* localizada na Reserva Ecológica do IBGE (RECOR/IBGE), Brasília, DF. Registro do número de indivíduos da população em diferentes fenofases no período de um ano de observação. (N = 13 indivíduos)



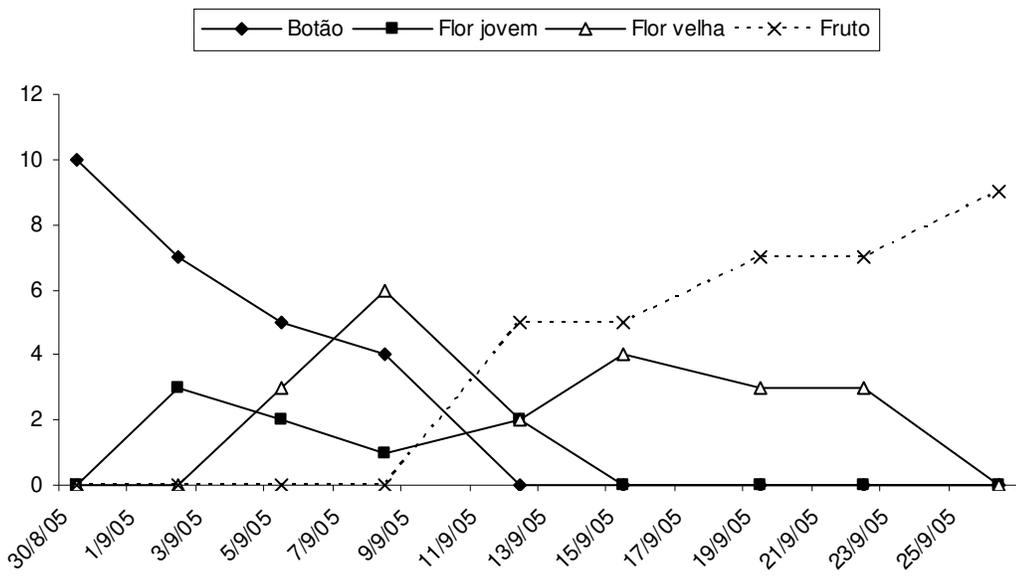
**Figura 16.** Porcentagem de indivíduos em flor da população de *Anemopaegma arvense* localizada na Reserva Ecológica do IBGE (RECOR/IBGE), Brasília, DF e pluviosidade registrada na RECOR/IBGE durante o período de estudo. (N = 13 indivíduos)



**Figura 17.** Índice de intensidade de floração da população de *Anemopaegma arvense* localizada na Reserva Ecológica do IBGE (RECOR/IBGE), Brasília, DF. Registro do número de botões florais e flores produzidos pela população durante o período de observação. (N = 13 indivíduos).



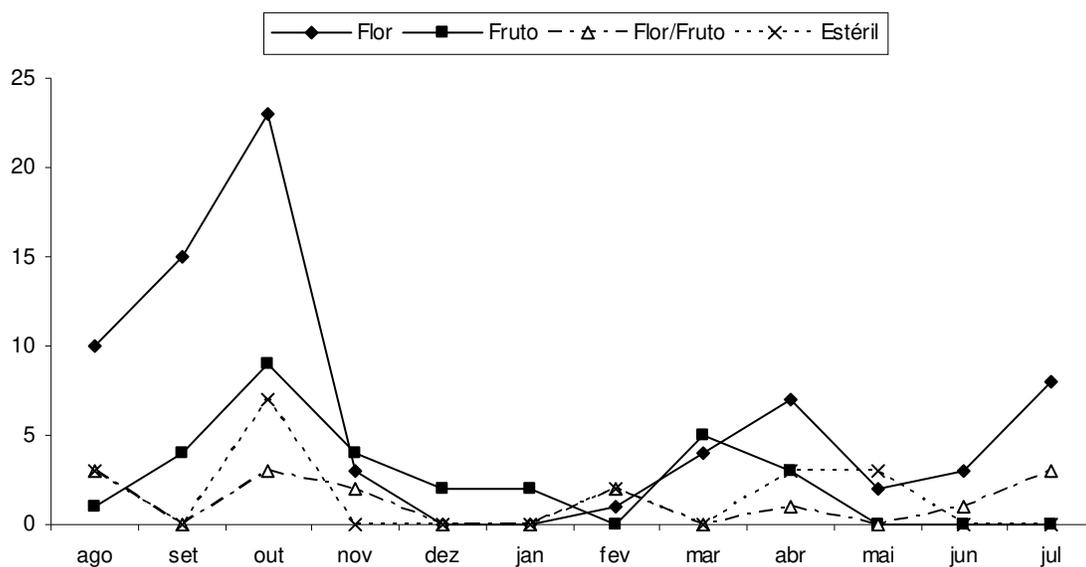
**Figura 18.** Índice de intensidade das fenofases reprodutivas mostrado pelo indivíduo número 24 de *Anemopaegma arvense* no período de um ano (ago/2005 a ago/2006).



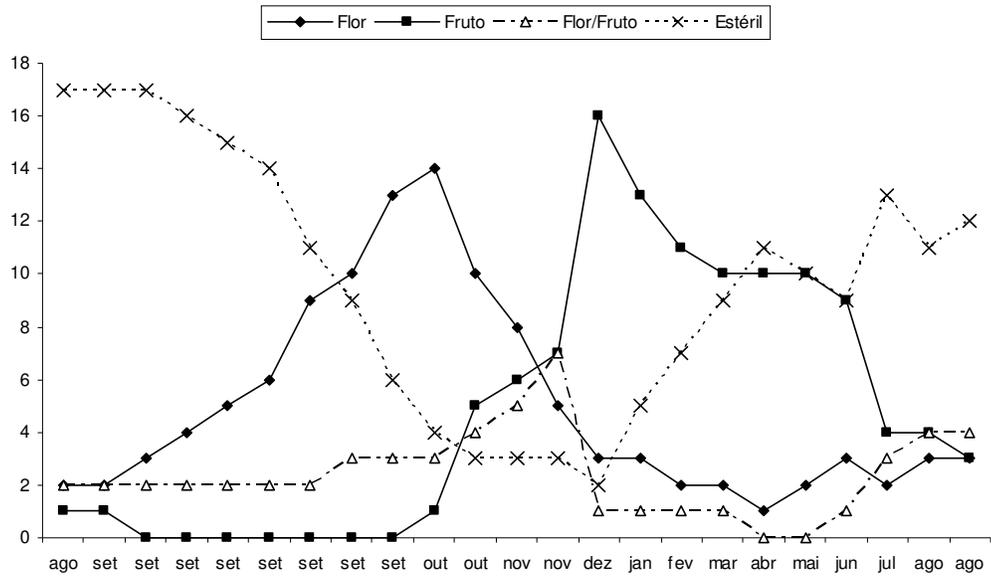
**Figura 19.** Índice de intensidade de floração mostrado pelo indivíduo número 24 de *Anemopaegma arvense* no período de agosto a outubro de 2005.

**Tabela 3.** Período de floração e de frutificação de *A. glaucum* Mart. ex DC. Dados gerados a partir de informações de exsicatas (N = 141). Barras cinzas = floração. Barras pretas = frutificação.

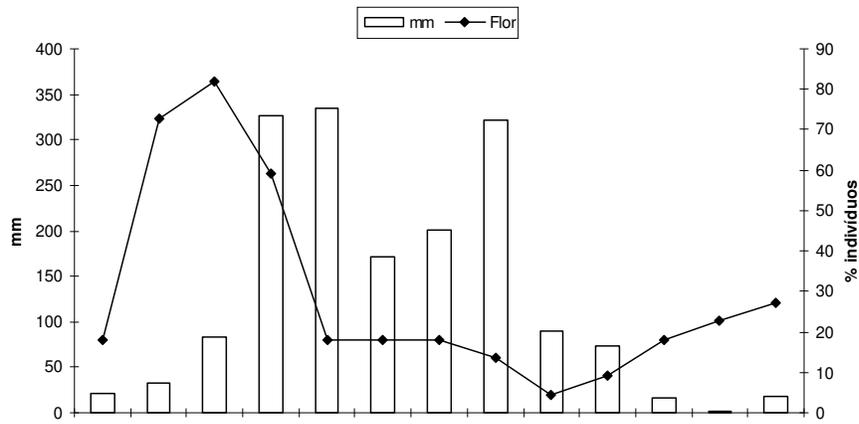
Localidade	Jan	Fev	Mar	Abr	Mai	Jun	Jul	Ago	Set	Out	Nov	Dez
PA												
MA												
PI										■	■	
BA			■	■						■	■	■
TO												
RO	■	■										
GO		■	■	■	■				■	■	■	
DF	■	■					■	■	■	■	■	
MT				■	■	■			■	■	■	■
Bolívia											■	■
MG				■	■			■	■	■		■
SP		■	■	■						■	■	
MS												



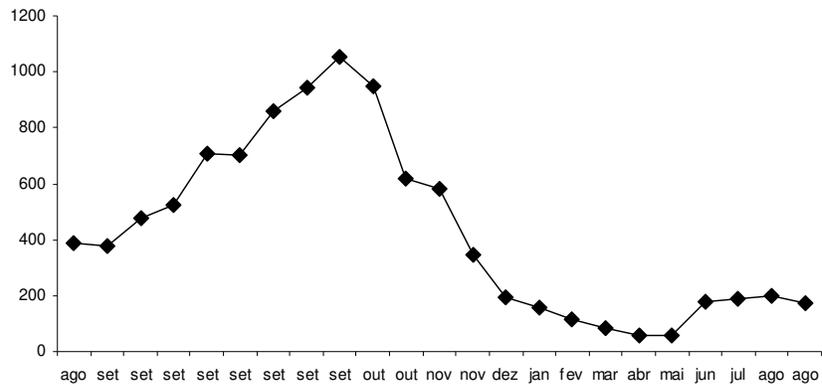
**Figura 20.** Índice de Atividade dos eventos fenológicos de *Anemopaegma glaucum* Mart. ex DC. ao longo da distribuição geográfica da espécie. Dados obtidos a partir de material herborizado.



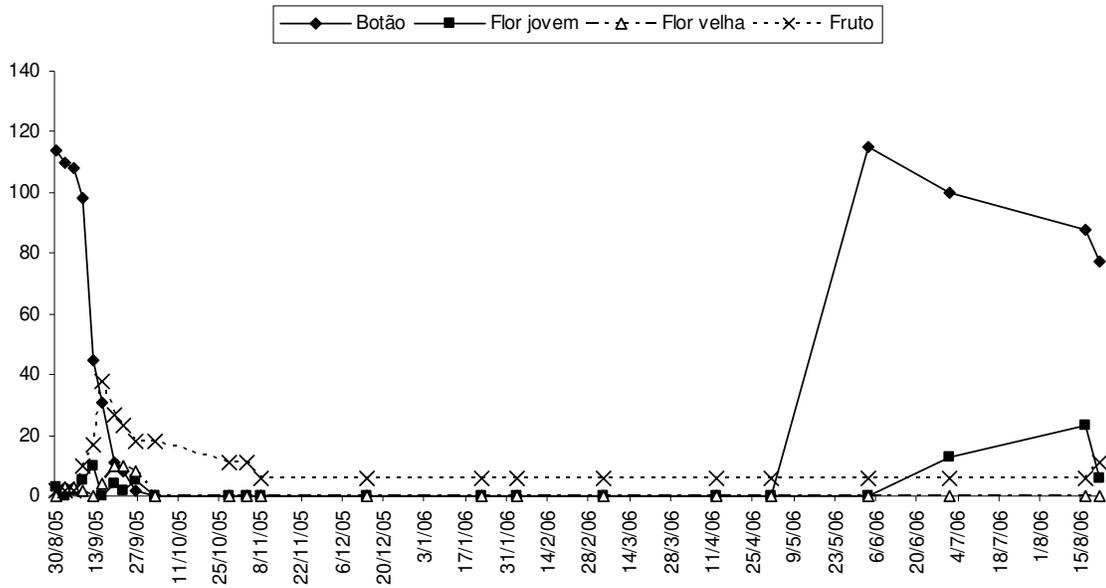
**Figura 21.** Índice de atividade da população de *Anemopaegma glaucum* localizada na Reserva Ecológica do IBGE (RECOR/IBGE), Brasília, DF. Registro do número de indivíduos da população em diferentes fenofases no período de um ano de observação. (N = 22 indivíduos)



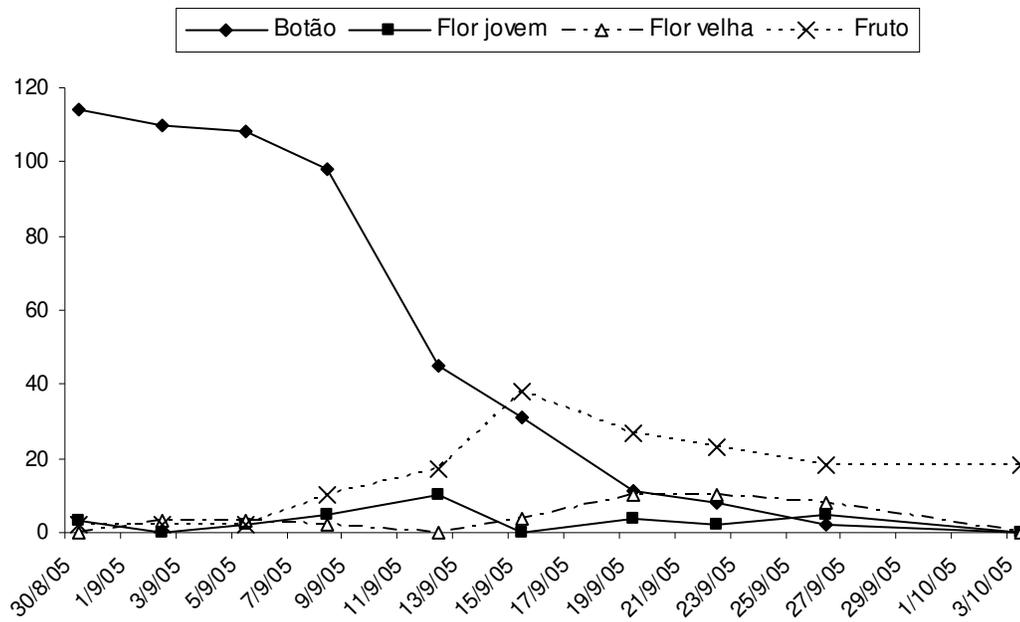
**Figura 22.** Porcentagem de indivíduos em flor da população de *Anemopaegma glaucum* localizada na Reserva Ecológica do IBGE (RECOR/IBGE), Brasília, DF e pluviosidade registrada na RECOR/IBGE durante o período de estudo. (N = 22 indivíduos).



**Figura 23.** Índice de intensidade de floração da população de *Anemopaegma glaucum* localizada na Reserva Ecológica do IBGE (RECOR/IBGE), Brasília, DF. Registro do número de botões florais e flores produzidos pela população durante o período de observação. (N = 22 indivíduos).



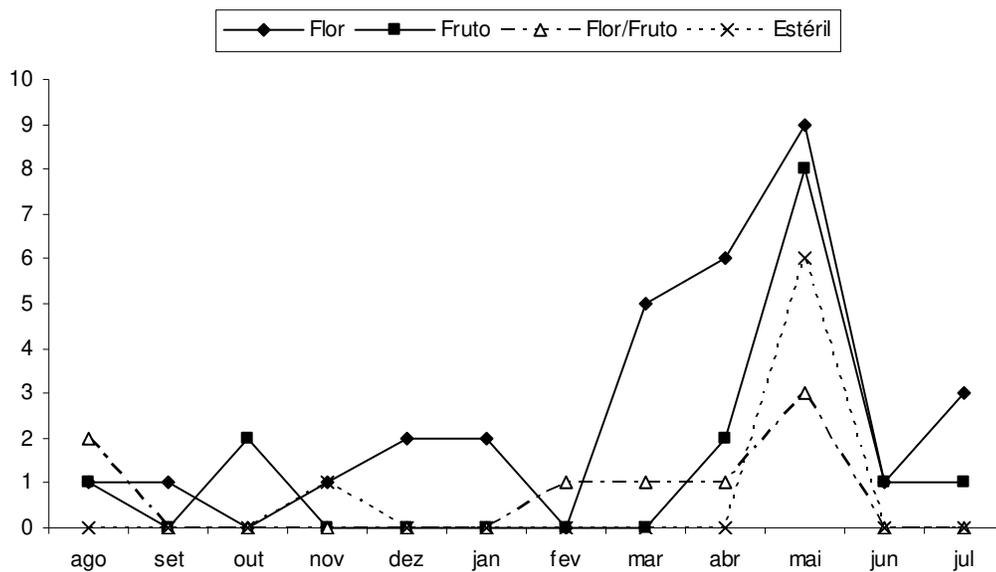
**Figura 24.** Índice de intensidade das fenofases reprodutivas mostrado pelo indivíduo número 29 de *Anemopaegma glaucum* no período de um ano (ago/2005 a ago/2006).



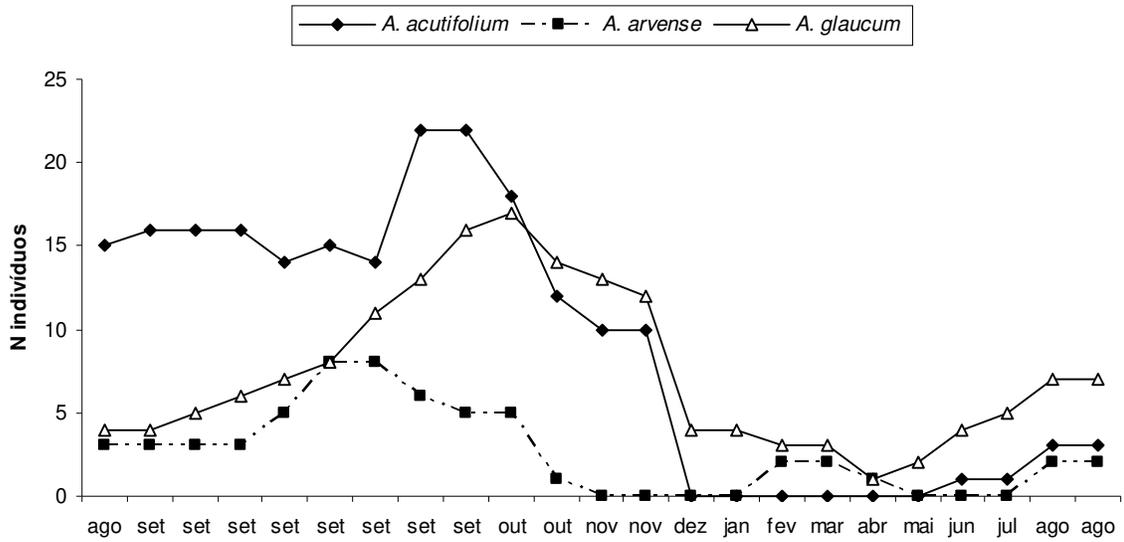
**Figura 25.** Índice de intensidade de floração mostrado pelo indivíduo número 29 de *Anemopaegma glaucum* no período de agosto a outubro de 2005.

**Tabela 4.** Período de floração e de frutificação de *A. scabriusculum* Mart. ex DC. Dados gerados a partir de informações de exsicatas (N = 61).

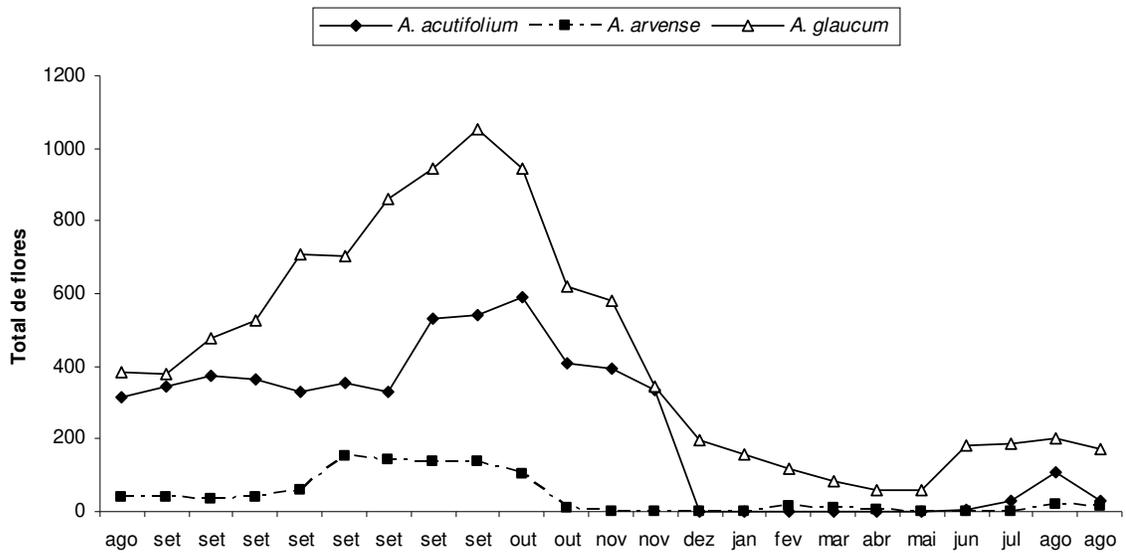
<i>Localidade</i>	<i>Jan</i>	<i>Fev</i>	<i>Mar</i>	<i>Abr</i>	<i>Mai</i>	<i>Jun</i>	<i>Jul</i>	<i>Ago</i>	<i>Set</i>	<i>Out</i>	<i>Nov</i>	<i>Dez</i>
PA												
MA												
PI												
BA		■	■	■	■	■	■	■	■	■		
TO					■	■						
GO				■	■							
MG					■	■		■	■			



**Figura 26.** Índice de Atividade dos eventos fenológicos de *Anemopaegma scabriusculum* Mart ex DC. ao longo da distribuição geográfica da espécie. Dados a partir de material herborizado.



**Figura 27.** Índice de atividade de floração das populações de *Anemopaegma acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum* localizadas na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Índice de atividade de floração = número total de indivíduos em flor ou em flor e fruto.



**Figura 28.** Índice de intensidade de floração das populações de *Anemopaegma acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum* localizadas na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. Índice de intensidade de floração = número total de flores disponibilizadas pelos indivíduos das espécies.

# CAPÍTULO 6

**Polinização e sistema reprodutivo das espécies do complexo  
*Anemopaegma arvense* (Vell.) Steff. ex de Souza  
(Bignoniaceae, Bignonieae)**

## RESUMO

O complexo *Anemopaegma arvense* é composto por quatro espécies polimórficas subarbustivas e arbustivas que se encontram distribuídas em áreas de cerrado, principalmente em áreas antropizadas e sujeitas a queimadas periódicas, como beiras de estrada. A confusão taxonômica existente neste grupo de espécies foi atribuída à possibilidade de hibridação entre estas. O objetivo do presente trabalho foi conhecer o comportamento reprodutivo destas espécies através da biologia floral, da determinação dos polinizadores e do sistema de cruzamento e confirmar a possibilidade de formação de indivíduos morfológicamente intermediários através do fluxo gênico entre as espécies. As espécies *Anemopaegma acutifolium*, *A. arvense*, *A. glaucum* e *A. scabriusculum* apresentam morfologia floral semelhante e diferem principalmente no número de flores presentes em cada inflorescência. A duração da antese variou entre dois a quatro dias, embora as flores apresentassem receptivas e com recursos apenas no primeiro dia. O néctar é a principal recompensa disponibilizada aos visitantes florais e a dinâmica de produção deste pelas flores das diferentes espécies se mostrou semelhante. As flores iniciaram a produção de néctar juntamente com o início da antese (quando da separação dos lobos da corola) e esta se deu somente uma vez, sendo que após retirado as flores não retornaram a produzi-lo. As espécies de insetos visitantes das flores das espécies de *Anemopaegma* foram as mesmas, independente do local de observação. Os polinizadores efetivos foram abelhas *Centris* e *Euglossa* e os polinizadores ocasionais foram principalmente *Apis mellifera* e *Trigona spinipes*. Todas as espécies de *Anemopaegma* tiveram suas flores danificadas na base da corola por pilhadores de néctar, sendo machos de *Oxaea flavescens* os mais frequentes. As espécies do complexo formaram frutos por autopolinização em proporções semelhantes à frutificação resultante de polinização cruzada e as sementes apresentaram altos índices de germinação independente do tipo de polinização do qual resultaram. Os testes de polinizações interespecíficas indicaram a ocorrência de interfertilidade bilateral entre as espécies que ocorrem simpatricamente nos cerrados do Distrito Federal. As observações de crescimento de tubo polínico e fertilização de óvulos revelaram que os tubos polínicos de autopolinização e polinização cruzada apresentam o mesmo tempo de desenvolvimento e fertilizam os óvulos 24h após a polinização. A produção de frutos maduros foi geralmente limitada a dois por inflorescência, porém a maioria das flores foi convertida em frutos sendo registrado portanto, alto índice de abscisão de frutos. Dos resultados obtidos, conclui-se que as espécies do complexo *Anemopaegma arvense* são auto-compatíveis e interférteis, não apresentando isolamento ecológico ou genético para a formação de progênie híbrida.

**Palavras-chave:** Bignoniaceae, *Anemopaegma*, complexo agâmico, hibridação, melitofila.

## INTRODUÇÃO

Uma das características fundamentais dos seres vivos é a capacidade de reprodução, sendo esta uma condição indispensável para a perpetuação das espécies através da sucessão de gerações por um prolongado período de tempo. A reprodução sexuada é fonte de variabilidade genética, fator responsável para a resposta das espécies às mudanças do ambiente (GRANT 1971).

Nas florestas tropicais, a interação de animais e plantas é essencial para a diversidade genética dentro das populações das espécies através do fluxo gênico realizado via polinização e dispersão de sementes. Nestas florestas, a maioria das espécies vegetais é polinizada por animais (BAWA *et al.* 1985) e a dispersão das sementes é também, em boa parte, realizada por animais frugívoros (HOWE & SMALLWOOD 1982). Esse fato mostra o papel essencial dos animais não só como constituintes da biodiversidade, mas também como construtores da diversidade das espécies vegetais tropicais. O fluxo gênico via pólen e sementes está associado à estrutura genética das populações das espécies arbóreas tropicais, mostrando que a distância de vôo dos polinizadores e dispersores pode prever a variação genética nas espécies em questão (KAGEYAMNA & LEPSCH-CUNHA 2001).

Segundo GENTRY (1976), a grande diversidade de espécies da família Bignoniaceae parece ser amplamente determinada pela competição por polinizadores, sendo que espécies simpátricas da família que utilizam a mesma guilda de vetores de pólen apresentam períodos de floração distintos. Além da separação temporal da floração, as espécies da família mostram diferentes padrões de morfologia floral que estão relacionados com cinco grupos distintos de vetores de pólen: morcegos, beija-flores, mariposas, abelhas de pequeno, médio e grande porte e borboletas (GENTRY 1976). Todas as espécies desta família são zoófilas (GENTRY 1974a) sendo as abelhas os principais polinizadores (GENTRY 1974a).

A polinização, principalmente biótica, além de ser um dos elementos promotores da variabilidade genética das plantas, também é tida como um importante elemento para o isolamento

reprodutivo e a especiação através da fidelidade dos polinizadores a determinados aspectos da flor (GRANT 1971).

Com relação aos eventos pós-polinização, as plantas apresentam estratégias reprodutivas diferenciadas de acordo com o ambiente em que se encontram, e espécies com ampla distribuição geográfica geralmente apresentam diferenças no sistema reprodutivo (GOLDENBERG & SHEPHERD 1998). Em ambientes estáveis, onde não sofrem estresse, e em locais onde os polinizadores têm presença garantida, as plantas apresentam-se preferencialmente alógamas, pois a polinização cruzada garantirá uma maior variabilidade genética (NETTANCOURT 1977; FAEGRI & PIJL 1980; RICHARDS 1986; WYATT 1992). Ao longo da evolução das angiospermas, certas espécies desenvolveram a capacidade de promover a polinização cruzada e de evitar o desenvolvimento de progênie proveniente de autofertilização. Esse processo é chamado de auto-incompatibilidade (NETTANCOURT 1977). A auto-incompatibilidade, mecanismo genético que dificulta ou impede a produção de sementes decorrentes de autopolinização, é um dos principais mecanismos que evoluíram nas angiospermas para promover a variabilidade genética, por meio da polinização cruzada, evitando os efeitos deletérios da autogamia. Constitui um importante mecanismo, principalmente em espécies com flores hermafroditas, encontradas na maioria das angiospermas (CRUDEN & LLOYD 1995).

Estudos realizados até o momento sobre sistema reprodutivo de Bignoniaceae demonstram que a família apresenta alta incidência de auto-incompatibilidade, detectada em mais de 80% das espécies que foram estudadas sob este aspecto (BAWA 1974; STEPHENSON & THOMAS 1977; PETERSEN *et al.* 1982; BULLOCK 1985; BERTIN 1982; BERTIN & SULLIVAN 1988; AMARAL 1992; VIEIRA *et al.* 1992; GIBBS & BIANCHI 1993, 1999; JAMES & KNOX 1993; SINGH & CHAUHAN 1996; BARROS 2001; DUTRA & MACHADO 2001; SOMANATHAN & BORGES 2001; SOLORZANO *et al.* 2002; BITTENCOURT Jr. 2003; BITTENCOURT Jr. *et al.* 2003; BITTENCOURT Jr. & SEMIR 2004; MACHADO & VOGEL 2004; RICHARDSON 2004;

SOMANATHAN *et al.* 2004; BIANCHI *et al.* 2005; BITTENCOURT Jr. & SEMIR 2005; BITTENCOURT Jr. & SEMIR 2006; CARVALHO *et al.* 2007). Os estudos que determinaram o sítio de reação da incompatibilidade (SEAVEY & BAWA 1986; GIBBS & BIANCHI 1993, 1999; BITTENCOURT Jr. 2003; BITTENCOURT Jr. & SEMIR 2005) registraram a ocorrência de auto-incompatibilidade de ação tardia (LSI) *sensu* SEAVEY & BAWA (1986). Neste mecanismo de auto-incompatibilidade, os tubos polínicos de grãos de pólen incompatíveis (pólen da própria planta) crescem ao longo do estilete, alcançam o ovário e, muitas vezes, fertilizam os óvulos, porém, apesar da ocorrência da fertilização, as flores autopolinizadas não formam frutos e abortam em um curto período de tempo após a polinização (SEAVEY & BAWA 1986).

Há controvérsias na literatura sobre a existência de auto-incompatibilidade em plantas. De acordo com KLEKOWSKI (1988) e NIC LUGHADHA (1998), o aborto das flores autopolinizadas não é causado por um processo de auto-incompatibilidade ovariana e, sim, decorrente da depressão endogâmica, na qual o acúmulo de genes deletérios seria o responsável pela falha na formação de frutos e sementes após a autopolinização. Ao contrário destes autores, GIBBS & BIANCHI (1999) afirmam que, os táxons com auto-incompatibilidade de ação tardia se encontram agrupados em determinadas famílias, uma situação análoga à dos mecanismos de auto-incompatibilidade homomórficos. A partir desta observação, os últimos autores sugerem que este é o comportamento esperado em mecanismos controlados por genes, antes de ser simplesmente por acúmulo de alelos recessivos deletérios.

A quebra do sistema de auto-incompatibilidade foi verificada em *Pyrostegia venusta* (GOBATO-RODRIGUES & STORT 1992), *Handroanthus chrysotrichus*, *H. heptaphyllus* (como *Tabebuia chrysotricha* e *T. heptaphylla*, respectivamente, BITTENCOURT Jr. & SEMIR 2005), *Jacaranda oxyphylla* (YANAGIZAWA 1983) e em *Tecoma stans* (DUTRA & MACHADO 2001). Segundo BITTENCOURT Jr. & SEMIR (2005), a produção de frutos provenientes de autopolinização registrada em *Handroanthus chrysotrichus* não seria consequência da quebra do

mecanismo de auto-incompatibilidade e, sim, do estabelecimento dos embriões supranumerários que enviariam uma resposta hormonal positiva à planta-materna para esta prosseguir com o desenvolvimento do fruto.

Outro aspecto reprodutivo importante para a evolução e taxonomia das espécies de Bignoniaceae é a capacidade de hibridação entre espécies simpátricas do mesmo gênero. Estudos que investigaram a possibilidade de hibridação entre espécies simpátricas de *Adenocalymma* (SAMPAIO *et al.* 2008) e *Handroanthus* (BITTENCOURT Jr. 2003) evidenciaram a ausência de barreiras genéticas para a fertilização interespecífica, sendo registradas altas porcentagens de frutos formados e sementes viáveis.

O presente trabalho teve como principal objetivo conhecer o comportamento reprodutivo das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*. Os objetivos específicos foram: (1) conhecer a biologia floral das espécies do complexo por meio de estudos da morfologia floral, da dinâmica da floração e dos recursos disponibilizados para os visitantes; (2) determinar os polinizadores efetivos de cada espécie; (3) determinar o sistema reprodutivo por polinizações controladas; (4) verificar a possibilidade de hibridação entre as espécies simpátricas por polinizações interespecíficas.

## MATERIAL E MÉTODOS

### Espécies estudadas

O gênero *Anemopaegma* é composto por 45 espécies, lianescentes, subarborescentes ou arbustivas, distribuídas em áreas de floresta, cerrado e caatinga do México ao Brasil e Argentina (LOHMANN no prelo). O complexo *Anemopaegma arvense* possui quatro espécies: *Anemopaegma acutifolium* DC., *A. arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza, *A. glaucum* Mart. ex DC e *A. scabriusculum* Mart. ex DC. Tais espécies são encontradas em áreas de cerrado geralmente antropizadas, como

beiras de estrada, e possuem desde hábito subarbusivo, com cerca de 20 cm de altura, até arbustivo com mais de 2 m de altura.

### **Área de estudo**

Os estudos de biologia floral e os testes de biologia reprodutiva foram realizados de agosto de 2005 a janeiro de 2008, em áreas de cerrado de Brasília, Distrito Federal, e em julho de 2006 e maio de 2007 na Chapada Diamantina, Mucugê, Bahia. Em Brasília foram utilizadas duas áreas, sendo consideradas uma principal e outra adicional. A área principal do estudo de campo foi na Reserva Ecológica do IBGE (RECOR-IBGE), que abrangeu áreas de cerrado preservado (dentro da RECOR) e áreas de cerrado antropizado e sujeitas a queimadas periódicas (na beira da estrada no entorno da Reserva). A RECOR/IBGE (15°56'41"S 47°53'07"W) localiza-se na região centro-sul do Distrito Federal, cerca de 35 Km do centro de Brasília. Dados adicionais foram coletados em área de cerrado antropizado e sujeito à queimadas periódicas da Universidade de Brasília (UnB) (15°45'57"S 47°57'22"W). O clima da região de Brasília é tipicamente sazonal, com duas estações bem definidas, uma chuvosa e outra seca. A estação chuvosa começa em setembro/outubro e se prolonga até abril/maio, com precipitação anual média de 1.453 mm. A estação seca começa em maio e termina em setembro, sendo junho, julho e agosto os meses mais secos. Nestas áreas de cerrado da região Centro-Oeste, os estudos foram realizados nas seguintes espécies do complexo: *Anemopaegma acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum*.

Na região Nordeste, os estudos de biologia da polinização e sistema reprodutivo de *Anemopaegma scabriusculum* foram efetuados em duas populações localizadas em áreas de cerrado da Chapada Diamantina. A Chapada Diamantina é a porção baiana da Cadeia do Espinhaço delimitada aproximadamente pelos paralelos 10°43'S e 14°20'S e pelos meridianos 40°40'W e 43°00'W e constituída por um conjunto de serras e regiões com altitude acima de 1.000m. Embora

os campos rupestres dominem a paisagem são encontradas áreas de cerrado, caatinga e matas de galeria constituindo um mosaico vegetacional. Observações adicionais da morfologia floral e dos visitantes de *A. scabriusculum* foram realizadas em uma população nativa da espécie localizada em Luís Eduardo Magalhães, BA (12°18'12"S 46°18'62"W).

### **Biologia floral**

O estudo de biologia floral abrangeu os seguintes aspectos: (1) morfologia floral com medidas dos órgãos vegetativos e reprodutivos; (2) período de abertura das flores; (3) longevidade floral; (4) dinâmica da secreção, quantidade e concentração do néctar; (5) viabilidade polínica.

Aspectos da morfologia floral foram verificados em campo a partir de material fresco e em laboratório, em flores preservadas em álcool 70%. As medidas foram feitas com auxílio de paquímetro digital da marca Mitutoyo em pelo menos cinco flores de cada espécie. Para a realização das medidas foram coletadas flores completamente abertas e com os elementos florais túrgidos apresentando, assim, todos os elementos (vegetativos e reprodutivos) estendidos.

Botões florais em pré-antese foram marcados para monitorar a longevidade floral. Pelo menos 10 botões de cada espécie foram marcados com linha contendo uma etiqueta onde constava o dia em que o botão foi marcado.

Para verificar o período de abertura das flores, botões florais de diferentes indivíduos de cada espécie foram acompanhadas do início da manhã (6:00h) até o entardecer (19:00h).

A dinâmica da secreção, o volume e a concentração do néctar foram medidos em botões florais em pré-antese e flores abertas, com seringa microvolumétrica e refractômetro de bolso da marca ATAGO. As medidas foram realizadas em botões florais e flores isoladas dos visitantes florais, ensacadas com sacos de tule. A dinâmica de secreção do néctar foi determinada por meio da retirada do néctar de botões florais e flores abertas de primeiro e segundo dias, sendo a retirada do néctar realizada sempre na mesma flor em diferentes estágios (ou seja, quando em botão e nos dias

subseqüentes). Já o momento da vida da flor em que o néctar é secretado foi determinado em flores distintas, sendo retirado o néctar somente uma vez do botão ou da flor já aberta (neste caso, flores de segundo dia permaneceram ensacadas e intactas até o segundo dia).

A viabilidade polínica foi determinada em botões em pré-antese armazenados em álcool 70% no momento em que iniciavam a separação dos lobos da corola. Constatou-se previamente que neste período da vida da flor as anteras já se encontravam deiscentes, ou seja, os grãos de pólen já haviam sido liberados. Cinco flores de cada espécie foram coletadas de diferentes indivíduos e de cada flor retirou-se uma antera dos estames superiores e uma antera dos estames inferiores (estames didínamos). Cada antera foi colocada sobre uma lâmina, macerada para a liberação total dos grãos de pólen, corada com corante de Alexander (DAFNI *et al.* 2005) e, mantidas em gelatina glicerinada (lâminas semi-permanentes). Posteriormente, todos os grãos de pólen presentes em cada lâmina foram contados e classificados em viáveis e não viáveis. O número e a viabilidade dos grãos de pólen foram determinados separadamente nas anteras dos estames superiores e inferiores com o propósito de verificar se há diferença de fertilidade entre os estames.

## **Polinização**

A observação dos visitantes florais foi feita durante a realização dos experimentos de polinizações controladas e durante a verificação dos eventos florais. Os visitantes foram classificados em polinizadores efetivos, polinizadores ocasionais e pilhadores, de acordo com a frequência, o tamanho e o comportamento apresentado na flor. Os insetos visitantes foram capturados com auxílio de sacos de tule e mortos por congelamento e/ou fotografados. As observações foram realizadas entre 6:00h da manhã e 19:00h da tarde.

## Biologia reprodutiva

A determinação do sistema reprodutivo das espécies do complexo foi realizada através de testes de polinizações controladas em flores abertas de primeiro dia. Botões em pré-antese foram ensacados com sacos de tule branco e, posteriormente, marcados com linhas de diferentes cores, dependendo do tratamento realizado. Os testes de polinizações controladas realizados foram: (1) *Autopolinização*: pólen retirado da antera de uma flor e depositada no estigma da mesma flor; (2) *Polinização cruzada*: botões em pré-antese foram emasculados e, quando abertos foram polinizados com pólen de flores de outros indivíduos; (3) *Autopolinização espontânea*: os botões florais ensacados permaneceram ensacados até sua senescência; (4) *Agamospermia*: os botões florais ensacados foram emasculados (anteras retiradas) e permaneceram ensacados até a senescência; (5) *Polinização natural*: os botões foram apenas marcados e deixados acessíveis aos polinizadores; (6). *Hibridação*: cruzamento entre espécies distintas, sendo retirado pólen da flor de uma espécie e colocado no estigma da flor de outra espécie; as espécies foram denominadas doadoras e receptoras de pólen, e as flores submetidas a este tratamento foram marcadas com etiqueta, onde constavam os nomes das espécies cruzadas (espécie doadora de pólen primeiro e espécie receptora de pólen depois ex: *A. glaucum* x *A. arvense*).

Após a realização dos tratamentos, acompanhou-se a produção de frutos até sua maturação nas espécies localizadas em Brasília (DF). Já para *A. scabriusculum*, cujas populações localizam-se na Chapada Diamantina (Mucugê-BA), o acompanhamento dos frutos foi feito até 15 dias após as polinizações. Para se estimar o sucesso reprodutivo (conversão de flores em frutos maduros) das espécies do complexo localizadas em Brasília, indivíduos de *A. acutifolium* (N = 10), de *A. arvense* (N = 7) e de *A. glaucum* (N = 10) tiveram o número total de flores e o número total de frutos produzidos quantificados. Os frutos abortados ao longo do desenvolvimento foram coletados e medidos.

Os frutos foram mantidos ensacados até a maturação e, quando maduros, foram coletados e as sementes analisadas quanto ao: (1) número total de sementes produzidas por fruto por tratamento; e (2) número de sementes não viáveis (sem embrião) por fruto por tratamento.

### **Germinação de sementes**

O teste de germinação teve por objetivo verificar a viabilidade das sementes obtidas a partir de diferentes tratamentos de polinização. No primeiro teste de germinação, 333 sementes intactas (com alas) foram acondicionadas em caixas de germinação (GERBOX), contendo papel de germinação umedecido com água destilada. As caixas permaneceram em câmara de germinação (Tecna TEC-401) com temperatura entre 25-27 °C e luz constante por 45 dias. Nos testes subsequentes, 1.366 sementes tiveram suas alas retiradas, permanecendo somente a região do embrião com a testa da semente. Estas foram mantidas em caixas de germinação nas mesmas condições anteriormente citadas.

No total, foram utilizadas 1.699 sementes para o teste de germinação, tendo sido usadas as seguintes quantidades de sementes para cada espécie: *Anemopaegma acutifolium* = 205 sementes; *A. arvense* = 537 sementes; *A. glaucum* = 902 sementes e *A. scabriusculum* = 55 sementes.

## **RESULTADOS**

### **Biologia floral**

#### *Morfologia floral*

As espécies do complexo *Anemopaegma arvense* apresentam flores reunidas em inflorescências paucifloras, racemiformes, axilares e/ou terminais e com número variável de flores.

O número de unidades florais por inflorescência variou de 1 em *A. arvense* e 3-14 nas demais espécies (Figuras 1-5).

As flores destas espécies são semelhantes em forma, cor e recursos oferecidos aos visitantes florais. Diferem principalmente nas dimensões dos elementos florais (Tabela 2) e na textura das sépalas e pétalas, com *A. scabriusculum* apresentando sépalas e pétalas mais crassas que as demais espécies. Possuem cálice cupuliforme, truncado ou curtamente dentado, não justaposto à corola em *A. scabriusculum* e justaposto à corola nas demais espécies, 5-costado, com cinco sépalas desde densamente cobertas por tricomas tectores multicelulares em *A. scabriusculum* e *A. arvense* (variedade pilosa) até glabras nas demais espécies; nectários extranupciais de formato circular estão presentes em número variável na porção mediano-superior do cálice, ladeando as costas presentes no mesmo (Figura 6). A corola é infundibuliforme com cinco pétalas, de cor creme-amarelada na parte externa do tubo, amarelo-escuro na região interna do tubo (fauce) e lobos creme (Figuras 1-5). O tubo é achatado dorso-ventralmente, com dobras longitudinais na parte inferior do tubo, sendo dividido em: porção basal (estreita), região de constrição e porção mediano-apical (parte mais alargada do tubo). A porção basal do tubo apresenta-se glabra externamente e constitui a câmara nectarífera, ou seja, a região onde o néctar é acumulado. A região mediano-apical do tubo possui aparência rugosa na face externa, devido à presença de tricomas glandulares que cobrem toda a superfície. Assim como no cálice, há nectários extranupciais, em número variável, na parte apical externa do tubo e nos lobos da corola (Figura 7). Internamente, o tubo corolino é glabro, exceto na região de constrição, onde há tricomas glandulares capitados, semelhantes aos encontrados no estaminódio de espécies de *Jacaranda* (GUIMARÃES *et al.* 2008), com base multicelular não secretora e ápice contendo secreção amarela (Figura 9). Esta região de constrição densamente pilosa provavelmente restringe o acesso ao néctar, depositado na câmara nectarífera, aos visitantes florais mais adaptados. Os elementos reprodutivos encontram-se inclusos e dispostos em contato com a parte superior do tubo da corola. Os estames são em número de quatro, epipétalos, didínamos e

possuem anteras divaricatas e introrsas (voltadas para dentro, ficando em contato com o estilete) (Figura 8). Além dos quatro estames férteis, o androceu também é composto por um estaminódio, de tamanho reduzido, filiforme e com ápice espatulado (Figura 9). Tanto os estames quanto o estaminódio são glabros em sua maior extensão, exceto na região de inserção na corola, que condiz com a região de constrição da corola, onde estão localizados os tricomas glandulares capitados (Figura 9). O gineceu é composto por estigma bilobado, sensitivo, de cor creme, estilete filiforme, glabro e de cor creme, e ovário bicarpelar e bilocular, com número variável de óvulos dispostos em séries em cada carpelo, de coloração creme-amarronzado (distinta do estilete) (Figura 10), coberto por tricomas glandulares escamiformes. Presença de disco nectarífero anular na base do ovário.

**Tabela 1.** Dimensões florais (em mm) das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*. Média e desvio padrão de comprimento e largura.

	<i>A. acutifolium</i>	<i>A. arvense</i>	<i>A. glaucum</i>	<i>A. scabriusculum</i>
<b>CÁLICE</b>				
Comprimento	11,4±0,92	9,2±1,38	11,6±1,64	10,2±0,84
Largura	7,3±1,42	6,56±1,2	7,63±0,84	7,89±0,81
<b>COROLA</b>				
<i>Câmara nectarífera</i>				
Comprimento	12,3±2,12	13,2±2,12	12,5±2,3	13,6±1,14
Largura	5,2±0,55	3,6±0,74	5,02±0,71	4,72±0,84
<i>Tube</i>				
Comprimento	33,7±3,25	36,6±5,27	36,1±4,15	37,1±5,32
Largura	13,8±1,82	14,8±2,58	15,74±2,4	17,3±2,12
<i>Lobos</i>				
Comprimento	10,1±0,75	9,64±1,3	8,94±1,42	11,2±0,62
<b>ANDROCEU</b>				
<i>Estame superior</i> (comprimento)	20,9±1,88	22,2±1,25	24,0±1,44	25,3±2,37
<i>Antera do estame superior</i> (comprimento)	4,3±0,19	4,2±0,37	4,5±0,34	4,63±0,61
<i>Estame inferior</i> (comprimento)	15,4±1,96	16,7±1,62	17,4±1,79	19,1±1,95
<i>Antera do estame inferior</i> (comprimento)	4,2±0,27	3,9±0,37	4,28±0,33	4,2±1,01
<i>Estaminódio</i> (comprimento)	5,9±0,52	7,4±0,92	6,41±1,01	4,55±0,69
<i>Viabilidade polínica (%)</i>				
Anteras superiores	75,48	90,26	87,53	74,19
Anteras inferiores	75,13	90,61	89,23	72,41
<b>GINECEU</b>				
<i>Lobos do estigma</i>				
Comprimento	3,6±0,36	3,16±0,52	3,18±0,52	3,44±0,74
Largura	2,5±0,4	2,0±0,49	2,4±0,35	2,6±0,61
<i>Estilete</i> (comprimento)	27,8±1,64	29,3±2,75	30,7±2,6	37±4,95
<i>Ovário</i>				
Comprimento	2,9±0,35	2,76±0,39	3,4±0,7	3,45±0,42
Largura	1,8±0,17	1,7±0,12	2,28±0,35	2,04±0,35

### *Antese e longevidade floral*

Em todas as espécies, cada inflorescência apresentou de uma a três flores em antese por dia. Entretanto, indivíduos que floresceram após a passagem do fogo em áreas antropizadas disponibilizaram maior número de flores por inflorescência em antese a cada dia. A abertura das flores foi verificada ao longo do dia, porém ocorreu principalmente no período da manhã a partir das 6:00h, na presença de sol ou claridade. No momento da separação dos lobos da corola, as anteras já estão deiscentes e liberando pólen e o estigma já se encontra receptivo com os dois lobos separados.

A longevidade floral foi bastante variável entre as espécies do complexo, sendo de 48 horas em *Anemopaegma arvense* que apresenta flores mais delicadas, até 96 horas em *A. scabriusculum*, com flores mais resistentes. Ao longo da vida da flor, a corola não sofreu alterações visualmente perceptíveis, como mudança de coloração no entanto, esta se destaca do receptáculo floral no último dia de antese (48 a 96 horas). Os estames caem juntamente com a corola e, em flores adequadamente polinizadas, a porção superior do gineceu (estigma e estilete) se destaca do ovário no mesmo momento da abscisão da corola ou no dia seguinte, permanecendo, o cálice, que persiste até o fruto maduro.

### *Recursos florais*

As flores das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* não liberam odor e apresentam uma produção copiosa de néctar, que é o principal recurso para os visitantes florais. Na maioria das flores, a produção de néctar iniciou juntamente com o início da antese, ou seja, quando ocorre a abertura dos lobos da corola (Figuras 15-17). Em botões em pré-antese, o néctar estava ausente ou em pequena quantidade (cerca de 1 µl). A quantidade de néctar encontrada nas flores de primeiro e segundo dias variou bastante entre as espécies e entre as flores da mesma espécie. A menor produção de néctar foi encontrada em flores de *Anemopaegma arvense*, as quais produziram no

máximo 49  $\mu\text{l}$  por flor, com média de 15,7  $\mu\text{l}$ . Já os maiores valores de néctar por flor (90  $\mu\text{l}$ ) e produção média de néctar (29,5 $\mu\text{l}$ ) foram encontrados em *A. scabriusculum* (Tabela 2).

A concentração do néctar foi semelhante em *Anemopaegma acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum*, e menor em *A. scabriusculum* (Tabela 2).

Cada flor produz néctar uma vez ao longo de sua vida, sendo que no dia seguinte ao da retirada do néctar, as flores não apresentaram mais este recurso ou este era escasso (Figuras 11-14).

**Tabela 2.** Produção de néctar das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*.

Espécie	Volume ( $\mu\text{l}$ )		Concentração (%)	
	Mín-Máx	Média	Mín-Máx	Média
<i>A. acutifolium</i>	13 – 57,5	22,6	18 - 24	21,5
<i>A. arvense</i>	15 – 49	15,7	19 - 28	22
<i>A. glaucum</i>	10 – 77,5	24,8	18 - 28	23,2
<i>A. scabriusculum</i>	10 - 90	29,5	11 - 23	17

### *Visitantes florais*

Independente da espécie ou do local de observação, as plantas foram visitadas principalmente por abelhas (Tabela 3). Além das sete espécies de abelhas, configuraram como visitantes: formigas que visitaram os nectários extranupciais presentes no cálice e na corola, borboletas em raras visitas às flores de *A. acutifolium* (RECOR/IBGE, Brasília, DF), e uma espécie de beija-flor, visitante frequente nas flores de *A. scabriusculum* (Chapada Diamantina, Mucugê, BA).

Os visitantes florais foram classificados em polinizador efetivo, polinizador ocasional e pilhador de acordo com suas dimensões corporais e comportamento ao visitar as flores. As abelhas *Apis mellifera*, *Centris trigonoides* e *Euglossa melanotricha* (macho e fêmea) foram consideradas

polinizadores efetivos por apresentarem comportamento e/ou tamanho adequados para tocar os órgãos reprodutivos das flores e, assim, efetuarem a polinização. Indivíduos de *Centris trigonoides* e *Euglossa melanotricha* aproximavam-se das flores, pousavam no lobo inferior da corola (plataforma de pouso) e entravam no tubo floral caminhando em direção à base da corola. Após a coleta de néctar (recurso procurado por estas abelhas), as abelhas voltavam de ré até alcançarem o lobo inferior da corola e voavam para uma outra flor do mesmo indivíduo ou de outro indivíduo. No momento da entrada na flor, as abelhas depositavam o pólen que carregavam em sua parte dorsal no estigma (que está localizado acima das anteras, Figura 8) e, posteriormente, passavam pelas anteras onde capturavam o pólen da flor. As visitas destas espécies de abelhas foram raras e ocorreram entre 9:30h da manhã e 13:00h da tarde nas espécies *A. acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum*, localizadas em Brasília (RECOR/IBGE e UnB), e foram mais frequentes até meados do período vespertino (15:30h) nas populações de *A. scabriusculum* localizadas na Chapada Diamantina. As visitas de *Apis mellifera*, também considerada polinizador efetivo, foram registradas no período da manhã, principalmente no início da manhã entre 6:30h e 9:00h às flores de *A. acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum*, localizadas em Brasília (RECOR/IBGE e UnB), e durante todo o dia nas flores de *A. scabriusculum* (Chapada Diamantina). Apesar de ser considerada polinizador efetivo, os indivíduos de *Apis mellifera* apresentaram comportamento distinto de *Centris* e *Euglossa* para efetuar a polinização. Estas abelhas mostraram comportamento de aproximação e saída das flores semelhantes às das duas outras espécies, porém após aterrissarem no lobo inferior da corola estas abelhas caminhavam para os lobos superiores (pela parte externa da flor) e quando chegavam à parte superior da flor, caminhavam para dentro do tubo, de cabeça para baixo, até alcançarem os elementos reprodutivos da flor (Figura 18). Portanto, enquanto *Centris trigonoides* e *Euglossa melanotricha* carregam o pólen no dorso, *Apis mellifera* carrega a carga de pólen na região ventral.

A classificação de *Trigona spinipes*, tanto como pilhadora de néctar e pólen como polinizador ocasional, deveu-se à variação de seu comportamento. O comportamento de *Trigona spinipes* diferiu tanto entre as visitas às flores de uma mesma espécie de *Anemopaegma* quanto entre as diferentes espécies de plantas. Nas espécies localizadas em Brasília (*A. acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum*), estas abelhas foram consideradas pilhadoras de néctar quando pousavam no lobo inferior da corola e caminhavam para dentro do tubo até sua base para a coleta de néctar. Depois de coletar o recurso, estas saíam de ré da flor, alcançavam o lobo inferior da corola e voavam para outra flor da mesma planta ou de outra planta. Porém, *Trigona* foi considerada polinizadora ocasional quando esta pousava no lobo inferior da corola, andava pelos lobos até a parte superior da flor e ficava de ponta cabeça na parte superior da flor. Quando chegava no lobo superior, a abelha caminhava para dentro do tubo até chegar ao estigma e às anteras, onde coletava o pólen e, neste momento, também depositava pólen no estigma com a porção ventral do tórax (Figuras 19-20).

Nas flores de *A. scabriusculum*, os indivíduos de *Trigona spinipes* foram considerados somente pilhadores de néctar. Diferente do comportamento observado nas outras espécies de *Anemopaegma*, estas abelhas pilhavam o néctar produzido pelas flores de *A. scabriusculum* através da abertura de um orifício circular na base da corola que elas faziam quando comiam esta porção do tubo da corola (Figura 22).

A abelha *Oxaea flavescens* foi considerada pilhadora primária das flores de todas as espécies de *Anemopaegma*. Suas visitas foram constantes ao longo do período de floração e assim como as abelhas polinizadoras, mostrou diferença no período de visita às flores das espécies localizadas em Brasília quando comparado ao período de visita às flores de *A. scabriusculum*. Nas populações das espécies de Brasília, as visitas ocorreram principalmente no período da manhã, sendo raras no período vespertino. Já em *A. scabriusculum*, observou-se intensa visitação desta abelha também no período da tarde. Para a pilhagem do néctar, os machos de *Oxaea flavescens*, em visitas aos botões

em pré-antese e flores abertas, pousavam na parte superior do tubo da corola, próximo aos lobos, e caminhavam até a base do tubo, onde faziam uma fenda longitudinal.

Em uma população de *A. sacbriusculum*, foram observadas várias visitas de um beija-flor. De acordo com seu comportamento de pairar sobre a flor e retirar o néctar das flores introduzindo o bico na fenda previamente feita pela abelha *Oxaea flavescens*, ele foi considerado pilhador secundário. Nenhuma visita de beija-flor foi registrada nas demais espécies de *Anemopaegma*.

Formigas foram frequentemente observadas em botões florais e em frutos jovens das espécies de *Anemopaegma*. Elas caminhavam sobre o cálice e a corola e sobre o pericarpo do fruto imaturo, regiões com grande concentração de nectários extranupciais.

Uma única visita de uma borboleta à flor de *A. acutifolium* foi registrada, mas não foi observada sua entrada na flor, nem qualquer comportamento de coleta de néctar, sendo portanto, não classificada em qualquer categoria acima..

**Tabela 3.** Visitantes das flores das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*.

<i>Família</i>	<i>Espécie</i>	<i>Sexo</i>	<i>Categoria</i>	<i>Recurso</i>
Andrenidae	<i>Oxaea flavescens</i> Klug.	Macho	Pilhador	Néctar
Apidae	<i>Apis mellifera</i> L.	-	Polinizador efetivo	Pólen
	<i>Ceratina</i> sp.	Fêmes	Pilhador	Néctar
	<i>Centris trigonoides</i> Lepeletier	Macho	Polinizador efetivo	Néctar
	<i>Euglossa melanotricha</i> Moure	Macho	Polinizador efetivo	Néctar
	<i>Euglossa</i> cf. <i>melanotricha</i> Moure	Fêmea	Polinizador efetivo	Néctar
	<i>Exomalopsis fulvofasciata</i> Smith	Fêmea	Pilhador	Néctar
	<i>Trigona spinipes</i> Fabricius	Operária	Polinizador/Pilhador	Néctar/Pólen

## Sistema reprodutivo

Os resultados dos experimentos de polinizações controladas são mostrados na Tabela 4. As espécies do complexo *Anemopaegma arvense* produziram quantidades semelhantes de frutos nos tratamentos de autopolinização e polinização cruzada. A produção de frutos a partir de polinização natural foi mais baixa em *A. acutifolium* e em *A. scabriusculum*, e mais alta em *A. arvense*, quando comparada às polinizações manuais. Não houve formação de frutos a partir de autopolinização espontânea e de agamospermia evidenciando, assim, a necessidade da deposição de pólen no estigma por agentes polinizadores e da fertilização para a formação de frutos.

**Tabela 4.** Formação de frutos nas espécies do complexo *Anemopaegma arvense* a partir de polinização natural e de polinizações controladas.

Espécie	Autopolinização			Polinização cruzada			Polinização natural			Polinização automática			Agamospermia		
	NFl	NFr	%	NFl	NFr	%	NFl	NFr	%	NFl	NFr	%	NFl	NFr	%
<i>A. acutifolium</i>	161	84	52,2	94	51	54,2	838	291	35	48	0	0	56	0	0
<i>A. arvense</i>	87	48	55,2	90	42	46,6	117	67	57,2	36	0	0	28	0	0
<i>A. glaucum</i>	178	80	44,9	106	46	43,4	888	421	47,4	42	0	0	45	0	0
<i>A. scabriusculum</i>	57	48	84,2	43	36	83,7	133	61	45,8	28	0	0	22	0	0

Flores das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* submetidas à autopolinização e à polinização cruzada foram coletadas em diferentes intervalos (24h, 48h e 72h) após a polinização para a observação do crescimento de tubos polínicos e da fertilização dos óvulos por microscopia de fluorescência. As observações foram realizadas em pelo menos 10 flores de cada tratamento e de cada horário para cada espécie. Os tubos polínicos emitidos após autopolinização e polinização cruzada se encontram na base do estilete, e fertilizam os óvulos 24 horas após a polinização (Figuras 23-27).

A porcentagem de frutos formados, ou seja, a conversão de flores em frutos (Figuras 32-33) registrada nas espécies do complexo *Anemopaegma arvense*, foi acima de 35% (Tabela 4). Porém, a produção de frutos maduros (sucesso reprodutivo), observada nas espécies *Anemopaegma acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum* em que foi possível o acompanhamento dos frutos desde a formação até a maturação, variou de 3,7% a 41,3 % com relação ao número total de flores produzidas por indivíduo, sendo encontrado o maior sucesso reprodutivo em *A. arvense* (Tabela 5; Figuras 42-44). Entre os tratamentos de polinização, verificou-se maior sucesso reprodutivo a partir de autopolinização nas três espécies (Tabela 5).

De modo geral, as espécies apresentaram uma alta porcentagem de frutos abortados (porcentagem registrada a partir da quantidade de frutos formados), sendo registrado até 100% em alguns indivíduos (Tabela 5; Figuras 31, 36, 41). O aborto de frutos se mostrou semelhante entre autopolinização e polinização cruzada, porém, foi mais pronunciada em frutos provenientes de polinização natural (Tabela 5). Independente da origem do pólen, o número de frutos maduros produzidos por inflorescência ou por ramo (no caso de *A. arvense*) foi limitado, sendo geralmente observado no máximo dois (Figuras 28-29, 34, 37-39). Os frutos abortados foram coletados e medidos. O processo de abortamento de frutos ocorre ao longo do seu desenvolvimento (Figuras 31, 36, 45-47). Porém, nota-se que a abscisão dos frutos ocorre principalmente no início do desenvolvimento, cerca de dois meses após a polinização, quando os frutos possuem até três centímetros de comprimento (Figuras 45-47).

**Tabela 5.** Produção e aborto de frutos nas espécies do complexo *Anemopaegma arvense* localizadas em áreas de Cerrado de Brasília, DF. FrF = número de frutos formados; FrM = número de frutos maduros; SR = sucesso reprodutivo (porcentagem de frutos desenvolvidos e maduros a partir do número total de flores utilizadas por tratamento); AB = porcentagem de frutos abortados a partir do número de frutos formados.

Espécie	Autopolinização				Polinização cruzada				Polinização natural			
	FrF	FrM	SR (%)	AB (%)	FrF	FrM	SR (%)	AB (%)	FrF	FrM	SR (%)	AB (%)
<i>A. acutifolium</i>	84	45	27,95	46,4	51	24	25,5	52,95	291	112	13,36	60,82
<i>A. arvense</i>	48	36	41,37	25	42	30	33,3	28,6	67	33	28,2	50,74
<i>A. glaucum</i>	80	51	28,65	36,25	46	25	23,5	45,65	421	148	3,71	64,84

#### *Produção de sementes*

Os frutos maduros em início de deiscência foram coletados para análise das sementes produzidas. A quantidade de sementes produzidas por fruto a partir de diferentes tratamentos de polinização se mostrou semelhante (Tabela 6). Em *Anemopaegma acutifolium* houve uma maior produção de sementes em frutos provenientes de polinização natural (Tabela 6), porém essa diferença não se mostrou estatisticamente significativa ( $F = 3.4421$ ;  $p = 0.0257$ ). Já *Anemopaegma arvense* mostrou uma maior produção de sementes em frutos provenientes de autopolinização, sendo significativamente diferente de polinização cruzada e polinização natural ( $F = 3.9653$ ;  $p < 0.025$ ). Entretanto, a produção de sementes por polinização cruzada foi semelhante ao de polinização natural. Em *A. glaucum*, a maior produção de sementes por fruto foi observada em frutos provenientes de polinização cruzada, porém a diferença constatada não se mostrou estatisticamente significativa ( $F = 0.6349$ ;  $p = 0.5378$ ).

A partir das dimensões apresentadas e da presença/ausência de embriões, as sementes foram classificadas em três categorias: (1) Sementes viáveis: com tamanho normal para cada espécie e

presença de embrião desenvolvido; para *A. acutifolium* as sementes consideradas viáveis apresentam comprimento e largura de  $39,7 \pm 3,52 \times 48,4 \pm 3,39$ mm, e embriões com comprimento e largura igual a  $8,74 \pm 0,89 \times 10,72 \pm 1,33$ mm; para *A. arvense* as sementes consideradas viáveis apresentam comprimento e largura de  $31,62 \pm 2,9 \times 38,07 \pm 6,05$ mm e embriões com  $12,9 \pm 12,14 \pm 1,68$ mm de comprimento e largura, respectivamente; para *A. glaucum*, as sementes consideradas viáveis apresentam comprimento e largura de  $41,92 \pm 4,18 \times 47,04 \pm 5,26$ mm e os embriões com  $12,54 \pm 7,84 \times 12,89 \pm 7,42$ mm; para *A. scabriusculum*, as sementes consideradas viáveis apresentam comprimento e largura de  $21,66 \pm 2,61 \times 23,83 \pm 2,05$ mm, e embriões com  $4,04 \pm 0,61 \times 5,6 \pm 0,75$  mm. (2) Sementes inviáveis: sementes que possuem as dimensões supracitadas, porém não apresentam embrião e ou este é atrofiado. (3) Sementes abortadas: sementes com tamanho reduzido ( $6,97 \pm 3,08 \times 6,5 \pm 2,03$ mm de comprimento e largura, respectivamente) e sem embrião.

O número de sementes que produziram embrião atrofiado ou que não apresentavam embrião (sementes inviáveis e abortadas) produzido por fruto variou entre os tratamentos em *Anemopaegma acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum* (Figuras 48-57), e também entre os frutos do mesmo tratamento em todas as espécies (Figuras 48-58). Nestas espécies, a maior porcentagem de sementes abortadas por fruto foi observada em frutos provenientes de polinização natural (Tabela 6); porém, a diferença encontrada não foi significativa nas espécies ( $F = 0.3943$ ;  $p = 0.7611$  para *A. acutifolium*;  $F = 2.0565$ ;  $p = 0.1427$  para *A. arvense*;  $F = 0.5252$ ;  $p = 0.5992$  para *A. glaucum*). Constatou-se uma maior porcentagem de sementes inviáveis e abortadas produzidas por polinização natural em *A. scabriusculum* (Tabela 6, Figura 59), sendo esta diferença significativa ( $F = 26.2796$ ;  $p < 0.01$ ). Não houve diferença significativa entre as demais espécies.

**Tabela 6.** Produção média de sementes por fruto e quantificação de sementes não viáveis (sem embriões) após diferentes tratamentos de polinização (controlada e natural) nas espécies do complexo *Anemopaegma arvense*. NS = número médio de sementes produzidas por fruto; SNV = número médio de sementes não viáveis (sem embrião); % = porcentagem média de sementes não viáveis.

Espécie	Autopolinização			Polinização cruzada			Polinização natural			Hibridação		
	NS	SNV	%	NS	SNV	%	NS	SNV	%	NS	SNV	%
<i>A. acutifolium</i>	15,4	2,4	16,1	12,5	2,5	19,54	17,9	3,7	22,1	12,75	2	17,27
<i>A. arvense</i>	21	1,2	5,58	15,3	0,16	1,04	16,2	2,7	16,35	-	-	-
<i>A. glaucum</i>	21,5	1,67	7,83	24,3	2,5	9,7	23,05	2,1	10,01	-	-	-
<i>A. scabriusculum</i>	-	-	-	-	-	-	36	13,6	34,84	-	-	-

#### *Polinizações interespecíficas*

Os resultados das polinizações interespecíficas nas espécies simpátricas de *Anemopaegma* localizadas em áreas de cerrado de Brasília (DF) são apresentados na Tabela 7. A formação de frutos foi verificada em todos os cruzamentos independente das espécies doadoras e receptoras de pólen. A porcentagem de frutos que atingiram a maturação a partir de tais cruzamentos foi igual à de frutos formados nos cruzamentos entre *A. arvense* e *A. acutifolium*, *A. glaucum* e *A. arvense* e vice-versa, e *A. acutifolium* e *A. glaucum*, ocorrendo nestes casos a maturação de 100% dos frutos formados. Já no cruzamento de *A. glaucum* e *A. acutifolium* houve a abscisão de 66,67% dos frutos formados, e *A. acutifolium* e *A. arvense* esse percentual foi de 50%. A maioria das sementes produzidas em tais frutos apresentou morfologia normal e com embriões desenvolvidos. A porcentagem de sementes inviáveis e abortadas foi menor que 20%, resultado semelhante ao encontrado em polinizações intraespecíficas.

**Tabela 7.** Produção de frutos por polinizações interespecíficas em espécies simpátricas de *Anemopaegma* localizadas em Brasília, DF.

<b>Espécie doadora de pólen</b>	<b>Espécie polinizada</b>	<b>Número de flores</b>	<b>Número de frutos formados (%)</b>
<i>A. arvense</i>	<i>A. acutifolium</i>	23	11 (47,82)
<i>A. glaucum</i>	<i>A. acutifolium</i>	40	21 (52,5)
<i>A. acutifolium</i>	<i>A. arvense</i>	24	14 (58,34)
<i>A. glaucum</i>	<i>A. arvense</i>	20	14 (70)
<i>A. acutifolium</i>	<i>A. glaucum</i>	21	3 (14,28)
<i>A. arvense</i>	<i>A. glaucum</i>	26	12 (46,15)

## Germinação

A porcentagem de germinação registrada em todas as espécies e em todos os tratamentos de polinização foi acima de 50% (Tabela 8). Para os experimentos de germinação, as sementes submetidas ao teste estavam intactas ou tiveram suas alas retiradas. As sementes intactas não germinaram em um período de 15 dias e se encontravam podres. Já nas sementes que tiveram suas alas retiradas, a protrusão da raiz foi observada cinco a sete dias após o início do teste.

As sementes provenientes de polinização natural de todas as espécies mostraram percentuais semelhantes de germinação. Entretanto, a comparação do percentual de germinação entre as sementes de *A. glaucum* provenientes de diferentes tratamentos mostrou que a autopolinização gerou sementes com maior capacidade de germinação (Tabela 8).

**Tabela 8.** Porcentagem de germinação das sementes das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* provenientes de polinizações natural e controladas.

Espécie	Autopolinização				Polinização cruzada				Polinização natural			
	C/Ala	%G	S/Ala	%G	C/Ala	%G	S/Ala	%G	C/Ala	%G	S/Ala	%G
<i>A. acutifolium</i>	30	0	-	-	-	-	-	-	45	0	92	65,21
<i>A. arvense</i>	22	0	99	53,53	10	0	130	52,3	68	0	208	62,98
<i>A. glaucum</i>	-	-	25	84	15	0	164	50,6	143	0	530	72,64
<i>A. scabriusculum</i>	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	55	70,9

## DISCUSSÃO

### *Biologia floral*

As espécies do complexo *Anemopaegma arvense* apresentaram morfologia floral similar que, segundo a classificação de GENTRY (1974a) é do tipo *Anemopaegma*. Segundo o autor, este é o tipo floral mais basal encontrado em Bignoniaceae e tem como características corola membranácea, pubescente, lepidota ou glabra externamente, de coloração variada, ápice da corola aberto, anteras inclusas e produção de néctar como principal recurso. A similaridade floral de espécies congêneras e simpátricas é vista como uma estratégia para aumentar a densidade floral e a atração dos polinizadores (BARROS 2001). Entretanto, a similaridade floral no caso supracitado tem um efeito negativo na reprodução e na história evolutiva das plantas já que intensifica o fluxo de pólen interespecífico, causando uma perda de flores em espécies interestéreis (WASER 1983), ou promove a hibridação de espécies interférteis (GRANT 1949).

Apesar da similaridade, as flores das espécies diferiram principalmente na forma e textura do cálice e na textura da corola. Quanto à textura, o cálice e a corola das flores de *Anemopaegma scabriusculum* são mais espessos que das demais espécies. O cálice de *A. scabriusculum* não é justaposto à corola, enquanto que nas outras espécies este elemento apresenta-se justaposto à corola

de modo a não haver espaço entre os dois elementos florais. Em Bignoniaceae, a morfologia do cálice apresenta grande diversidade de formas e é considerada um importante caráter taxonômico (SANDWITH & HUNT 1974; GENTRY 1980). Evolutivamente, o cálice teria um significado adaptativo para a proteção do ovário e do néctar contra os pilhadores. Deste modo, cálices espessos ou não justapostos à corola (inflados) dificultariam o acesso dos pilhadores ao néctar. Este significado adaptativo do cálice não pode ser aplicado às espécies do complexo *Anemopaegma arvense*, já que todas apresentaram alta incidência de pilhagem em suas flores.

A longevidade floral, período em que a flor permanece aberta e atrativa aos visitantes, observada nas flores das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* variou de 48 horas a 96 horas, sendo a menor longevidade registrada nas flores estruturalmente mais delicadas de *A. arvense*. A mesma duração da flor observada em *A. arvense* foi registrada para *A. chamberlainii* (AMARAL 1992; CORREIA *et al.* 2006) e as demais espécies do complexo apresentaram flores com a mesma duração que as flores de *A. laeve* (CARVALHO *et al.* 2007). Este caráter floral parece ser bastante variável entre as espécies de Bignoniaceae (AMARAL 1992; BITTENCOURT Jr. 2003; GALETTO *et al.* 1994, CORREIA *et al.* 2006), assim como nas angiospermas em geral. De acordo com PRIMACK (1985) e ASHMAN & SCHOEN (1994), a longevidade de uma flor afeta diretamente o sucesso reprodutivo da espécie, pois determina a capacidade de atração dos polinizadores (através do “display” floral), a possibilidade da flor ser polinizada e sua contribuição individual para a oferta de pólen. Vários estudos sugerem que a longevidade floral pode ser um caráter adaptativo às condições ecológicas, onde fatores abióticos como temperatura e disponibilidade de água, fatores bióticos como especificidade de polinização (generalista x especialista), assim como fatores intrínsecos (sistema reprodutivo – autoincompatíveis x autocompatíveis) podem ter um importante efeito na seleção desta característica floral (PRIMACK 1985; ASHMAN & SCHOEN 1994; SATO 2002; CASTRO *et al.* 2008). Para as espécies do gênero *Anemopaegma*, o polinizador parece ser o fator determinante da longevidade floral, já que a única

característica compartilhada pelas espécies do complexo e *A. chamberlaynii* e *A. laeve* é a guilda de polinizadores efetivos (abelhas de língua longa), pois *A. chamberlaynii* e *A. laeve* são lianas de mata e da caatinga, respectivamente, e as espécies do complexo são arbustos e subarbustos de cerrado.

O néctar é considerado o recurso mais importante oferecido pelas plantas aos seus visitantes (GALETTO & BERNARDELLO 2004) e possui papel essencial nas interações planta-animal (CRUDEN *et al.* 1983). Características do néctar, como volume, concentração, composição e padrões de produção pelas flores, afetam diversos aspectos do comportamento e da ecologia dos animais nectarívoros (CRUDEN *et al.* 1983; GALETTO *et al.* 1994). Segundo BAKER & BAKER (1983), as diferenças na concentração e na composição do néctar são coadaptações aos principais grupos de polinizadores das espécies de plantas. Outra resposta adaptativa refere-se à disponibilidade de néctar ao longo da vida da flor como a reativação da sua secreção após a remoção deste e interrupção da produção deste recurso quando os polinizadores estão inativos ou após a polinização (CRUDEN *et al.* 1983). A variação na disponibilidade de néctar ao longo da vida da flor deve-se ao alto investimento da planta para a produção deste recurso (PYKE 1991). De acordo com SOUTHWICK (1984), a produção de néctar em *Asclepias syriaca* (Apocynaceae) consome até 37% da energia fotossintética da planta. As flores das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* mostraram grande variação na quantidade produzida e na concentração de néctar; entretanto, foram constantes quanto à dinâmica de produção do recurso. De acordo com CRUDEN (1983) e HEIRINCH & RAVEN (1972), a quantidade de néctar produzido pode estar sob influência de diversos fatores além dos polinizadores como densidade floral, hábitat, sistema reprodutivo e pilhadores de néctar. A concentração do néctar, apesar de ter se mostrado variável, não ultrapassou 30% nas flores das espécies do complexo. Em Bignoniaceae, o caráter adaptativo da concentração do néctar à guilda de polinizadores sugerido por BAKER & BAKER (1983) parece não ser confirmado, sendo demonstrado por GALETTO (1995, dados não publicados) que a concentração

do néctar produzido por espécies melitófilas e ornitófilas desta família é semelhante. Quanto à dinâmica da produção de néctar, as espécies do complexo *Anemopaegma arvense* apresentaram comportamento semelhante, cessando a produção do recurso após a total retirada deste. Apesar da influência no comportamento do polinizador, os padrões de produção e o efeito da remoção do néctar na produção deste não têm sido muito enfatizados em estudos de biologia floral. Em Bignoniaceae, o estudo sobre a dinâmica da produção de néctar de *Pyrostegia venusta* foi realizado por GALETTO *et al.* (1994). Ao contrário das espécies de *Anemopaegma* aqui estudadas, *Pyrostegia venusta* mostrou aumento na produção do recurso após esse ser retirado artificialmente da flor várias vezes.

A disponibilidade de néctar para os visitantes florais por um curto período de tempo (somente nas primeiras horas de antese) e a ausência de mudanças no aspecto geral da flor (principalmente da corola) parecem ser estratégias que as espécies do complexo *Anemopaegma arvense* utilizam para assegurar a atração dos polinizadores por toda a vida da flor e, ao mesmo tempo, minimizar o gasto de energia com a produção de recursos. Assim, as flores que já não apresentam recursos, mas que conservam as mesmas características visuais das flores com recurso, terão as mesmas possibilidades de serem visitadas e polinizadas que as flores que disponibilizam néctar.

#### *Visitantes florais*

As espécies do complexo *Anemopaegma arvense* foram polinizadas efetivamente por abelhas *Centris trigonoides* e *Euglossa melanotricha*. GENTRY (1974a, b) destacou a importância das abelhas *Euglossa* para a polinização das espécies de Bignoniaceae da América Central, considerando as fêmeas de Euglossini como os agentes polinizadores mais importantes para as espécies do Panamá e da Costa Rica com fenologia cornucópia. AMARAL (1992) registrou a polinização das espécies da tribo Bignonieae que apresentam morfologia floral do tipo

*Anemopaegma* (*sensu* Gentry) sendo realizada predominantemente por abelhas de língua longa como *Euglossa*.

Poucos estudos de ecologia da polinização abrangem diferentes áreas de observação ao longo da distribuição da espécie vegetal em questão (BORBA & SEMIR 2001). No presente estudo, as espécies do complexo *Anemopaegma arvense* localizadas em diferentes áreas de observação (duas áreas em Brasília e duas na Bahia) revelaram uma constância na guilda de polinizadores e de alguns pilhadores de néctar. Esses resultados sugerem uma íntima relação das flores de *Anemopaegma* com tais insetos visitantes.

O compartilhamento das mesmas espécies de polinizadores juntamente com a similaridade floral, a sobreposição no período de floração (Capítulo 5) e a ausência de barreiras genéticas para o cruzamento mostrado pelas espécies simpátricas do complexo *Anemopaegma arvense* facilitam a hibridação entre tais espécies. Segundo GRANT (1949), espécies filogeneticamente próximas, interférteis e que ocorrem simpatricamente geralmente mantêm sua identidade através de mecanismos que impedem ou dificultam a polinização interespecífica. Estes mecanismos consistem de barreiras para a polinização interespecífica impostas pela estrutura floral que impede que o pólen de uma espécie alcance o estigma da outra espécie (isolamento mecânico) ou imposto pela preferência e constância de um determinado polinizador à flor de uma única espécie (isolamento etológico). Neste último caso, a preferência dos polinizadores é determinada por caracteres florais como disponibilidade de recursos, odor ou coloração diferencial nas pétalas (BROYLES *et al.* 1996). Portanto, a ausência de isolamento mecânico, etológico ou genético para o cruzamento entre as espécies simpátricas do complexo *Anemopaegma arvense* explicam o surgimento de vários indivíduos com morfologia intermediária entre as espécies, o que confere uma confusão taxonômica e a denominação de complexo de espécies à este grupo de plantas.

Apesar de *Centris trigonoides* e *Euglossa melanotricha* serem consideradas polinizadores efetivos, a frequência destas abelhas nas populações de *Anemopaegma* localizadas em Brasília foi

rara. Esta baixa taxa de visitação pode ser consequência da degradação e/ou da passagem periódica de fogo nos locais onde as espécies de *Anemopaegma* ocorrem. As perturbações ambientais podem afetar a densidade populacional de determinadas espécies de animais. As populações de certos polinizadores podem desaparecer ou sofrer um declínio afetando, em graus variados, o sucesso reprodutivo das plantas que dependem destes animais para sua polinização (AIZEN & FEINSINGER 1994). De acordo com os resultados obtidos por OI *et al.* (2007), as fêmeas de Euglossini restringem o forrageamento a áreas próximas aos seus ninhos e a ação antrópica e a diminuição de habitats naturais podem resultar em menor disponibilidade de locais adequados para a nidificação dessas espécies. Para o Cerrado, foi relatado um aumento na abundância de polinizadores logo após a passagem no fogo. MIRANDA *et al.* (2004) atribuíram o aumento nas populações de polinizadores ao elevado número de espécies herbáceas que floresceram abundantemente após o fogo. Porém, neste estudo os autores não determinaram as espécies de polinizadores, provavelmente ocorrendo em maior abundância indivíduos de espécies animais generalistas como *Apis mellifera*.

Flores de *Anemopaegma acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum* foram visitadas, de forma ilegítima, por machos de *Oxaea flavescens* que furavam a base da corola para a obtenção de néctar. Já as flores de *A. scabriusculum* foram pilhadas primariamente pelas abelhas *Oxaea flavescens* e *Trigona spinipes* e, secundariamente por beija-flores. A pilhagem de néctar é um fenômeno comum em espécies que possuem flores tubulares e com câmara nectarífera (GENTRY 1980; INOUE 1980; MALOOF & INOUE 2000), como é o caso das flores de várias espécies de Bignoniaceae. Segundo GENTRY (1978), um grande número de espécies de Bignoniaceae que possuem flores tubulares, com pétalas delicadas são visitadas, de forma ilegítima, por abelhas de grande porte e por beija-flores que acessam o néctar furando a base do tubo da corola

Vários estudos associam o roubo de néctar ao sucesso reprodutivo da espécie vegetal, sendo demonstrado que o efeito da retirada de néctar de forma ilegítima pode apresentar um efeito positivo (HIGASHI *et al.* 1988; NAVARRO 2000; RICHARDSON 2004), neutro (ZIMMERMAN & COOK 1985; MORRIS 1996) ou negativo (TRAVESET *et al.* 1998; IRWIN & BRODY 1999). Segundo GOTTSBERGER (1986), a pilhagem de néctar tem um efeito positivo na produção de fruto, principalmente em espécies xenógamas obrigatórias, pois a diminuição na quantidade deste recurso estimula o movimento dos polinizadores efetivos entre as flores aumentando, deste modo, o fluxo de pólen. O efeito positivo da pilhagem do néctar na taxa de visitação dos polinizadores efetivos às flores foi observado em *Tabebuia aurea* e *T. ochracea* por BARROS (2001). MILET-PINHEIRO & SCHLINDWEIN (2009), sugerem o mesmo efeito positivo para *Jacaranda rugosa* quando as flores são pilhadas por espécies de *Xylocopa*. Neste estudo, os autores verificaram uma diminuição na duração das visitas dos polinizadores efetivos em flores com sinais de roubo de néctar feitos por abelhas *Xylocopa*, concluindo que os polinizadores teriam que duplicar o número de flores visitadas para obterem a mesma quantidade de néctar, e conseqüentemente, aumentaria o fluxo de pólen. Porém, no mesmo estudo MILET-PINHEIRO & SCHLINDWEIN (2009), registraram o efeito negativo na produção de frutos provocado pela pilhagem das flores de *Jacaranda rugosa* por *Trigona spinipes*, devido ao fato destas abelhas danificarem os elementos reprodutivos da flor. O efeito negativo da pilhagem de flores por *Trigona spinipes* também foi registrado para *Anemopaegma laeve*, sendo a baixa produção de frutos associada aos danos provocados por esta abelha (CARVALHO *et al.* 2007). Nas espécies do complexo *Anemopaegma arvense*, a pilhagem de néctar parece ter um efeito neutro, independente do tipo de pilhador. A neutralidade da ação dos pilhadores no sucesso reprodutivo das espécies do complexo foi sugerido devido ao comportamento não destrutivo destes visitantes às flores e ao sistema reprodutivo das espécies do complexo, já que estas são auto-compatíveis e não necessitam obrigatoriamente de polinização cruzada para a formação de frutos e sementes.

Em alguns casos foi relatado que os pilhadores de néctar podem também atuar como polinizadores (HIGASHI *et al.* 1988; NAVARRO 2000). No presente trabalho esta dupla condição foi atribuída à *Trigona spinines* devido à variação no comportamento desta ao visitar as flores de *Anemopaegma*. Nas populações de *A. acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum* localizadas em Brasília (DF), *Trigona spinipes* foi considerada pilhadora de néctar quando entrava na flor caminhando pelo chão do tubo da corola (sem tocar os elementos reprodutivos) e polinizadora quando entrava na flor pela parte superior do tubo e acessava somente os elementos reprodutivos no teto do tubo da corola. Já em populações de *A. scabriusculum*, estas abelhas foram consideradas somente pilhadoras de néctar, pois apresentaram o comportamento único de furar a base o tubo da corola para acessar o recurso.

#### *Sistema reprodutivo*

As espécies do complexo *Anemopaegma arvense* podem ser consideradas autocompatíveis, pois formaram frutos a partir de autopolinização em porcentagens semelhantes às encontradas na polinização cruzada. Estudos realizados até o momento mostram que a autocompatibilidade em Bignoniaceae é uma condição pouco frequente entre as espécies da família, sendo registrada em menos de 20% das espécies que tiveram seu sistema reprodutivo determinado (YANAGIZAWA 1983; GOBATO-RODRIGUES & STORT 1992; DUTRA & MACHADO 2001; BITTENCOURT Jr. & SEMIR 2005). A maioria das espécies da família é auto-incompatível, sendo registrada a auto-incompatibilidade de ação tardia nas espécies que tiveram o sistema de incompatibilidade determinado (BAWA 1974; SEAVEY & BAWA 1986; BERTIN & SULLIVAN 1988; AMARAL 1992; VIEIRA *et al.* 1992; GIBBS & BIANCHI 1993, 1999; JAMES & KNOX 1993; BITTENCOURT 2003). A auto-incompatibilidade de ação tardia é determinada pela não produção de frutos a partir de autopolinização ou de geitonogamia, a despeito da ocorrência do crescimento dos tubos polínicos e da fertilização dos óvulos e, pela abscisão de flores autopolinizadas em um

curto período de tempo após a polinização (cerca de quinze dias). De acordo com GIBBS & BIANCHI (1993), a formação de frutos por autopolinização em espécies autocompatíveis e poliembriônicas pertencentes a famílias predominantemente auto-incompatíveis, como é o caso de *Handroanthus chrysotrichus* (BITTENCOURT Jr. & SEMIR 2005) e das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* (FIRETTI-LEGGIERI Capítulo 7) pertencentes a Bignoniaceae, não se dá pela alteração do sistema genético da auto-incompatibilidade, ou seja, não há quebra do sistema de incompatibilidade em tais espécies. A não rejeição do pistilo autopolinizado seria decorrente de uma sinalização hormonal positiva enviada de tal pistilo para a planta-mãe para a mobilização de recursos necessários ao desenvolvimento do fruto. Esta sinalização positiva seria gerada pelos embriões adventícios, pois, segundo STEPHENSON (1981), um dos principais fatores que determina a abscisão de flores e frutos jovens é a alta porcentagem de óvulos sem embriões (óvulos não fertilizados ou embriões abortados) e, conseqüentemente, a baixa produção de sementes. De acordo com o referido autor, as plantas abortam seletivamente frutos que produzem uma quantidade de sementes menor que um determinado limite mínimo. Apesar de tal afirmação, GIBBS & BIANCHI (1993) não fizeram o acompanhamento de pistilos autopolinizados, através de estudos histológicos, para a confirmação da ausência do embrião zigótico nos óvulos de tais pistilos. Portanto, a correta determinação do sistema reprodutivo de espécies de Bignoniaceae que apresentam poliembria ocorrerá somente após a execução de estudos histológicos adequados.

A não formação de frutos a partir de flores emasculadas mostra que as espécies do complexo não são apomíticas. Porém, estudos de dissecação e germinação de sementes revelaram que tais espécies são poliembriônicas, possivelmente produzindo embriões supranumerários a partir de tecidos somáticos maternos (embria adventícia) (FIRETTI-LEGGIERI Capítulo 7), como encontrado em *Handroanthus ochraceus* (= *Tabebuia ochracea*, COSTA *et al.* 2004). A dependência da polinização para a formação de frutos caracteriza as espécies como apomíticas

facultativas (pseudogâmicas) (KOLTUNOW 1993). Nas espécies pseudogâmicas, a fertilização se torna necessária para a formação do endosperma, principal fonte de nutrição do embrião zigótico, quando presente, e dos embriões supranumerários.

### *Compatibilidade interespecífica*

A formação de frutos a partir de cruzamentos interespecíficos foi observada nas espécies de *Anemopaegma* que ocorrem simpatricamente em áreas de cerrado de Brasília, DF, a partir de cruzamentos manuais realizados entre as espécies. Os resultados obtidos indicam que as espécies de *Anemopaegma* são bilateralmente interférteis. Os percentuais de frutos formados em polinizações interespecíficas foram semelhantes aos obtidos a partir de polinizações intraespecíficas. Já o sucesso reprodutivo observado em alguns cruzamentos interespecíficos foi superior ao encontrado em polinizações intraespecíficas, sendo registrado até 100% de maturação do total de frutos formados. A ausência de barreiras genéticas para a produção de frutos e sementes viáveis a partir de polinizações interespecíficas foi demonstrada por BARROS (2001) e por BITTENCOURT Jr. & SEMIR (2005) para as espécies simpátricas de *Handroanthus* (= *Tabebuia*). Segundo BITTENCOURT Jr. & SEMIR (2005), as espécies de *Handroanthus* nativas do Cerrado possuem barreiras genéticas tênues ou inexistentes para a hibridação e a preservação da identidade de tais espécies se dá através de isolamento ecológico.

GENTRY (1976), estudando as espécies de Bignoniaceae da América Central, afirmou que a grande diversidade de espécies desta família se deve ao isolamento ecológico imposto principalmente pela separação temporal da floração entre as espécies simpátricas. Ao contrário do encontrado por GENTRY (1976), as espécies de *Anemopaegma* consideradas neste estudo e que ocorrem simpatricamente florescem no mesmo período do ano (FIRETTI-LEGGIERI Capítulo 5) e possuem a mesma guilda de polinizadores. Portanto, a hibridação entre essas espécies é promovida

tanto pela ausência de isolamento ecológico que facilita o fluxo gênico entre as espécies através do transporte de pólen quanto pela ausência de barreiras genéticas para a formação de frutos e sementes viáveis.

A hibridação natural é considerada um processo freqüente entre espécies ou subespécies simpátricas de plantas e animais, onde as condições ecológicas são permissíveis. Tal aspecto foi documentado para os principais grupos de plantas e em todas as floras (HARRISON 1993). De acordo com ANDERSON (1949) e GRANT (1971, 1981), a ocorrência deste fenômeno está intimamente relacionada com a disponibilidade de habitats abertos para o estabelecimento dos híbridos e da sua progênie. A hibridação é mais freqüente após perturbações de habitats que criam novos ambientes e rompem os limites ecológicos. Essas condições podem resultar de processos naturais, no entanto é mais comumente resultado da atividade humana, incluindo desmatamento, fogos periódicos e agricultura (ANDERSON 1949; GRANT 1971; TSUKAYA *et al.* 2003; TOVAR-SANCHEZ & OYAMA 2004; WEEKS & SIMPSON 2004).

A hibridação pode ter diversas consequências evolutivas, incluindo aumento na diversidade genética intraespecífica a partir da introdução de genes compatíveis em outro genótipo, origem e transferência de adaptações genéticas, origem de novos ecótipos ou espécies e reforço ou ruptura das barreiras reprodutivas (RIESEBERG 1997). Este comportamento reprodutivo representa uma reversão no processo de divergência evolutiva. A reversão pode ser local ou amplamente distribuída dependendo da extensão geográfica que ocorre. Pode ocorrer entre espécies simpátricas ou entre raças que foram anteriormente separadas, mas que restabelecem contato em uma nova região geográfica. O resultado no último caso é uma zona de tipos intermediários variáveis, conhecida como zona híbrida (GRANT 1971).

As características reprodutivas apresentadas pelas espécies do complexo *Anemopaegma arvense* como autocompatibilidade, hibridação entre espécies simpátricas, poliploidia (FIRETTI-LEGGIERI Capítulo 4) e apomixia facultativa caracterizam este como um complexo agâmico, assim

como encontrado em gêneros das famílias Poaceae (BANTIN *et al.* 2001; AINOUCHE *et al.* 2003) e Rosaceae (CAMPBELL *et al.* 1999). Os complexos agâmicos são grupos de espécies de difícil delimitação taxonômica específica devido à ocorrência frequente de fluxo gênico entre elas, resultando na formação de indivíduos morfológicamente intermediários e conseqüentemente, na falta de descontinuidade morfológica para a separação destas espécies. De acordo com GENTRY (1973), *Anemopaegma* é um dos gêneros de Bignoniaceae mais difíceis com relação a sua taxonomia, devido a plasticidade fenotípica e a ausência de barreiras para formação de híbridos entre as espécies.

#### *Aborto de frutos e sementes*

Nas inflorescências e ramos das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* houve alta porcentagem de conversão de flores em frutos imaturos e menor porcentagem de frutos que atingiram a maturação. Em cada inflorescência ou ramo, no caso de *A. arvense*, o número de frutos maduros observado foi, no máximo, dois, sendo registrada uma alta porcentagem de aborto de frutos em desenvolvimento. A proporção de flores convertida em frutos maduros (razão fruto:flor) varia consideravelmente entre as espécies, sendo comumente registrados altos índices de aborto de flores e frutos imaturos (LLOYD 1980; LLOYD *et al.* 1980; STEPHENSON 1979, 1980, 1981; BAWA & WEBB 1984; SUTHERLAND & DELPH 1984; SUTHERLAND 1986). O aborto de flores e frutos em larga escala parece ser um fenômeno comum e os vários autores supracitados que quantificaram tal fenômeno em espécies nativas atribuem a baixa razão fruto:flor à diversos fatores como: falta de polinização adequada, aborto de embriões devido a ação de genes deletérios, fatores extrínsecos como frio e seca, predação de sementes, herbivoria e, principalmente, limitação de recursos da planta-mãe para a maturação de todos os frutos formados. Assim como o registrado por STEPHENSON (1979, 1980) para *Catalpa speciosa*, o aborto de frutos imaturos nas espécies do

complexo pode ser explicado principalmente pela limitação de recursos da planta-mãe. Em *A. scabriusculum*, além da limitação de recursos, a intensa predação de sementes parece ser um outro fator que contribui para a abscisão dos frutos, inclusive quando estes já se encontram em fase adiantada de desenvolvimento. A limitação de recursos parece ser a explicação mais plausível para o aborto de frutos nas espécies do complexo *Anemopaegma arvense* devido às seguintes evidências: (1) a maioria das flores produzidas foi convertida em fruto e, as que não formaram frutos o fizeram independente do tipo de polinização (polinização natural ou polinizações controladas). Portanto, esses resultados mostram que a polinização inadequada não explica o abortamento dos frutos imaturos, já que em polinizações controladas a quantidade de pólen depositada no estigma excede a quantidade adequada para a fertilização de todos os óvulos e, como as espécies do complexo são autocompatíveis, a origem do pólen também não pode ser causador do abortamento de tais flores. (2) os frutos foram abortados continuamente e em vários estágios de desenvolvimento, mas principalmente no primeiro mês após a polinização. Segundo LLOYD (1980), o processo contínuo de aborto de flores e frutos imaturos seria um modo de a planta-mãe ajustar o investimento com os recursos disponíveis. A ocorrência de aborto predominantemente nos primeiros estágios de desenvolvimento foi observada também em *Catalpa speciosa*. A partir do peso seco dos frutos e do número de sementes produzidas por estes, STEPHENSON (1980) concluiu que em *Catalpa speciosa* o maior investimento de recursos para o desenvolvimento dos frutos ocorre após a fase de abscisão destes. (3) as espécies do complexo *Anemopaegma arvense* possuem inflorescências racemiformes com seqüência acrópeta de abertura das flores, sendo que as flores da base abrem e são polinizadas primeiro que as flores do ápice; observou-se em várias inflorescências que os frutos provenientes de flores da base, ou seja, que iniciaram seu desenvolvimento primeiro, se desenvolviam enquanto os demais frutos provenientes de flores apicais da inflorescência eram mais propensos ao abortamento. BAWA & WEBB (1984), observaram que em *Caesalpinia eriostachys*, também com abertura acrópeta das flores, os frutos provenientes de flores apicais eram mais

propensos à abscisão que os frutos basais, demonstrando assim um efeito de posição para a maturação de tais frutos. (4) O maior sucesso reprodutivo foi observado em *Anemopaegma arvense*, independentemente do tipo de polinização realizada. Uma provável explicação para tal resultado pode ser a quantidade de flores produzidas por inflorescência em cada espécie analisada neste estudo. Diferente das demais espécies, *A. arvense* caracteriza-se por possuir inflorescências reduzidas a uma única flor, sendo que cada folha sustenta uma única flor. De acordo com STEPHENSON (1981), os recursos necessários para o desenvolvimento de frutos e sementes são provenientes de diversas fontes, porém há uma forte tendência para tal recurso fluir principalmente das folhas mais próximas aos frutos. Estas folhas são denominadas folhas alimentadoras. Portanto, a quantidade de recursos gerados por uma folha provavelmente destina-se somente a um único fruto em *A. arvense* e a vários frutos nas outras espécies que possuem inflorescências com várias flores, aumentando assim a possibilidade de captação de recursos e de desenvolvimento dos frutos de *A. arvense*. Através de experimentos controlados STEPHENSON (1979, 1980) demonstrou que em *Catalpa speciosa*, a proporção de flores polinizadas que produziam frutos diminuía quando o número de flores polinizadas por inflorescência aumentava e que inflorescências com poucas flores tinham maior probabilidade de converter todas as flores em frutos.

Nas espécies *Anemopaegma acutifolium* e *A. glaucum* a quantidade de sementes por fruto se mostrou semelhante em todos os tratamentos de polinização aplicados às espécies. Já *A. arvense* produziu frutos com a maior quantidade de sementes a partir de autopolinização. Estes resultados confirmam a condição autocompatível das espécies e a mesma capacidade do pólen de diferentes origens de fertilizarem a maioria dos óvulos.

Em *Anemopaegma acutifolium* os frutos provenientes de polinização natural apresentaram as maiores porcentagem de sementes abortadas. Isto pode ser devido à ineficiência na polinização, já que polinizadores ocasionais como *Apis mellifera* e *Trigona spinipes* foram mais comumente

observados visitando as flores desta espécie e os polinizadores efetivos tiveram suas visitas raramente registradas. Segundo STEPHENSON (1981), normalmente há uma variação no número de grãos de pólen depositados no estigma que pode levar a uma variação no número de sementes produzidas por fruto. A quantidade de sementes produzidas por fruto geralmente determina se o fruto se aborta ou não, sendo que em cada espécie há um número mínimo de sementes que deve ser produzido para que o fruto alcance a maturidade. Um exemplo desta condição foi verificado por BERTIN (1982) em *Campsis radicans*, onde o autor encontrou que os frutos abortados eram originados de flores que tinham recebido de 200-800 grãos de pólen, enquanto que as flores que receberam mais de 800 grãos de pólen no estigma produziram frutos maduros.

Quando a quantidade de sementes abortadas por fruto proveniente de polinização natural é comparada entre todas as espécies, *Anemopaegma scabriusculum* mostra uma maior porcentagem de sementes sem embrião. Diferente de *A. acutifolium*, o abortamento de sementes em *A. scabriusculum* parece estar relacionada à intensa predação que os frutos e sementes desta espécie sofrem. A intensidade de predação registrada nesta espécie foi variável, sendo que alguns frutos possuíam todas as sementes predadas e estes eram abortados e, outros que apresentaram somente algumas sementes danificadas chegaram à maturação.

### **Germinação**

Os testes de germinação revelaram que os diferentes tratamentos de polinização geraram sementes viáveis, ou seja, capazes de dar origem a novas plantas. Portanto, as espécies do complexo *Anemopaegma arvense* produzem progênie independentemente da origem do pólen.

A partir da utilização de sementes intactas e sem alas nos testes de germinação, notou-se que a retirada das alas facilita a embebição de água pelas sementes e, conseqüentemente, acelera o processo de germinação. Segundo PEREIRA *et al.* (2007), as sementes intactas de *A. arvense*, uma das espécies aqui considerada, apresentaram um período de dormência de seis semanas e, de acordo

com este mesmo estudo, a retirada das alas das sementes não é um procedimento essencial para a emergência. Porém, nas sementes de *A. arvense* em que as alas foram mantidas, as raízes se mostraram menos desenvolvidas quando comparadas às sementes que tiveram a ala retirada, admitindo que a retirada das alas seria um procedimento necessário para a obtenção de plântulas com raízes melhor formadas.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ainouche ML, Baumel A, Salmon A, Yannic G. 2003.** Hybridization, polyploidy and speciation in *Spartina* (Poaceae). *New Phytologist* **161**: 165-172.
- Aizen MA, Feinsinger P. 1994.** Forest Fragmentation, Pollination, and Plant Reproduction in a Chaco Dry Forest, Argentina. *Ecology* **75**: 330-351.
- Amaral MEC. 1992.** Ecologia Floral de Dez Espécies da Tribo Bignoniaceae (Bignoniaceae), em uma Floresta Semidecídua no Município de Campinas, SP. Tese de Doutorado. Departamento de Ecologia. Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, SP.
- Anderson E. 1949.** *Introgressive Hybridization*. John Wiley, New York.
- Ashman TL, Schoen DJ. 1994.** How long should flowers live? *Nature* **371**: 788-791.
- Baker HG, Baker I. 1983.** A Brief Historical Review of the Chemistry of Floral Nectar. In: Bentley BL, Elias TS, eds. *The Biology of Nectaries*. Columbia University Press, New York. Pp.126-152.
- Bantin J, Matzk F, Dresselhaus T. 2001.** *Tripsacum dactyloides* (Poaceae): a natural model system to study parthenogenesis. *Sexual Plant Reproduction* **14**: 219-226.
- Barros MG. 2001.** Pollination ecology of *Tabebuia aurea* (Manso) Benth. & Hook. and *T. ochracea* (Cham.) Standl. (Bignoniaceae) in Central Brazil cerrado vegetation. *Revista Brasileira de Botânica* **24**: 255-261.
- Bawa KS. 1974.** Breeding systems of tree species of lowland tropical community. *Evolution* **28**: 85-92.
- Bawa KS, Webb CJ. 1984.** Flower, fruit and seed abortion in tropical forest trees: implications for the evolution of paternal and maternal reproductive patterns. *American Journal of Botany* **71**: 736-751.
- Bertin RI. 1982.** Floral biology, hummingbird pollination and fruit production of trumper creeper (*Campsis radicans*, Bignoniaceae). *American Journal of Botany* **69**: 122-134.

- Bertin RI, Sullivan M. 1988.** Pollen interference and cryptic self-fertility in *Campsis radicans*. *American Journal of Botany* **75**: 1140-1147.
- Bianchi MB, Harris SA, Gibbs PE, Prado DE. 2005.** A study of the mating system in *Dolichandra cynanchoides* (Bignoniaceae): an Argentinian Chaco woodlands liane with a late-acting self-incompatibility. *Plant Systematics and Evolution* **251**: 173-181.
- Bittencourt Jr. NS. 2003.** *Auto-incompatibilidade de ação tardia e outros sistemas reprodutivos em Bignoniaceae*. Tese de doutorado. UNICAMP. Campinas, São Paulo.
- Bittencourt Jr. NS, Gibbs PE, Semir J. 2003.** Histological study of post-pollination events in *Spathodea campanulata* Beauv. (Bignoniaceae), a species with late-acting self-incompatibility. *Annals of Botany* **91**: 827-834.
- Bittencourt Jr. & Semir, J. 2004.** Pollination biology and breeding system of *Zeyheria montana* (Bignoniaceae). *Plant Systematics and Evolution* **247**: 241-254.
- Bittencourt Jr. NS, Semir J. 2005.** Late-acting self-incompatibility and other breeding systems in *Tabebuia* (Bignoniaceae). *International Journal of Plant Science* **166**: 493-506.
- Bittencourt Jr. NS, Semir J. 2006.** Floral biology and late-acting self-incompatibility in *Jacaranda racemosa* (Bignoniaceae). *Australian Journal of Botany* **54**: 315-324.
- Borba EL. 2001.** *Biosistemática de espécies rupícolas de Pleurothallis (Orchidaceae) ocorrentes em campos rupestres brasileiros: aspectos reprodutivos, genéticos, fitoquímicos, morfológicos e taxonômicos*. Tese de doutorado. Universidade Estadual de Campinas. Campinas, SP.
- Bullock SH. 1985.** Breeding systems in the flora of a tropical deciduous forest in Mexico. *Biotropica* **17**: 287-201.
- Broyles SB, Vail C, Sherman-Broyles SL. 1996.** Pollination genetics of hybridization in sympatric populations of *Asclepias exaltata* and *A. syriaca* (Asclepiadaceae). *American Journal of Botany* **83**: 1580-1584.
- Campbell CS, Alice LA, Wright WA. 1999.** Comparisons of within-population genetic variation in sexual and agamosperous *Amelanchier* (Rosaceae) using RAPD markers. *Plant Systematics and Evolution* **215**: 157-167.
- Carvalho AT, Santos-Andrade FG, Schlindwein C. 2007.** Baixo sucesso reprodutivo em *Anemopaegma laeve* (Bignoniaceae) no Parque Nacional do Catimbau, Pernambuco. *Revista Brasileira de Biociências* **5(Supl. 1)**: 102-104.
- Castro S, Silveira P, Navarro L. 2008.** Effect of Pollination on Floral Longevity and Costs of Delaying Fertilization in the Out-crossing *Polygala vayredae* Costa (Polygalaceae). *Annals of Botany* **102**: 1043-1048.

- Correia MCR, Pinheiro MCB, Lima HA. 2005.** Produção de frutos e germinação de sementes de *Anemopaegma chamberlaynii* Bur. K. Schum. (Bignoniaceae). Um registro de poliembrionia. *Sitientibus Série Ciências Biológicas* **5**: 68-71.
- Costa ME, Sampaio DS, Paoli AAS, Leite SCAL. 2004.** Poliembrionia e aspectos da embriogênese em *Tabebuia ochracea* (Chamisso) Standley (Bignoniaceae). *Revista Brasileira de Botânica* **27**: 395-406.
- Costa S, Silveira P, Navarro L. 2008.** Effect of Pollination on Floral Longevity and Costs of Delaying Fertilization in the Out-crossing *Polygala vayredae* Costa (Polygalaceae). *Annals of Botany* **102**: 1043-1048.
- Cruden RW, Lloyd RM. 1995.** Embryophytes have equivalent sexual phenotypes and breeding systems: Why not a common terminology to describe them? *American Journal of Botany* **82**: 816-825.
- Cruden RW, Hermann SM, Peterson S. 1983.** Patterns of Nectar Production and Plant-Pollinator Coevolution. In: Bentley BL, Elias TS, eds. *The Biology of Nectaries*. Columbia University Press, New York. Pp. 80-125.
- Dafni A, Kevan PG, Husband BC. 2005. Practical Pollination Ecology.** Enviroquest, Cambridge, Canadá.
- Faegri K, van der Pijl L. 1980.** *The Principles of Pollination Ecology*. 3<sup>th</sup> ed. Oxford, Pergamon Press.
- Galetto L, Bernardello LM, Juliani HR. 1994.** Characteristics of secretion of nectar in *Pyrostegia venusta* (Ker-Gawl.) Miers (Bignoniaceae). *New Phytologist* **127**: 465-471.
- Galetto L, Bernardello G. 2004.** Floral Nectaries, Nectar Production Dynamics and Chemical Composition in Six *Ipomoea* Species (Convolvulaceae) in Relation to Pollinators. *Annals of Botany* **94**: 269-280.
- Gentry, A.H. 1973.** Flora do Panamá. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **60**: 781-977.
- Gentry AH. 1974a.** Coevolutionary Patterns in Central American Bignoniaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden* **61**: 728-759.
- Gentry AH. 1974b.** Flowering phenology and diversity in tropical Bignoniaceae. *Biotropica* **6**: 64-68.
- Gentry AH. 1976.** Bignoniaceae of southern Central America: Distribution and ecological specificity. *Biotropica* **8**: 117-131.
- Gentry AH. 1980.** Bignoniaceae, Part 1 – Tribes Crescentieae and Tourrettieae. *Flora Neotropica Monograph* **25**: 1-130. New York Botanical Garden, New York.

- Gibbs PE, Bianchi M. 1993.** Post-pollination events in species of *Chorisia* (Bombacaceae) and *Tabebuia* (Bignoniaceae) with late-acting self-incompatibility. *Botanica Acta* **106**: 64-71.
- Gibbs PE, Bianchi M. 1999.** Does late-acting self-incompatibility (LSI) show family clustering? Two more species of Bignoniaceae with LSI: *Dolichandra cynanchoides* and *Tabebuia nodosa*. *Annals of Botany* **84**: 449-457.
- Gobatto-Rodrigues AA, Stort MNS. 1992.** Biologia floral e reprodução de *Pyrostegia venusta* (Ker-Gawl) Miers (Bignoniaceae). *Revista Brasileira de Botânica* **15**: 37-41.
- Goldenberg R, Shepherd G. 1998.** Studies on the reproductive biology of Melastomataceae in “cerrado” vegetation. *Plant Systematics and Evolution* **211**: 13-29.
- Gottsberger G. 1986.** Some Pollination Strategies in Neotropical Savannas and Forests. *Plant Systematics and Evolution* **152**: 29-45.
- Grant V. 1949.** Pollination systems as isolating mechanisms in Angiosperms. *Evolution* **3**: 82-97.
- Grant V. 1971.** *Plant Speciation*. Columbia University Press. New York and London.
- Guimarães E, Stasi LC, Maimoni-Rodella RCS. 2008.** Pollination Biology of *Jacaranda oxyphylla* with an Emphasis on Staminode Function. **102**: 699-711.
- Heinrich B, Raven PH. 1972.** Energetics and pollination ecology. *Science* **176**: 597-602.
- Higashi S, Ohara M, Arai H, Matsuo K. 1988.** Robber-like pollinators: overwintered queen bumblebees foraging on *Corydalis ambigua*. *Ecological Entomology* **13**: 411-418.
- Howe & Smallwood 1982.** Ecology of seed dispersal. *Annual Review of Ecology and Systematics*. **13**:201-228.
- Inouye DW. 1980.** The terminology of floral larceny. *Ecology* **61**: 1251-1253.
- Irwin RE, Brody AK. 1999.** Nectar-robbing bumble bees reduce the fitness of *Ipomopsis aggregata* (Polemoniaceae). *Ecology* **80**: 1703-1712.
- James EA, Knox RB. 1993.** Reproductive biology of the Australian species of the genus *Pandorea* (Bignoniaceae). *Australian Journal of Botany* **41**: 611-626.
- Kageyama, P.Y. & Lepsch-Cunha, N.M. 2001.** Singularidade da Biodiversidade nos Trópicos. In: Garay I, Dias B. eds. *Conservação da Biodiversidade em Ecossistemas Tropicais*.
- Klekowski Jr. EJ. 1988.** *Mutation, Developmental Selection, and Plant Evolution*. Columbia University Press, New York.
- Koltunow AM. 1993.** Apomixis: Embryo sacs and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. *Plant Cell* **5**: 1425-1437.
- Lloyd DG. 1980.** Sexual strategies in plants. 1. An hypothesis of serial adjustment of maternal investment during one reproductive session. *New Phytologist* **86**: 69-79.

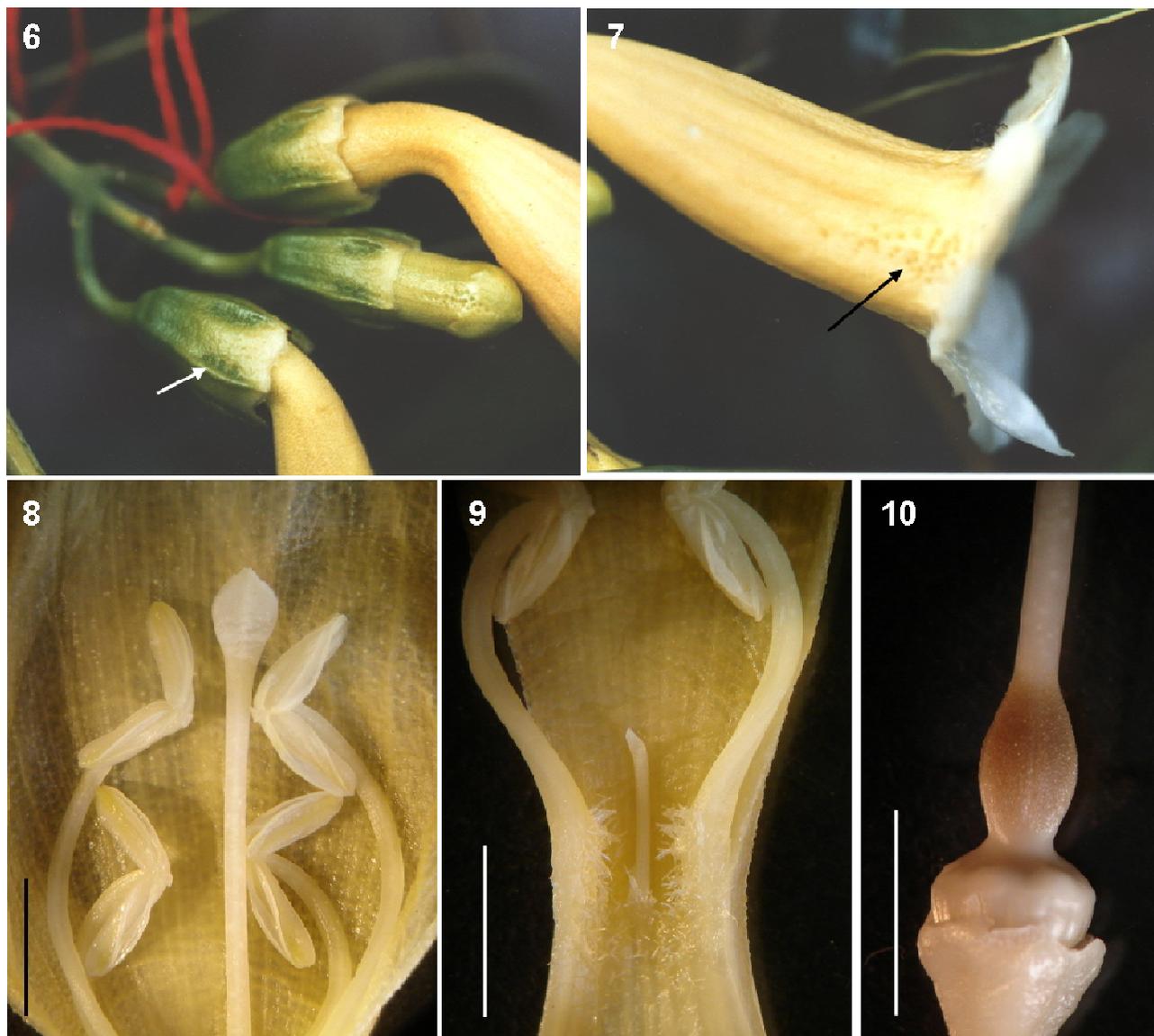
- Lloyd DG, Webb CJ, Primack RB. 1980.** Sexual strategies in plants. II. Data on the temporal regulation of maternal investment. *New Phytologist* **86**: 81-92.
- Machado IC, Vogel S. 2004.** The North-east-Brazilian Liana, *Adenocalymna dichilum* (Bignoniaceae) pollinated by bats. *Annals of Botany* **93**: 609-613.
- Maloof JE, Inouye DW. 2000.** Are nectar robbers cheaters or mutualists? *Ecology* **81**: 2651-2661.
- Milet-Pinheiro P, Schlindwein C. 2009.** Pollination in *Jacaranda rugosa* (Bignoniaceae): euglossine pollinators, nectar robbers and low fruit set. *Plant Biology* **11**: 131-141.
- Miranda HS, Sato MN, Andrade SMA, Haridasan M, Morais HC. 2004.** Queimadas de Cerrado: caracterização e impacto. In: Aguiar, L.M.S. & A.J.A. Camargo (eds). *Cerrado: ecologia e caracterização*. Embrapa Cerrados. Planaltina, DF. Pp. 69-123.
- Morris WF. 1996.** Mutualism Denied? Nectar-Robbing Bumble Bees do not Reduce Female or Male Success of Bluebells. *Ecology* **77**: 1451-1462.
- Nic Lughadha E. 1998.** Preferential outcrossing in *Gomidesia* (Myrtaceae) is maintained by post-zygotic mechanism. In: Owens SJ, Rudall PJ. eds. *Reproductive Biology in Systematics, Conservation and Economic Botany*. London, Royal Botanic Garden.
- Navarro L. 2000.** Pollination ecology of *Anthyllis vulneraria* subsp. *vulgaris* (Fabaceae): nectar robber as pollinators. *American Journal of Botany* **87**: 980-985.
- Nettancourt D. 1977.** *Incompatibility Systems in Angiosperms*. Berlin, Heidelberg, New York: Springer.
- Oi CA, López-Uribe MM, Del Lama MA. 2007.** Padrão de dispersão e tamanho populacional de *Euglossa cordata* e *Eulaema nigrita* em área urbana da cidade de São Carlos (SP). *Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil*.
- Pereira AMS, Salomão AN, Januário AH, Bertoni BW, Amui SF, França SC, Cerdeira AL, Moraes RM. 2007.** Seed germination and triterpenoid content of *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellfeld varieties. *Genetic Resource Crop Evolution* **54**: 849-854.
- Petersen C, Brown JH, Kodric-Brown A. 1982.** An experimental study of floral display and fruit set in *Chilopsis linearis* (Bignoniaceae). *Oecologia* **55**: 7-11.
- Primack RB. 1985.** Longevity of individual flowers. *Annual Review of Ecology and Systematics* **16**: 15-37.
- Pyke GH. 1991.** What does it cost a plant to produce floral nectar? *Nature* **350**: 58-59.
- Richardson SC. 2004.** Are nectar robbers mutualists or antagonists? *Oecologia* **139**: 246-254.
- Richards AJ. 1986.** *Plant Breeding Systems*. George Allen & Unwin (Publishers) Ltd., London.

- Sandwith NY, Hunt DR. 1974.** *Flora Illustrada Catarinense - Bignoniáceas*. Parte I. Iatajaí, Santa Catarina.
- Sato H. 2002.** The role of autonomous self-pollination in floral longevity in varieties of *Impatiens hypophylla* (Balsaminaceae). *American Journal of Botany* **89**: 263-269.
- Seavey SR, Bawa KS. 1986.** Late-acting self-incompatibility in Angiosperms. *The Botanical Review* **52**: 195-219.
- Singh J, Chauhan SVS. 1994.** Floral polymorphism and establishment of self incompatibility in *Tecoma stans* L. *Journal of Tree Science* **13**: 57-60.
- Solorzano S, Ibarra-Manriquez G, Oyama K. 2002.** Liana diversity and reproductive attributes in two tropical forests in Mexico. *Biodivers. Conserv.* **11**: 197-212.
- Somanathan H, Borges RM. 2001.** Nocturnal pollination by the carpenter bee *Xylocopa tenuiscapa* (Apidae) and the effect of floral display on fruit set of *Heterophragma quadriloculare* (Bignoniaceae) in India. *Biotropica* **33**: 78-89.
- Somanathan H, Borges RM, Chacravarthy VS. 2004.** Does neighborhood floral display matter? Fruit set in carpenter bee-pollinated *Heterophragma quadriloculare* and beetle-pollinated *Lasiosiphon eriocephalus*. *Biotropica* **36**: 139-147.
- Southwick EE. 1984.** Photosynthate allocation to floral néctar: a neglected energy investment. *Ecology* **65**: 1775-1779.
- Stephenson AG. 1979.** An evolutionary examination of the floral display of *Catalpa speciosa* (Bignoniaceae). *Evolution* **33**: 1200-1209.
- Stephenson AG. 1980.** Fruit Set, Herbivory, Fruit Reduction, and the Fruiting Strategy of *Catalpa speciosa* (Bignoniaceae). *Ecology* **6**: 57-64.
- Stephenson AG. 1981.** Flower and Fruit Abortion: Proximate Causes and Ultimate Functions. *Annual Review Ecology and Systematics* **12**: 253-279.
- Stephenson AG, Thomas WW. 1977.** Diurnal and nocturnal pollination of *Catalpa speciosa* (Bignoniaceae). *Systematic Botany* **2**: 191-198.
- Sutherland S, Delph LF. 1984.** On the importance of male fitness in plants: Patterns of fruit-set. *Ecology* **65**: 1093-1104.
- Traveset A, Wilson MF, Sabag C. 1998.** Effect of nectar-robbing birds on fruit set of *Fuchsia magellanica* in Tierra del Fuego: a disrupted mutualism. *Functional Ecology* **12**: 459-464.
- Vieira MF, Meira RMSA, Queiroz LP, Meira Neto JAA. 1992.** Polinização e reprodução de *Jacaranda caroba* (Vell.) DC. (Bignoniaceae) em área de cerrado do sudeste brasileiro. *Anais do 8º Congresso da Sociedade Brasileira para Progresso da Ciência* 13-19.

- Wyatt R. 1992.** *Ecology and Evolution of Plant Reproduction: New Approaches*. Chapman & Hall, New York, London.
- Zimmerman M, Cook S. 1985.** Pollinator foraging, experimental nectar-robbing and plant fitness in *Impatiens capensis*. *American Midland Naturalist* **113**: 84-91.
- Yanagizawa Y. 1983.** *Aspectos da Biologia Floral de Espécies de Arrabidaea e Jacaranda, no Município de Botucatu*. Tese de Mestrado. Universidade Estadual de Campinas, Campinas, SP.

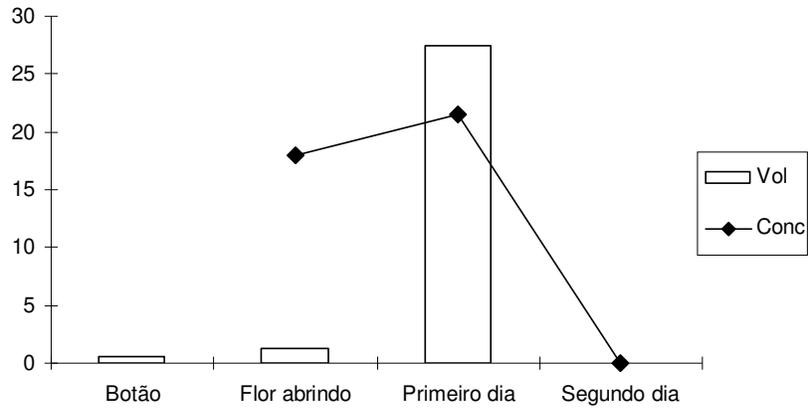


**Figuras 1-5.** Morfologia de inflorescências e flores das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*. **1.** *A. arvense*; inflorescências laterais reduzidas a uma única flor. **2.** *A. acutifolium*; inflorescência pauciflora. **3.** *A. glaucum*; inflorescência racemiforme com uma flor aberta e botões. **4-5.** *A. scabriusculum*: **4.** Ramo florido e **5.** Detalhe de flores abrindo.

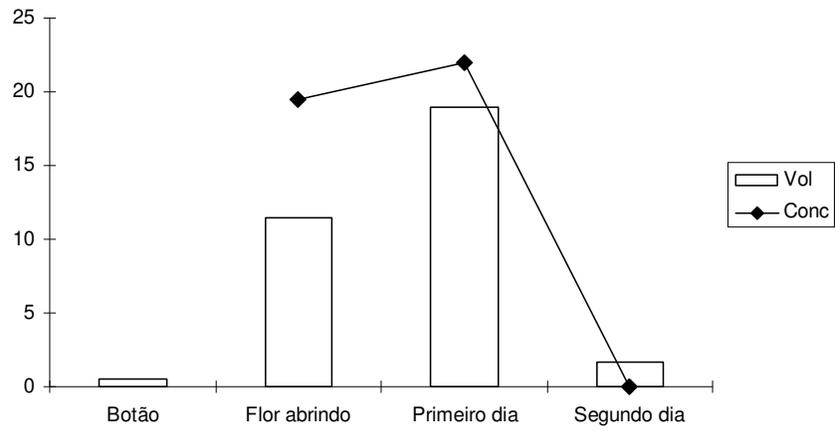


**Figuras 6-10.** Aspectos da morfologia floral das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*. **6.** Cálice; nectários extranupciais do cálice (seta). **7.** Corola; nectários extranupciais da corola (seta). **8.** Elementos reprodutivos; estigma e estilete; estames didínamos. **9.** Estaminódio e região da constricção da corola com tricomas glandulares. **10.** Ovário coberto por tricomas glandulares (lepidoto) e disco nectarífero. Barras = 0,5 cm.

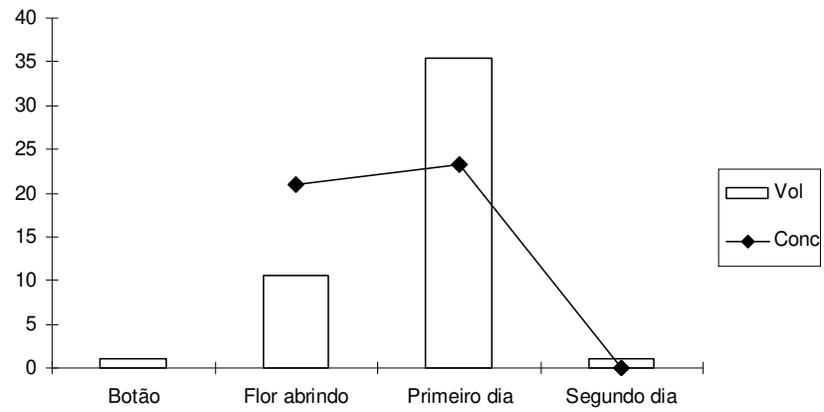
11



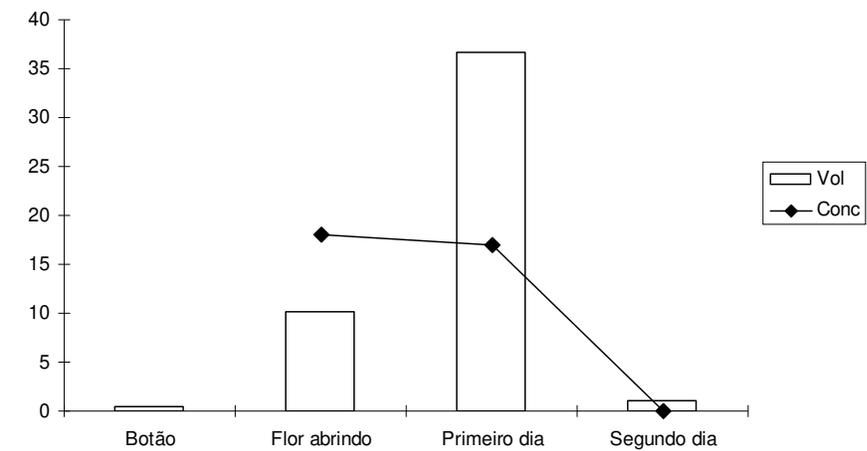
12



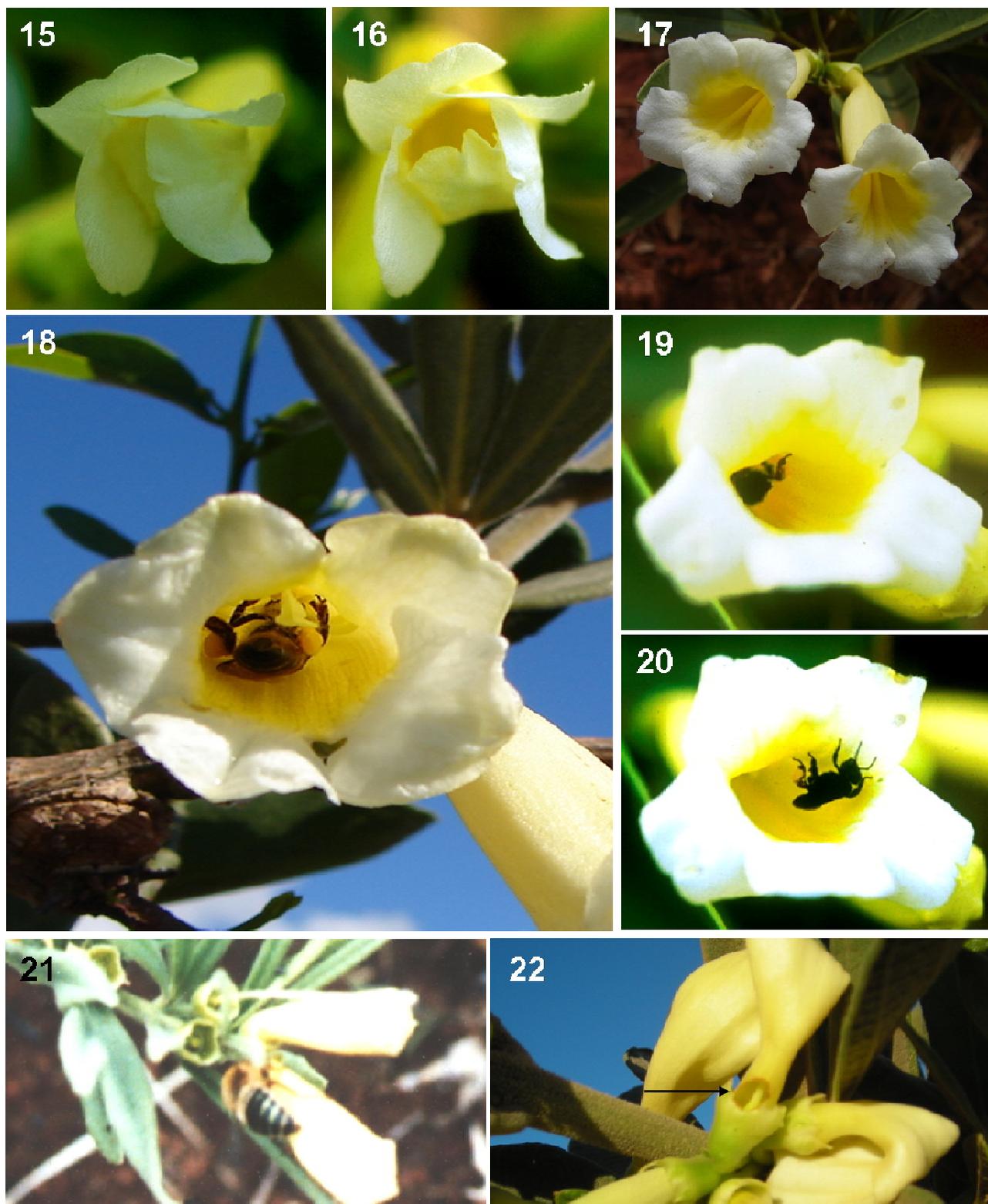
13



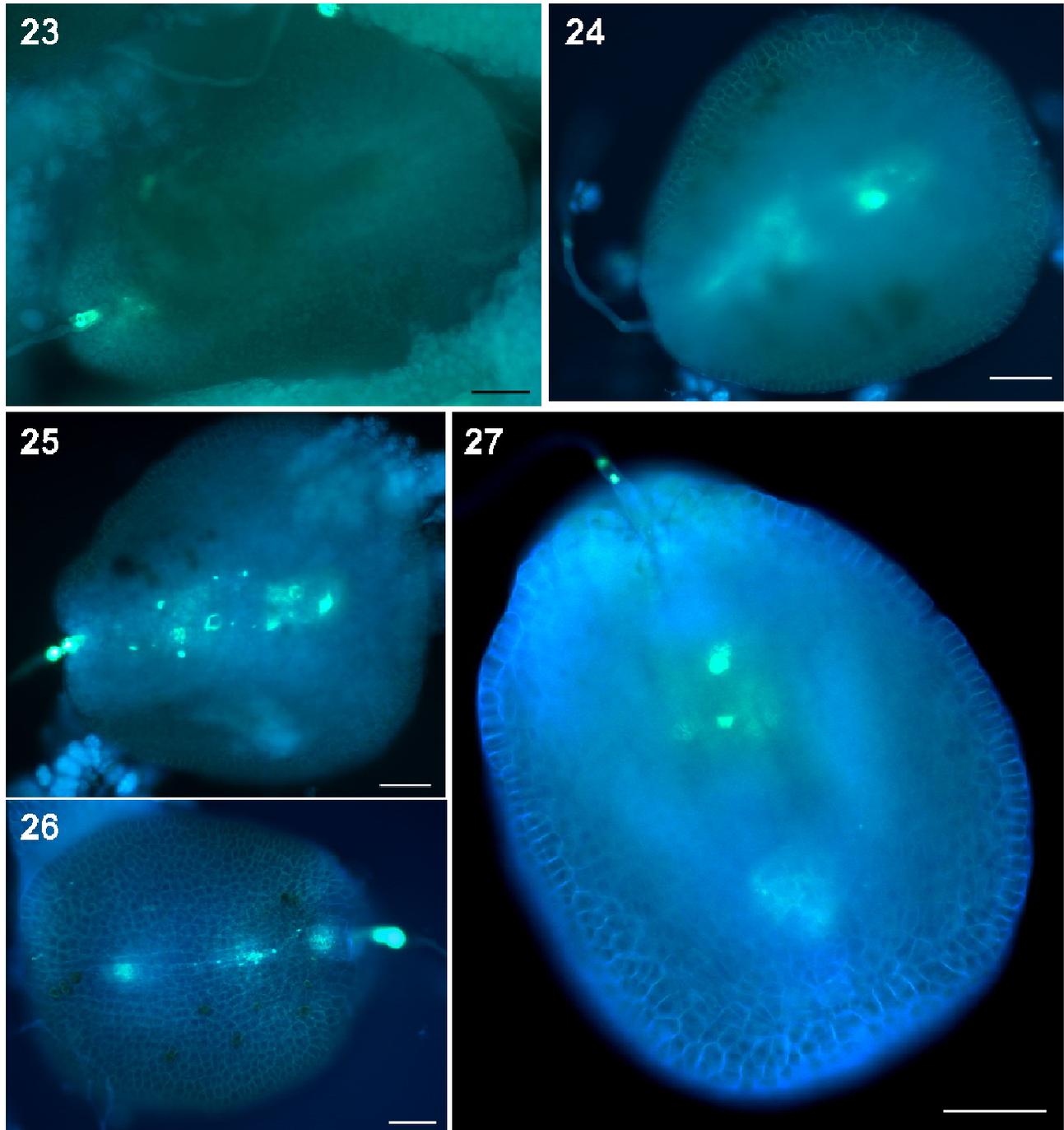
14



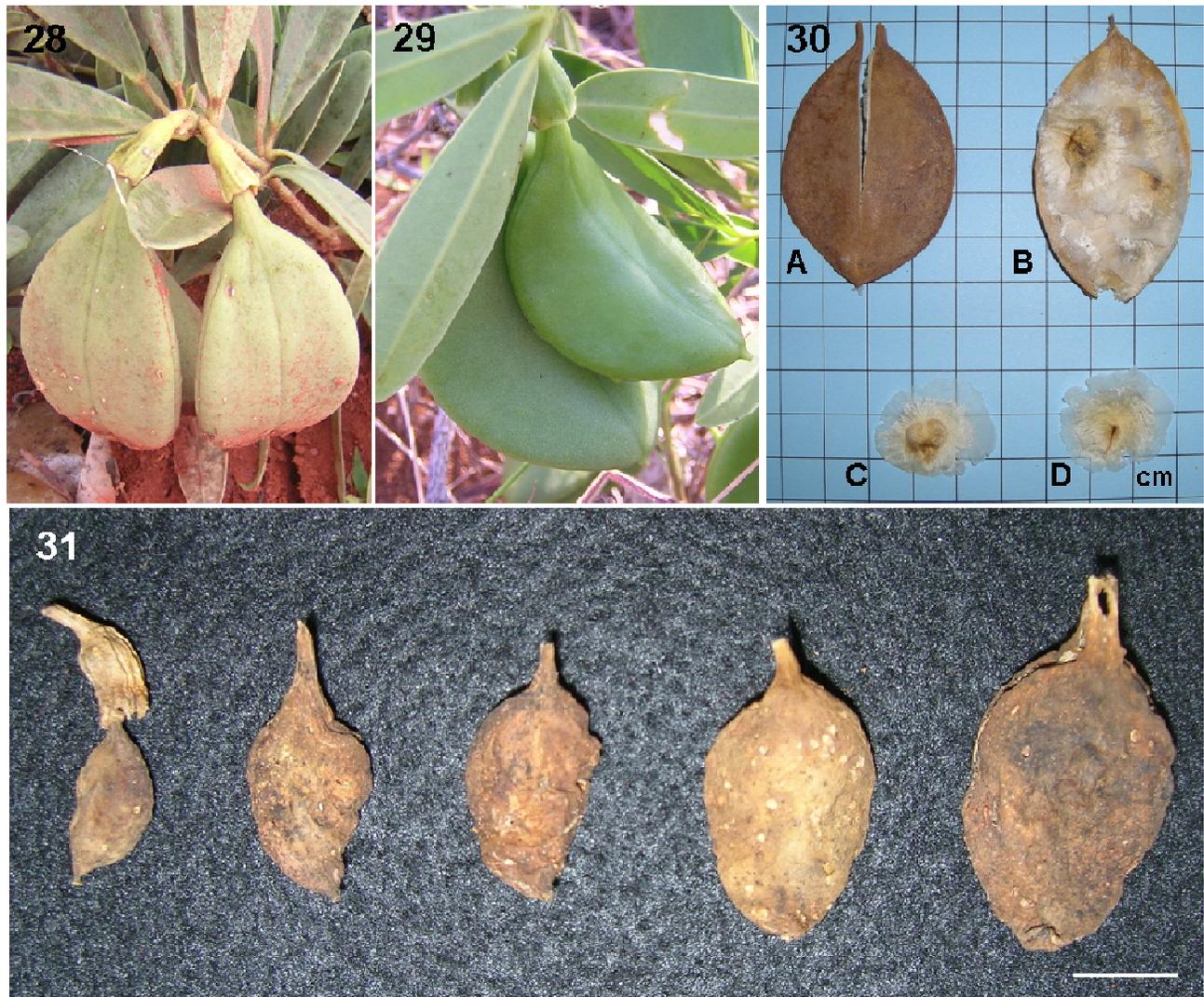
**Figuras 11-14.** Dinâmica de secreção de néctar nas espécies de *Anemopaegma arvense*. **11.** *A. acutifolium*. **12.** *A. arvense*. **13.** *A. glaucum*. **14.** *A. scabriusculum*



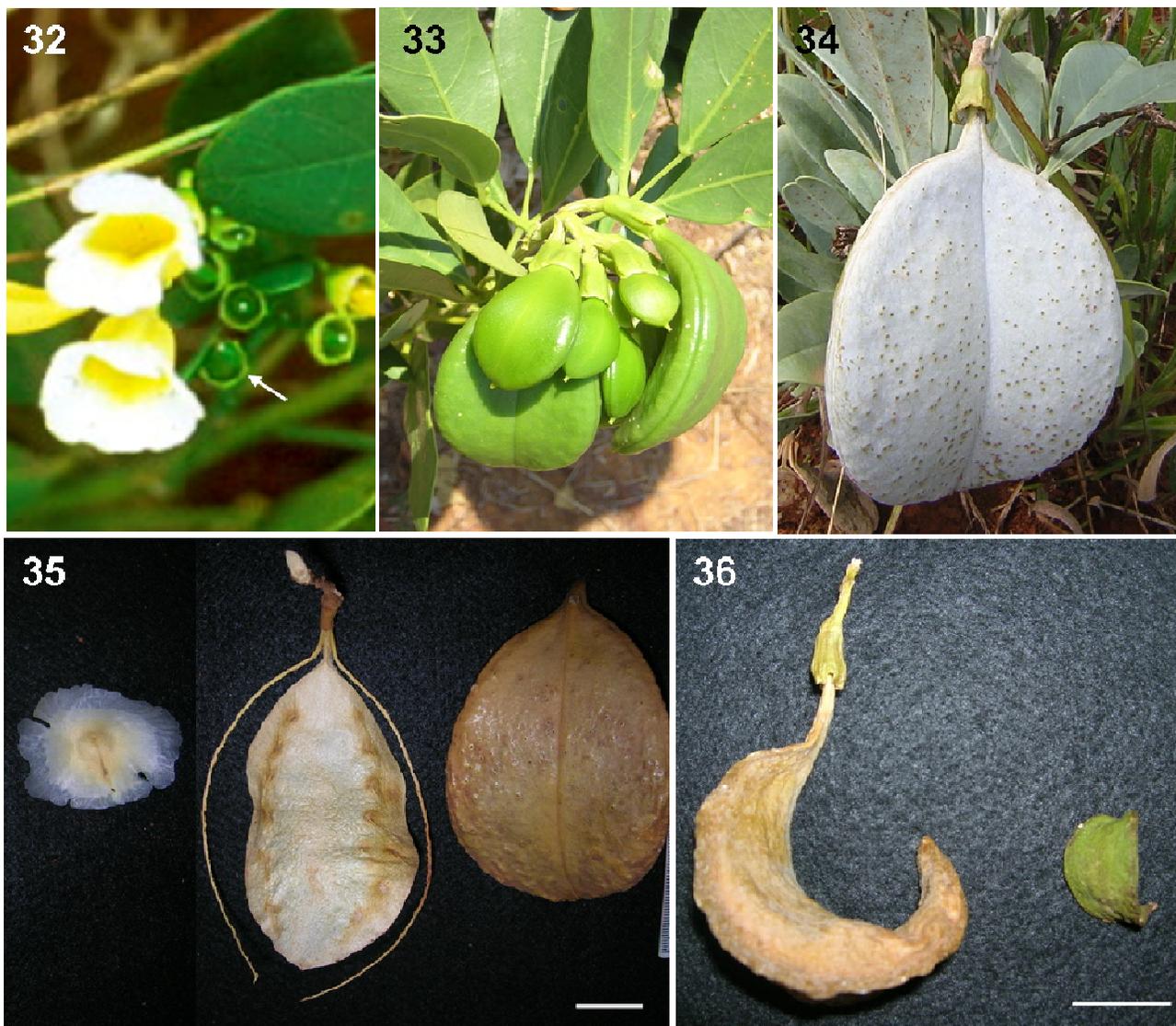
**Figuras 15-22.** Biologia floral e polinização das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*. **15-17.** Antese floral: sequência de abertura das flores. **18.** *Apis mellifera* polinizando flor de *A. scabriusculum*. **19.** *Trigona spinipes* polinizando flor de *A. acutifolium* e **20.** *Trigona spinipes* saindo da flor após polinização. **21.** *Oxaea flavescens* furando base da corola para obtenção de néctar. **22.** Base do tubo da corola da flor de *A. scabriusculum* danificada por *Trigona spinipes*.



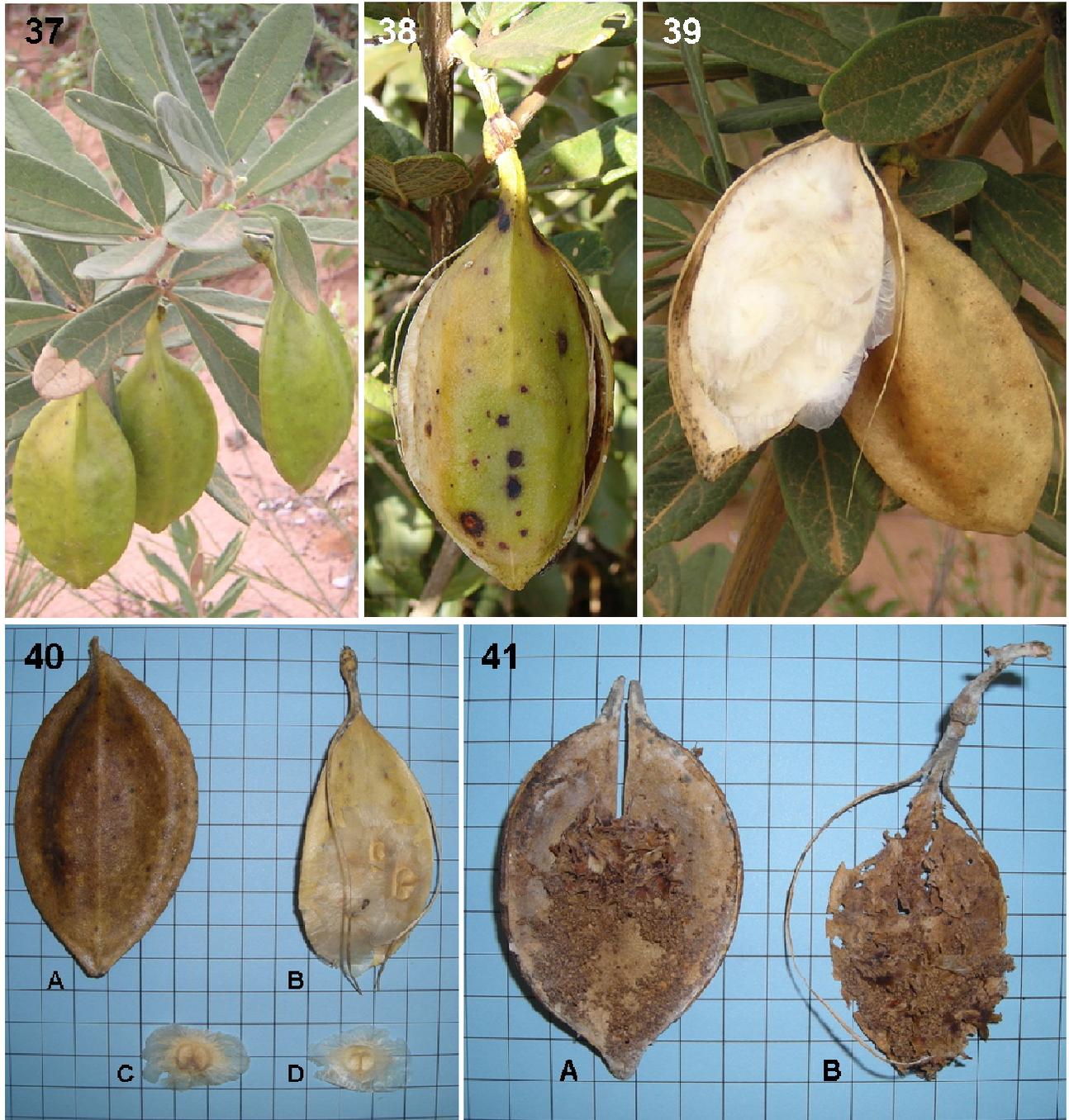
**Figuras 23-27.** Fertilização dos óvulos das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* em diferentes intervalos de tempo após a polinização. **23.** Penetração de óvulo de *A. glaucum* após 24h da polinização cruzada. **24.** Penetração de óvulo de *A. glaucum* após 24h da autopolinização. **25.** Penetração de óvulo de *A. arvense* após 48h da autopolinização. **26.** Penetração de óvulos de *A. acutifolium* após 72h da autopolinização. **27.** Penetração dos óvulos de *A. arvense* após 72h da autopolinização. Barras = 100  $\mu$ m (Figuras 23-24); 50  $\mu$ m (Figuras 25-27).



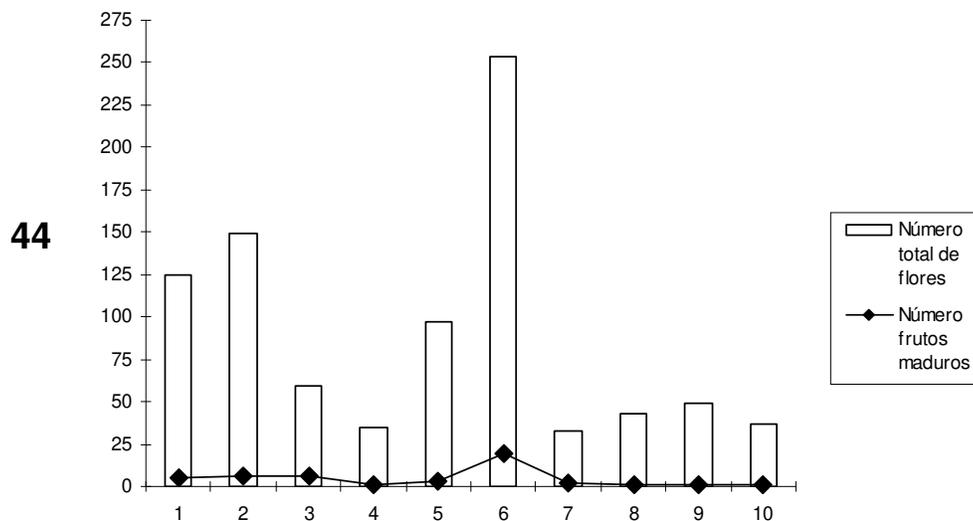
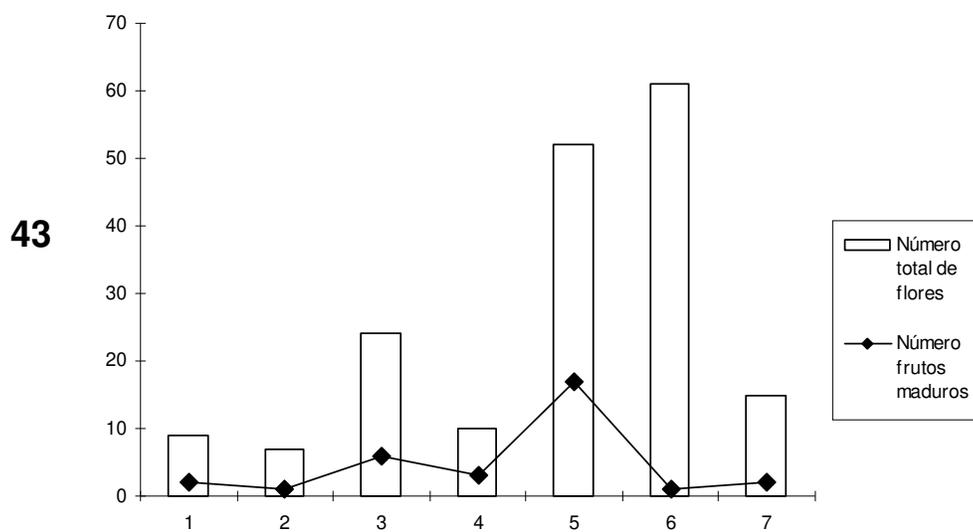
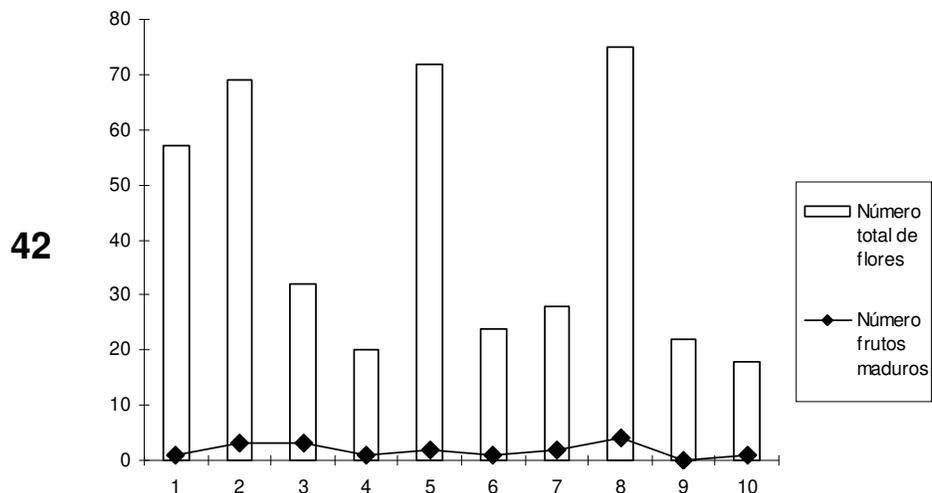
**Figuras 28-31.** Frutos de *Anemopaegma acutifolium*. **28.** Frutos imaturos com pericarpo piloso. **29.** Frutos imaturos com pericarpo glabro. **30.** Fruto maduro. **A.** Pericarpo. **B.** Eixo seminífero. **C.** Semente viável. **D.** Semente não viável. **31.** Frutos abortados em diferentes estágios de desenvolvimento. Barra = 1 cm



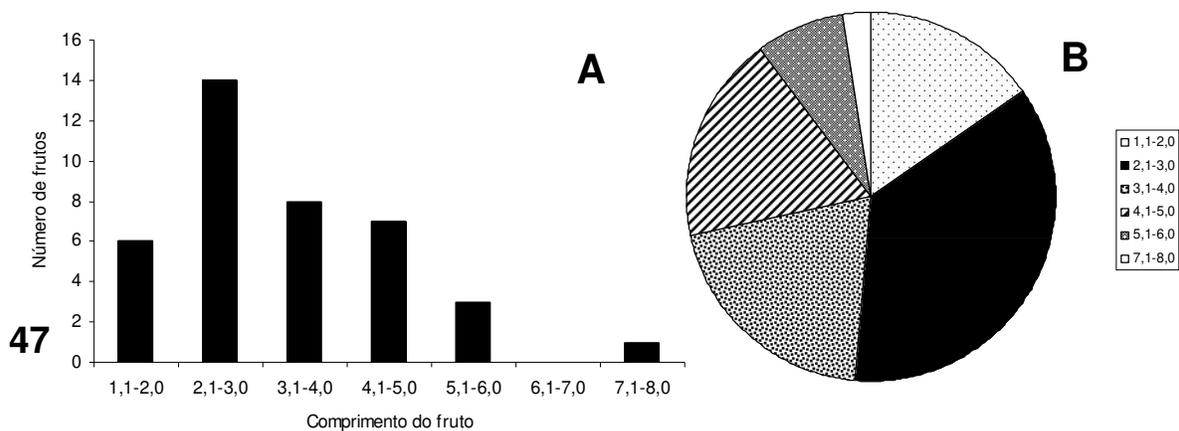
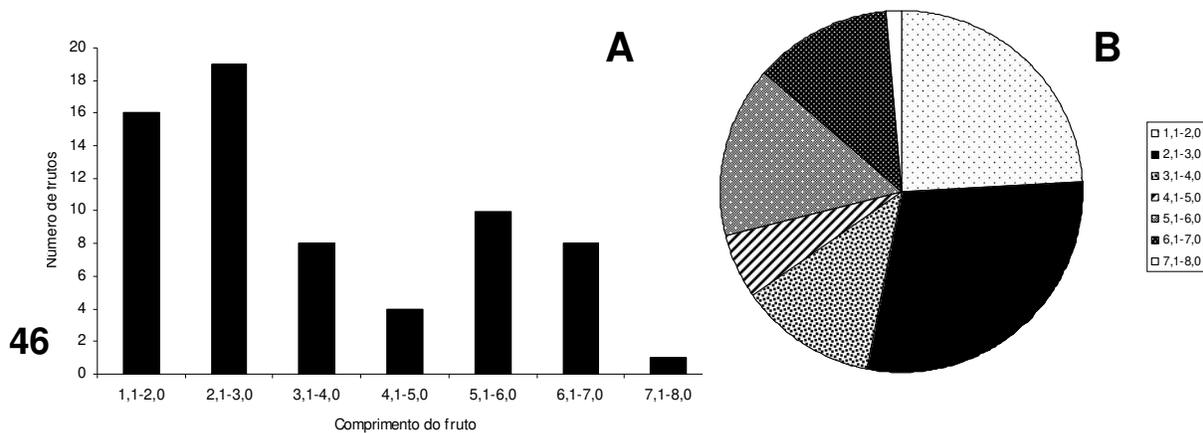
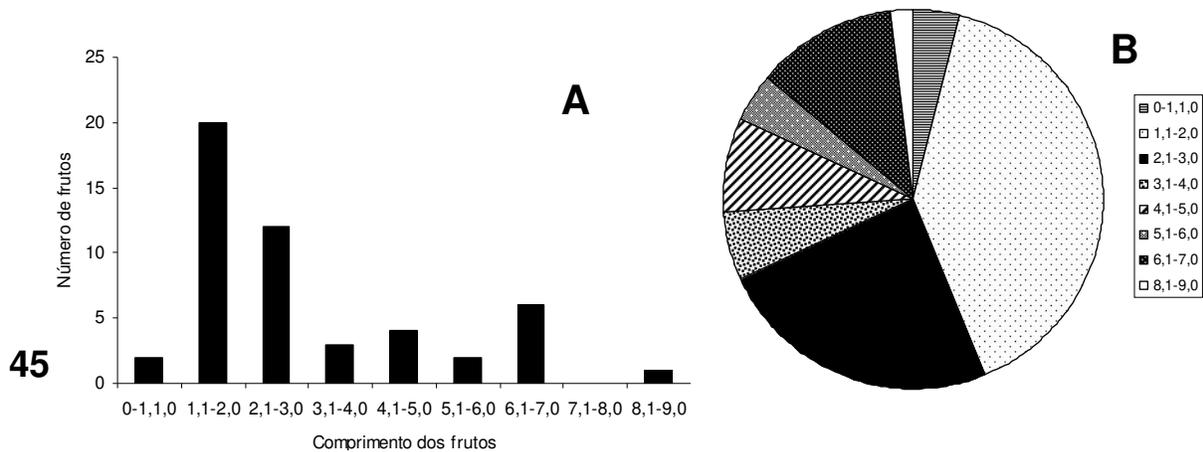
**Figuras 32-36.** Frutos de *Anemopaegma glaucum*. **32.** Frutos em início de desenvolvimento (seta); aproximadamente 15 dias após a polinização. **33.** Frutos imaturos em diferentes estágios de desenvolvimento. **34.** Fruto imaturo desenvolvido. **35.** Fruto maduro e semente viável. **36.** Frutos abortados em diferentes estágios de desenvolvimento. Barras = 2 cm.



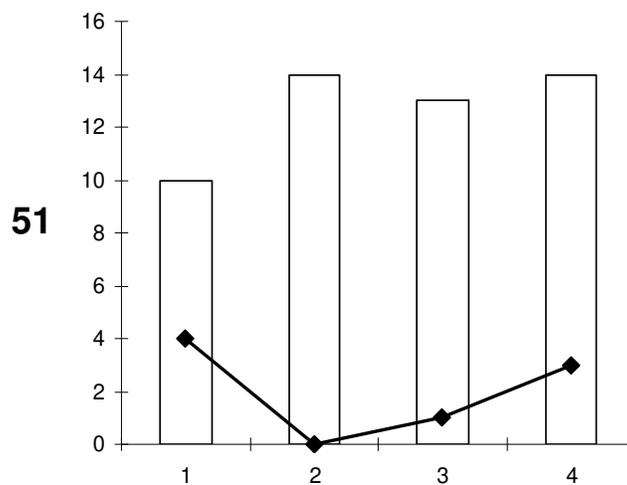
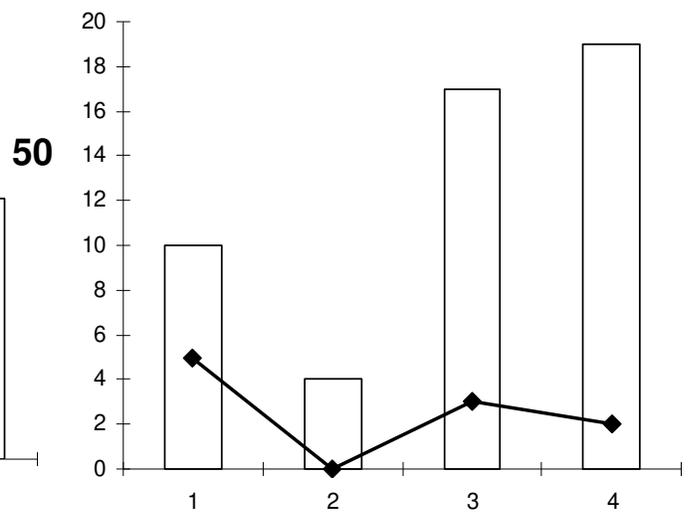
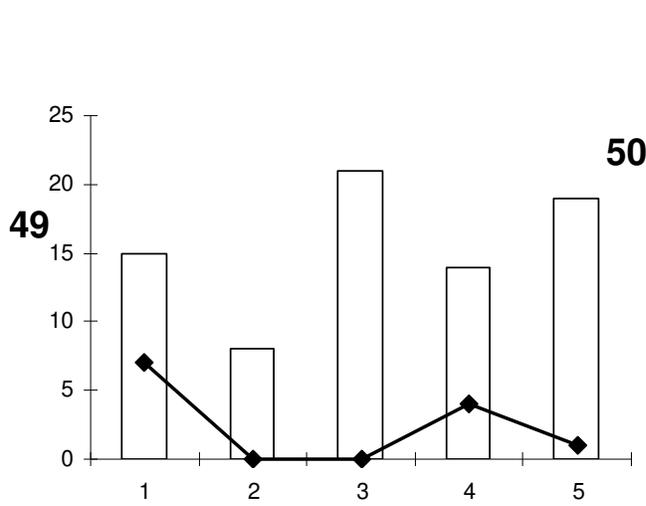
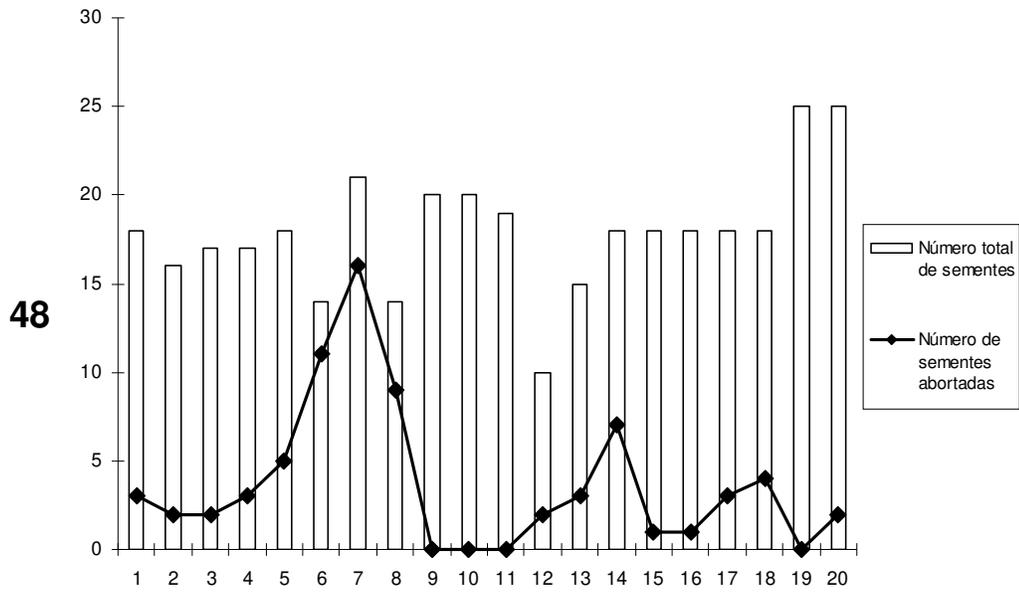
**Figuras 37-41.** Frutos de *Anemopaegma scabriusculum*. **37.** Frutos imaturos. **38.** Fruto maduro iniciando deiscência. **39.** Fruto maduro dispersando sementes. **40.** Fruto maduro. **A.** Pericarpo; **B.** Eixo seminífero; **C.** Semente viável; **D.** Semente não viável (sem embrião). **41.** Fruto predado; **A.** Face interna do pericarpo com sinais de predação. **B.** Eixo seminífero com sementes predadas.



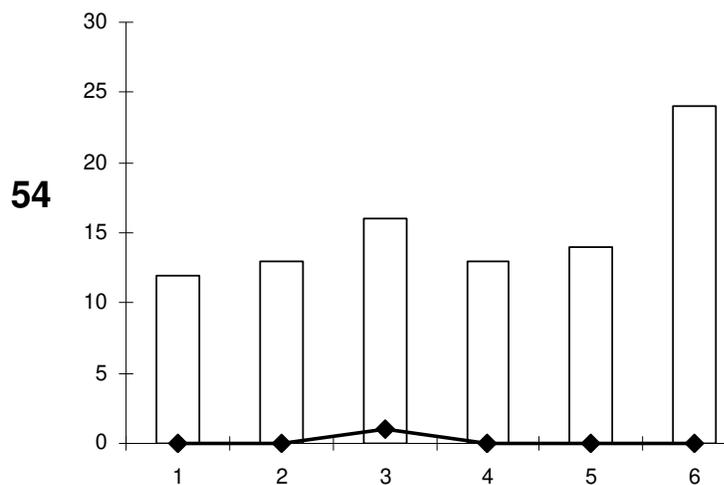
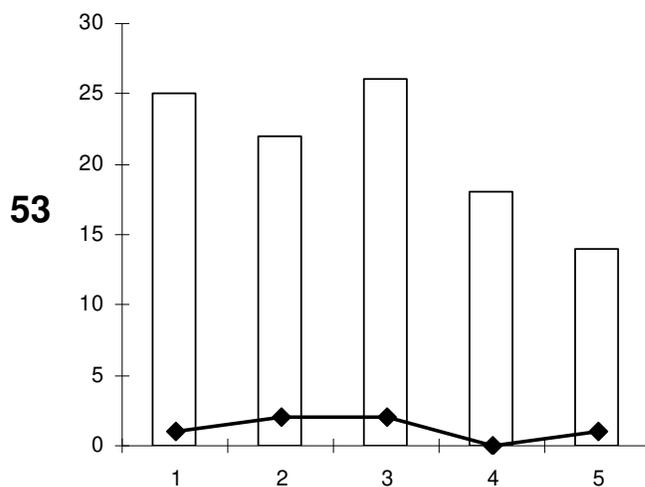
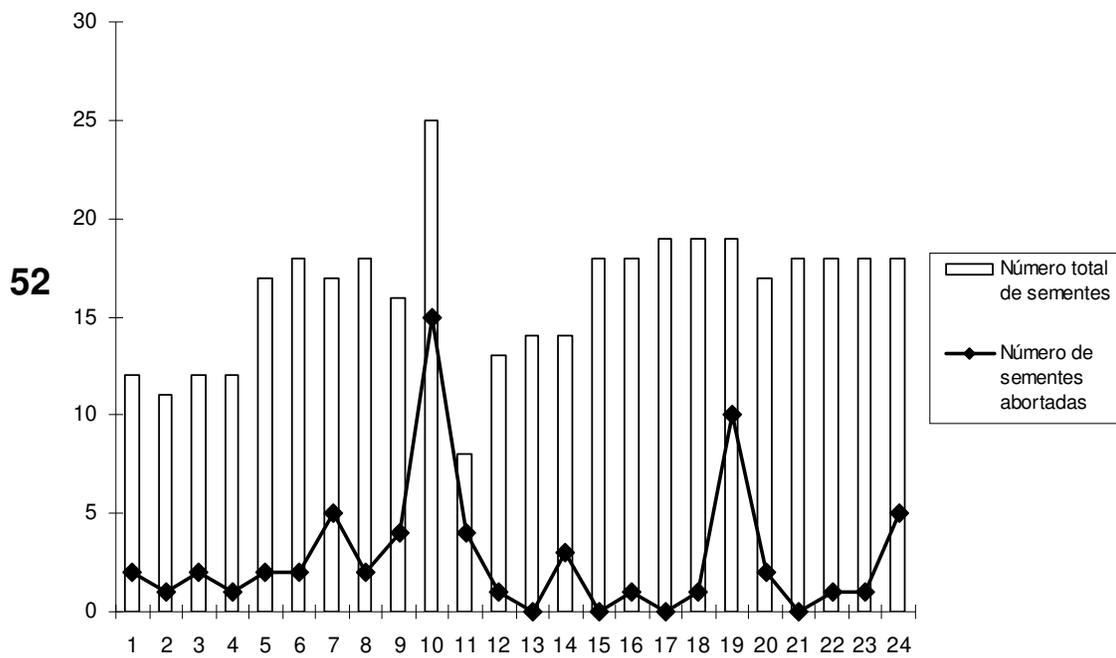
**Figuras 42-44.** Número total de flores e de frutos maduros produzidos por indivíduos das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* localizadas na Reserva Ecológica do IBGE, Brasília, DF. **42.** *A. acutifolium* (N = 10 indivíduos). **43.** *A. arvense* (N = 7 indivíduos). **44.** *A. glaucum* (N = 10 indivíduos).



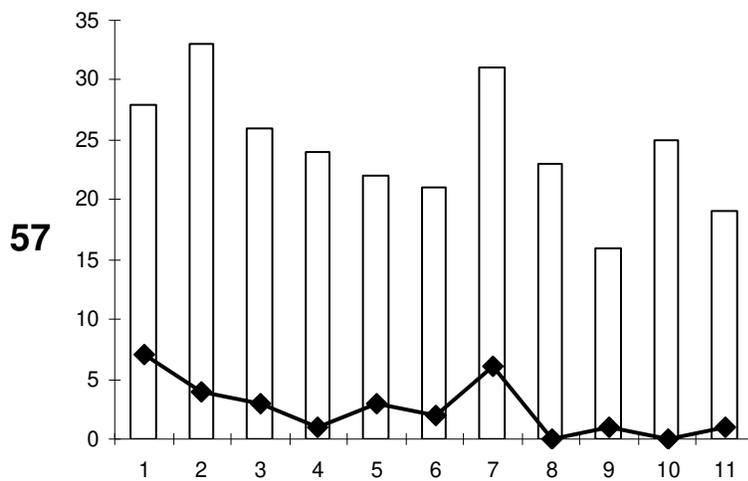
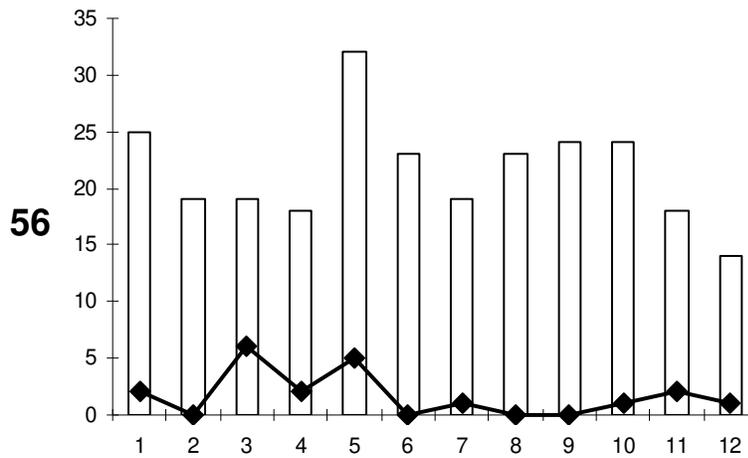
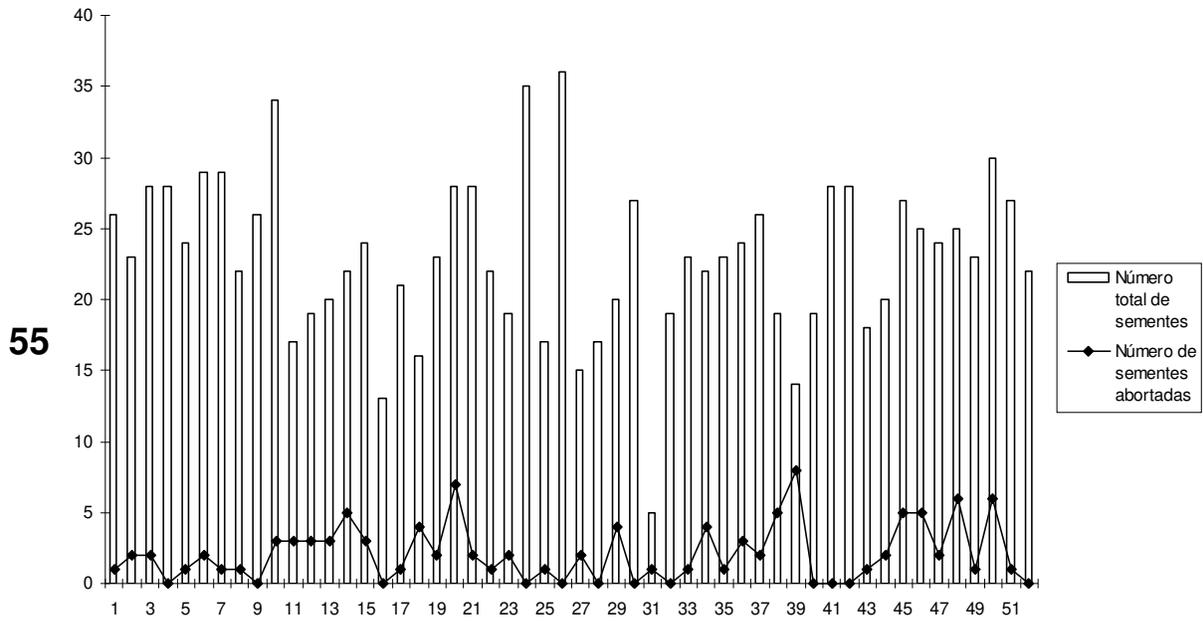
**Figuras 45-47.** Frequência de frutos abortados pelas espécies do complexo *Anemopaegma arvense* presentes na Reserva Ecológica do IBGE (Brasília-DF). **45.** *A. acutifolium*. **A.** Número de frutos abortados de acordo com o comprimento (N = 66); **B.** Porcentagem de frutos abortados por comprimento. **46.** *A. arvense*. **A.** Número de frutos abortados de acordo com o comprimento (N = 39). **B.** Porcentagem de frutos abortados por comprimento. **47.** *A. glaucum*. **A.** Número de frutos abortados de acordo com o comprimento (N = 50). **B.** Porcentagem de frutos abortados por comprimento.



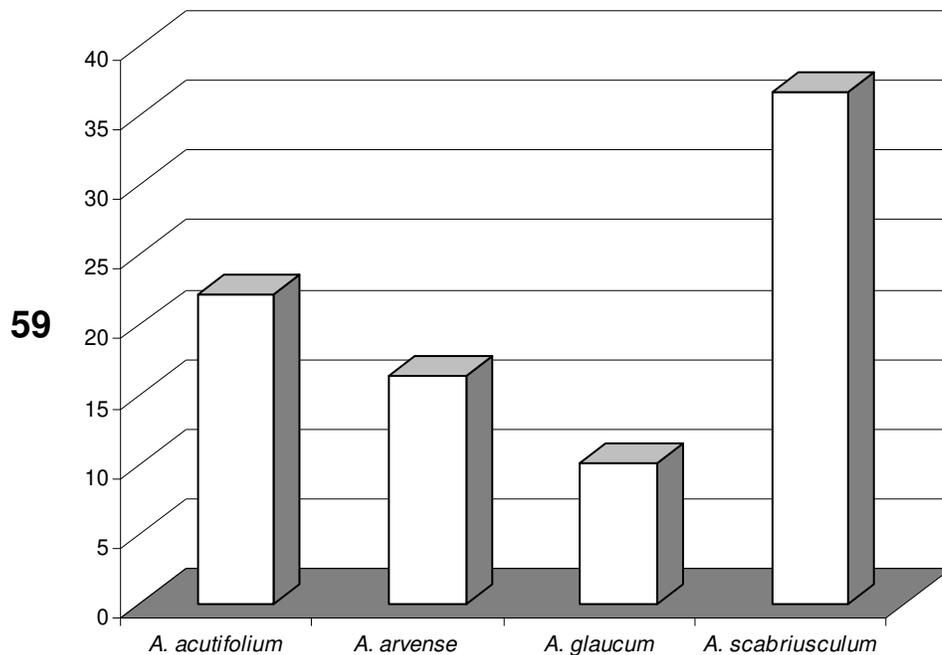
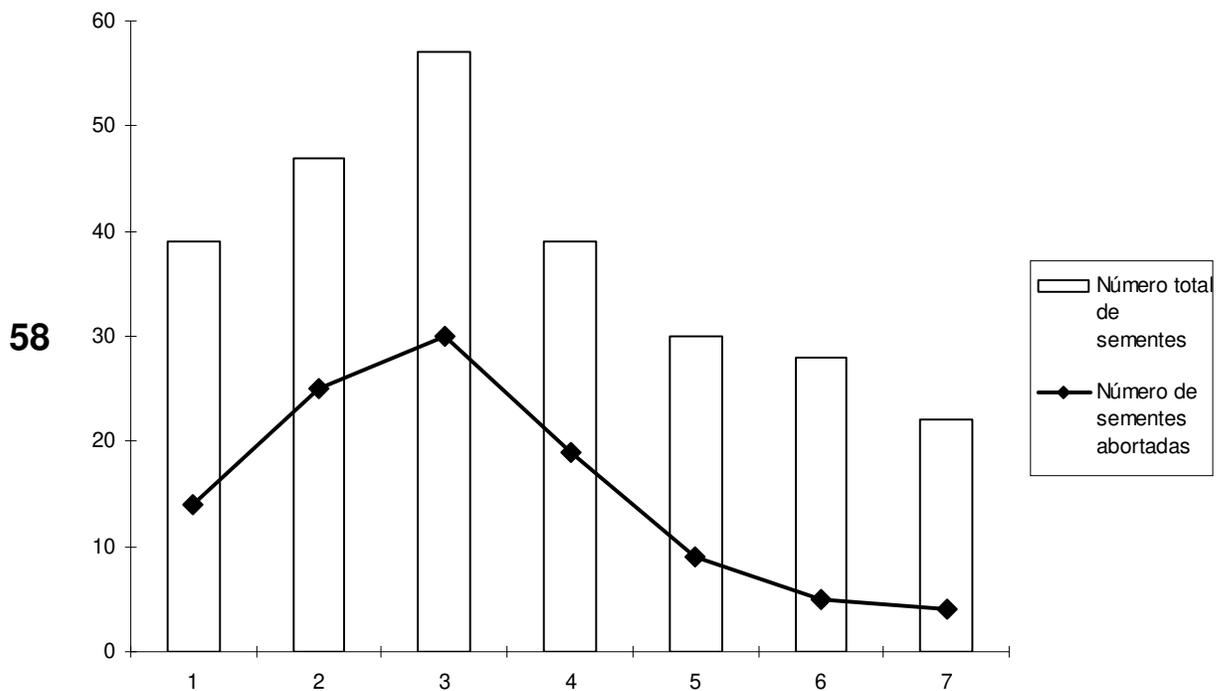
**Figuras 48-51.** Aborto de sementes em frutos de *Anemopaegma acutifolium* provenientes de diferentes tipos de polinização. Comparação do número de sementes produzidas e abortadas por fruto analisado. **48.** Frutos de polinização natural. **49.** Frutos de autopolinização. **50.** Frutos de polinização cruzada. **51.** Frutos de hibridação.



**Figuras 52-54.** Aborto de sementes em frutos de *Anemopaegma arvense* provenientes de diferentes tipos de polinização. Comparação do número de sementes produzidas e abortadas por fruto analisado. **52.** Frutos de polinização natural. **53.** Frutos de autopolinização. **54.** Frutos de polinização cruzada.



**Figuras 55-57.** Aborto de sementes em frutos de *Anemopaegma glaucum* provenientes de diferentes tipos de polinização. Comparação do número de sementes produzidas e abortadas por fruto analisado. **55.** Frutos de polinização natural. **56.** Frutos de autopolinização. **57.** Frutos de polinização cruzada.



**Figuras 58-59.** Aborto de sementes em frutos provenientes de polinização natural. **58.** Comparação do número de sementes produzidas e abortadas por fruto de *Anemopaegma scabriusculum* provenientes de polinização natural. **59.** Comparação da porcentagem média de sementes abortadas em frutos de polinização natural produzidos pelas espécies do complexo *Anemopaegma arvense*.

# CAPÍTULO 7

## **Poliploidia e poliembrionia em espécies de *Anemopaegma* (Bignoniaceae, Bignonieae)**

## RESUMO

A poliploidia é considerada um processo chave na evolução das plantas e, a formação assexual de embriões é tida como uma forma de escape da esterilidade de tais espécies poliplóides. A associação entre poliploidia e poliembrionia foi registrada em algumas espécies de Bignoniaceae, como *Handronathus chrysotrichus* e *H. ochraceous*. Até o momento, o tipo de apomixia que ocorre em Bignoniaceae foi determinado somente para *H. ochraceous*, sendo do tipo esporofítica (embrionia adventícia). No presente trabalho, a poliembrionia foi investigada nas espécies poliplóides de *Anemopaegma*: *A. acutifolium*, *A. arvense*, *A. glaucum* e *A. scabriusculum* e, na espécie diplóide *A. album*. Por meio da dissecação e da germinação de sementes verificou-se a ocorrência de múltiplos embriões nas espécies poliplóides e de um único embrião nas sementes da espécie diplóide. A porcentagem de sementes poliembrionicas verificada no teste de dissecação de sementes foi sempre maior que a verificada no teste de germinação. Em condições naturais (polinização natural), *A. scabriusculum* foi a espécie que produziu menor número de embriões por semente, sendo encontrados, no máximo, dois embriões. O tipo de pólen utilizado nos tratamentos de polinização controlada não influenciou na quantidade de embriões produzidos por semente, porém em *A. glaucum* foi observado um número significativamente maior de embriões em sementes provenientes de polinização natural. O número de embriões por semente também não foi alterado pela quantidade de sementes abortadas por fruto. A formação de embriões diminutos e com cotilédones membranáceos promoveu uma diferença entre o número de embriões produzidos e o número de plântulas originadas por sementes poliembrionicas, já que embriões com essa morfologia são os mais abundantes, porém não se estabelecem como plântulas. Fatores como origem do pólen e quantidade de sementes abortadas por fruto não influenciaram na quantidade de embriões produzidos. Existe uma correlação positiva entre sementes poliembrionicas e os mais elevados níveis de ploidia em espécies de *Anemopaegma*.

**Palavras-chave:** Bignoniaceae, *Anemopaegma*, poliploidia, poliembrionia.

## INTRODUÇÃO

A poliploidia, existência de mais de dois genomas no mesmo núcleo, é considerada um fenômeno comum nas plantas e, reconhecida como um processo chave para a geração da diversidade genética e especiação em plantas (GRANT 1981; RIESEBERG 1997). A ocorrência de poliploidia é relatada como sendo altamente variável entre os principais grupos de plantas (SOLTIS & SOLTIS 2000). Em gimnospermas é considerado um fenômeno raro enquanto que nas pteridófitas 95% das espécies são consideradas poliplóides e em angiospermas esse número varia de 30%-35% (STEBBINS 1971) a 80% (LEITH & BENNET 1997). A variação dessa estimativa deve-se ao critério adotado por cada autor para considerar que um determinado número cromossômico tenha surgido por poliploidização (FORNI-MARTINS 2000).

STEBBINS (1971) reconheceu três diferentes tipos de poliplóides: autopoliplóides, alopoliplóides e alopoliplóides segmentares. O surgimento de autopoliplóides ocorre a partir da duplicação de um único genoma, já a alopoliploidia e a alopoliploidia segmentar surgem a partir da duplicação do genoma de um híbrido gerado através do cruzamento de táxons distintos. De acordo com STEBBINS (1947), a alopoliploidia segmentar difere da alopoliploidia por ocorrer em híbridos gerados a partir de cruzamentos entre táxons próximos que possuem genomas bastantes homeólogos. A opinião mais aceita é que a alopoliploidia tenha exercido um papel mais importante na evolução e especiação das plantas que a autopoliplóideia.

O sucesso evolutivo das linhagens poliplóides depende da capacidade dos indivíduos de se reproduzirem e transmitirem seus genes para as gerações subsequentes. Portanto, o sistema sexual exerce um papel determinante no destino de tais linhagens poliplóides (PANNELL 2004). Nos alopoliplóides, a reprodução assexuada exerce um papel fundamental na permanência inicial dos híbridos na natureza já que, antes da poliploidização, os híbridos interespecíficos geralmente

apresentam graus variados de esterilidade devido a problemas de pareamento cromossômico e, somente após a duplicação genômica, a fertilidade destes é restaurada (STEBBINS 1971).

O modo de reprodução assexual geralmente relacionado à poliploidia é a apomixia, principalmente em linhagens alopoliplóides (ASKER & JERLING 1992). A apomixia é um método assexual de reprodução por meio de sementes que impede a meiose e a fertilização para culminar no desenvolvimento autônomo do embrião, produzindo, deste modo, uma progênie clonal (NOGLER 1984; SPILLANE *et al.* 2001). Em plantas apomíticas, o desenvolvimento sexual é desregulado em vários momentos: (1) a meiose é alterada ou está ausente para a produção de um gametófito feminino não reduzido e geneticamente idêntico à planta-mãe; (2) a fertilização é evitada, produzindo um embrião autônomo (partenogênese); (3) o desenvolvimento do endosperma é espontâneo, no caso da apomixia obrigatória, ou sexual, no caso da apomixia facultativa (KOLTUNOW 1993; SPILLANE *et al.* 2001; KOLTUNOW & GROSSNIKLAUS 2004).

Estudos embriológicos distinguem três diferentes mecanismos de apomixia baseados na origem e localização das células iniciais do desenvolvimento apomítico (KOLTUNOW 1993). De acordo com tal classificação, os tipos de apomixia geralmente reconhecidos nas angiospermas são: apomixia gametofítica, dividida em aposporia e diplosporia, e embrionia adventícia (NOGLER 1984; NAUMOVA 1992, 1997; KOLTUNOW 1993).

Na apomixia gametofítica, o saco embrionário surge de uma célula inicial não reduzida meioticamente. De acordo com o tipo de célula que dará origem ao saco embrionário, esse mecanismo de apomixia pode ser dividido em aposporia e diplosporia. Na aposporia, ou aposporia somática, células esporofíticas do óvulo, geralmente do nucelo, originam sacos embrionários não reduzidos, como resultado da divisão mitótica (NOGLER 1984; KOLTUNOW 1993; NAUMOVA 1997; SPILLANE *et al.* 2001). Nesse caso, os sacos embrionários não reduzidos podem coexistir com o formado meioticamente, tendo como consequência a formação de embriões apomíticos e zigótico na mesma semente. De acordo com NOGLER (1984), a maioria das espécies apospóricas é

pseudogâmica, pois necessita da fertilização dos núcleos polares para a formação do endosperma. Na diplosporia, ou aposporia generativa, o saco embrionário é formado de uma célula generativa (célula-mãe do megásporo), diretamente por mitose (diplosporia mitótica) ou indiretamente, por meiose modificada (diplosporia meiótica), tendo como produto final um saco embrionário não reduzido (NOGLER 1984; NAUMONA 1992; KOLTUNOW 1993; SPILLANE *et al.* 2001).

Na embrionia adventícia, os embriões assexuais são formados a partir de células do nucelo ou do tegumento interno. As células somáticas que originam os embriões são denominadas embriócitos (NAUMOVA 1992). Na maioria dos casos, a embrionia adventícia ocorre na presença de reprodução sexuada, sendo tais espécies consideradas apomíticas facultativas (RICHARDS 1997). Nestes casos, a formação de sementes poliembrionicas viáveis geralmente necessita da fertilização para a formação do endosperma (LAKSHMANAN & AMBEGAOKAR 1984; ASKER & JERLING 1992; NAUMOVA & CALZADA 2001). No entanto, a formação espontânea do endosperma ocorre em algumas espécies como relatado por GUPTA *et al.* (1996) para *Commiphora wightii*, uma espécie considerada apomítica autônoma ou obrigatória. Esta forma de apomixia é a mais comumente encontrada nas plantas tendo sido registrada por CARMAN (1997) em 57 famílias e 225 gêneros é a forma mais comum de produção de sementes poliembrionicas (NAUMOVA 1993).

Segundo LAKSHMANAN & AMBEGAOKAR (1984) embriões supranumerários das sementes poliembrionicas podem ser de natureza esporofítica ou gametofítica e podem ser originados por processo sexual ou apomítico. De acordo com esses autores, a produção sexual de embriões supranumerários ocorre a partir dos seguintes processos: (1) poliembrionia zigótica, onde os embriões supranumerários resultam da clivagem das células do embrião formado a partir da fertilização da oosfera; (2) poliembrionia a partir do suspensor, processo no qual os múltiplos embriões são originados a partir da divisão das células do suspensor do embrião zigótico; (3) poliembrionia com origem nas sinérgides, consta da fertilização da oosfera e de uma das sinérgides;

quando há a penetração do óvulo por um único tubo polínico, os embriões zigótico e da sinérgide não se desenvolvem pois não há formação do endosperma, portanto, a poliembriõnia nesse caso só forma semente poliembriônica quando mais de um tubo polínico consegue alcançar o óvulo e participar da fecundação. Já a produção esporofítica de tais embriões ocorre geralmente a partir das células do nucleolo ou dos tegumentos (embriócitos) (NAUMOVA 1993).

Segundo NOGLER (1984) e ASKER & JERLING (1992), o tipo de apomixia mais associado à poliploidia é a apomixia gametofítica e a condição poliplóide não é comum em espécies com embriõnia adventícia. A associação poliploidia/apomixia gametofítica foi confirmada no estudo de CAMPELL & DICKINSON (1990) para a subfamília Maloideae (Rosaceae) e por GOLDENBERG & SHEPHERD (1998), para as espécies da tribo *Miconieae* (Melastomataceae), apesar deste último não explicitar o tipo de apomixia que ocorre na tribo. Porém, condição poliploidia/embriõnia adventícia foi registrada por MENDES-RODRIGUES *et al.* (2005) em *Eriotheca pubescens*.

Em Bignoniaceae, a poliembriõnia foi detectada pela primeira vez por PIAZZANO (1998), ao realizar estudos citogenéticos em *Handroanthus chrysotrichus* (= *Tabebuia chrysotricha*). Posteriormente, estudos baseados na germinação de sementes detectaram a poliembriõnia em *Handroanthus ochraceous* (= *Tabebuia ochracea*; SALOMÃO & ALLEM 2001; COSTA *et al.* 2004), *Handroanthus chrysotrichus* (BITTENCOURT Jr & SEMIR 2005), *Anemopaegma chamberlaynii* (CORREIA *et al.* 2005) e *A. arvense* (PEREIRA *et al.* 2007). De todos os estudos supracitados somente o realizado por COSTA *et al.* (2004) em *Handroanthus ochraceous* relatou o tipo de poliembriõnia e a origem dos embriões supranumerários. De acordo com os resultados obtidos, a espécie foi considerada apomítica facultativa e apresenta apomixia do tipo embriõnia adventícia, sendo os embriões supranumerários formados a partir de células nucleares da hipóstase, e ocasionalmente, da região micropilar do tegumento.

A partir da constatação da diferença nos níveis de ploidia encontrados entre as espécies do gênero *Anemopaegma* (FIRETI-LEGGIERI *et al.* no prelo) e da evidência de uma associação entre poliploidia e poliembrionia em *Handroanthus chrysotrichos* (*Tabebuia chrysotricha*) as seguintes perguntas foram feitas: (1) As espécies poliplóides de *Anemopaegma*, assim como em *Handroanthus*, também apresentam sementes poliembriônicas? (2) A espécie diplóide, *A. album*, apresenta o mesmo comportamento reprodutivo que as espécies poliplóides? (3) O número de plântulas originadas por semente é igual ao número de embriões existente em cada semente? (4) A origem do pólen influencia no número de embriões presentes em cada semente? (5) Nas espécies que possuem sementes poliembriônicas, o número de embriões por semente está positivamente correlacionado à quantidade de sementes abortadas por fruto como observado por GANESHIAH *et al.* (1991) em espécies de *Citrus*?

O presente trabalho teve como principal objetivo constatar a presença de poliembrionia em espécies poliplóides e teve como objetivos específicos: (1) quantificar os embriões produzidos por semente e verificar a possibilidade de tais embriões produzirem plântulas; (2) determinar se a origem do pólen influencia na presença e quantidade de embriões supranumerários formados já que as espécies poliplóides do gênero são auto-compatíveis e interférteis; (3) verificar se a teoria de SHANKER & GANESHIAH (1996) sobre a prevenção da planta-mãe contra a perda de progênie por aborto de sementes, ocorre em *Anemopaegma* assim como foi demonstrada para as espécies de *Citrus*. Segundo tal teoria, a poliembrionia seria uma estratégia da planta-mãe de gerar mais embriões por semente para compensar a perda de embriões devido ao aborto de sementes do mesmo fruto. Esse aborto seria causado principalmente pela competição entre as sementes por recursos maternos.

## MATERIAL E MÉTODOS

### *Espécies estudadas*

As espécies escolhidas para o presente estudo são subarbustos e arbustos do gênero *Anemopaegma* com ampla distribuição em áreas de cerrado, principalmente em áreas abertas e expostas a perturbações como queimadas periódicas. As espécies *Anemopaegma acutifolium* DC., *A. arvense* (Vell.) Stellf. ex de Souza, *A. glaucum* Mart. ex DC. e *A. scabriusculum* Mart. ex DC., compõem um complexo dentro do gênero *Anemopaegma* onde são verificados vários morfotipos intermediários em locais onde tais espécies ocorrem simpatricamente. Em um estudo prévio, verificou-se a poliploidia nestas espécies ( $2n = 80$ ) (FIRETTI-LEGGIERI *et al.* no prelo). Uma quinta espécie do gênero, *A. album* Mart. ex DC., foi escolhida devido ao fato de ser diplóide ( $2n = 40$ ) (FIRETTI-LEGGIERI *et al.* no prelo), externa ao complexo supracitado e filogeneticamente próxima a este grupo de espécies (WINKWORTH & LOHMANN, in prep.).

### *Material utilizado*

O material utilizado para a verificação da presença de poliembrião constou de sementes provenientes de frutos maduros das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* (*A. acutifolium*, *A. arvense*, *A. glaucum* e *A. scabriusculum*) e de *A. album*, não pertencente ao complexo. Os frutos maduros foram coletados em populações presentes em áreas de cerrado dos estados da Bahia, Minas Gerais e São Paulo e do Distrito Federal (Tabela 1). Os espécimes representantes de cada população estão depositados no herbário da Universidade Estadual de Campinas (UEC-UNICAMP).

Frutos provenientes de polinizações controladas e natural foram coletados e armazenados em sacos de papel separadamente de acordo com a espécie e tipo de polinização. Após a coleta, estes foram mantidos na casa de vegetação pertencente ao Departamento de Biologia Vegetal da

UNICAMP, onde permaneceram expostos ao calor do sol até a total deiscência, já que todos os frutos quando coletados apresentavam-se fechados. Não foi possível obter frutos de todos os tratamentos para todas as espécies devido a uma série de fatores. Nas populações das espécies presentes no Distrito Federal, vários frutos foram perdidos devido à passagem de fogo (populações presentes em áreas abertas como a do cerrado da Universidade de Brasília) ou devido ao corte das plantas que foram constantes dentro da Reserva Ecológica do IBGE. Para *A. album* e *A. scabriusculum*, foram utilizados somente frutos de polinização natural devido ao alto custo das viagens à Bahia que não permitiram a espera da maturação dos frutos de polinizações controladas realizadas pelo primeiro autor deste trabalho.

#### *Verificação da poliembriõia por dissecação*

O número de embriões produzidos por semente e a morfologia destes foram verificados através da dissecação de sementes.

Depois de selecionadas e classificadas em sementes viáveis e não viáveis (abortadas), as sementes que possuíam embrião (viáveis) foram mantidas em recipiente com água destilada por 24 horas e, posteriormente dissecadas sob estereomicroscópio Olympus.

Neste teste foram utilizadas 1.841 sementes no total com a seguinte distribuição entre as espécies: *A. acutifolium* = 475 sementes; *A. album* = 80 sementes; *A. arvense* = 333 sementes; *A. glaucum* = 893 sementes; *A. scabriusculum* = 60 sementes.

A representação morfológica dos embriões foi feita através de fotografias obtidas com câmara digital acoplada ao estereomicroscópio Filedmann Wild Leitz (FWL-SM 7.5).

### *Verificação da poliembrião por germinação*

As sementes de cada fruto foram contadas, medidas e separadas quanto à existência ou não de embrião (sem viáveis ou abortadas). As sementes que possuíam embrião foram selecionadas e submetidas ao teste de germinação.

O teste de germinação teve por objetivo verificar quantidade de embriões presentes em cada semente que dariam origem a plântulas. Um total de 1.832 sementes, após terem suas alas parcialmente retiradas, foram acondicionadas em caixas de germinação (GERBOX) contendo papel de germinação umedecido com água destilada. Cada caixa continha as sementes de um único fruto proveniente de um determinado tratamento de polinização. As caixas contendo as sementes permaneceram em câmara de germinação (Tecna TEC-401) com temperatura entre 25-27 °C e luz constante por 45 dias. Do número total de sementes utilizadas 92 foram de *A. acutifolium*, 437 de *A. arvense*, 719 de *A. glaucum* e 55 de *A. scabriusculum*.

As sementes foram acompanhadas durante 45 dias, período em que foram anotadas as seguintes informações: (1) número de sementes germinadas; (2) número de sementes não germinadas; (3) número de sementes podres; (4) presença/ausência de raiz e parte aérea; (5) número de plântulas originadas por semente.

A poliembrião foi considerada positiva quando duas ou mais plântulas emergiam de cada semente.

### *Análises estatísticas*

A comparação da quantidade de sementes poliembriônicas formadas por tratamento e a comparação do número de embriões por semente formado a partir de cada tratamento foram feitas a partir de análise de variância ANOVA e teste de Bonferroni *a posteriori* com correção do p para as comparações par a par. Para verificar a existência de correlação entre quantidade de sementes

abortadas e o número de embriões formados pelas sementes viáveis em frutos provenientes de polinização natural utilizou-se regressão linear.

**Tabela 1.** Populações de *Anemopaegma* utilizadas no estudo.

<b>Espécie</b>	<b>Cidade-Estado</b>	<b>Local de coleta</b>	<b>Voucher (população)</b>
<i>A. acutifolium</i>	Brasília-DF	IBGE	<i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 194
	Prata-MG	BR-153	<i>F. Firetti et al.</i> 43
<i>A. album</i>	Mucugê-BA	Chapada Diamantina	<i>F. Firetti et al.</i> 39
<i>A. arvense</i>	Assis-SP	Rodovia Castello Branco	<i>F. Firetti et al.</i> 25
	Mogi-Guaçu-SP	Fazenda Campinha	<i>F. Firetti et al.</i> 129
	Brasília-DF	IBGE	<i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 204
	Brasília-DF	UnB	<i>F. Firetti &amp; C.P. Firetti</i> 78
<i>A. glaucum</i>	Assis-SP	Rodovia Castello Branco	<i>F. Firetti et al.</i> 19
	Brasília-DF	IBGE	<i>F. Firetti et al.</i> 57
	Brasília-DF	UnB	<i>F. Firetti et al.</i> 76
<i>A. scabriusculum</i>	Mucugê-BA	Chapada Diamantina	<i>F. Firetti et al.</i> 91

## RESULTADOS

A produção de sementes poliembriônicas foi registrada em todas as espécies poliplóides do complexo, enquanto que a espécie diplóide *A. album* apresentou 100% de sementes monoembriônicas.

A porcentagem de sementes poliembriônicas variou de entre as espécies, entre as populações e entre os frutos analisados, porém essa característica reprodutiva foi constante sendo encontrada em frutos provenientes de todas as populações analisadas.

## *Dissecação de sementes*

Através do teste de dissecação de sementes verificou-se que a porcentagem de sementes poliembriônicas produzidas pelas espécies poliplóides do complexo *Anemopaegma arvense* foi acima de 40% e variou de 41,51% a 90,62%. A maior porcentagem de sementes poliembriônicas foi observada nas sementes de *Anemopaegma arvense*, principalmente em sementes provenientes de autopolinização (90,62%) (Tabela 3). Já em *A. acutifolium* e *A. glaucum* houve maior porcentagem de poliembria em sementes provenientes de polinização natural (Tabelas 2 e 4). Apesar de diferença na porcentagem de sementes poliembriônicas entre os tratamentos de polinização, esta diferença não se mostrou significativa estatisticamente para *A. acutifolium* ( $F = 1.9632$ ;  $p = 0.1549$ ) e para *A. glaucum* ( $F = 1.0095$ ;  $p = 0.3758$ ), duas espécies em que a aplicação do testes estatísticos foi possível.

O número de embriões por semente variou de dois a sete em *Anemopaegma glaucum* (Tabela 4; Figura 3) e de dois a seis em *A. acutifolium* e *A. arvense* (Tabelas 2 e 3; Figuras 1 e 2). Já em *A. scabriusculum*, o número máximo de embriões por semente foi dois ( $1,09 \pm 0,05$ ) (Figura 4). O número mais comum de embriões encontrado nas sementes da maioria das espécies e dos tratamentos de polinização foi dois (Tabelas 2 e 4; Figuras 1, 3 e 4), exceto nas sementes de *A. arvense* provenientes de autopolinização onde o número mais frequente de embriões por semente foi quatro (Tabela 3; Figura 2). Comparando-se o número médio de embriões produzidos por semente pelas espécies em condições naturais (a partir de polinização natural), verifica-se uma produção significativamente maior de embriões em *Anemopaegma arvense* e *A. glaucum* quando comparadas à *A. acutifolium* e *A. scabriusculum* ( $F = 9.8437$ ;  $p < 0.01$ ). Já a comparação do número médio de embriões produzidos por semente realizada entre os tratamentos de polinização não foi significativamente diferente em *A. acutifolium* ( $F = 0.3651$ ;  $p = 0,7813$ ), entretanto, em *A. glaucum*

houve uma diferença significativa entre as sementes de autopolinização e polinização natural ( $F = 3.9733$ ;  $p < 0.025$ ), sendo menor em sementes provenientes de autopolinização.

**Tabela 2.** Porcentagem de sementes poliembriônicas e porcentagem de sementes com diferentes quantidades de embriões encontradas em sementes viáveis de *Anemopaegma acutifolium* DC. provenientes de distintos tratamentos de polinização.

Tratamentos	% de sementes poliembriônicas	Número de embriões Média d.p.	% de sementes com diferentes quantidades de embriões					
			1	2	3	4	5	6
<i>Autopolinização</i>	41,51	1,7 ± 0,37	58,47	22,03	14,4	3,39	1,69	0
<i>Polinização cruzada</i>	42,09	1,62 ± 0,17	57,89	26,31	15,78	0	0	0
<i>Polinização natural</i>	53,06	1,85 ± 0,49	46,92	29,12	15,21	4,85	1,29	2,59
<i>Hibridação</i>	45,93	1,76 ± 0,14	54,05	27,02	13,51	0	5,4	0

**Tabela 3.** Porcentagem de sementes poliembriônicas e porcentagem de sementes com diferentes quantidades de embriões encontradas em sementes viáveis de *Anemopaegma arvense* provenientes de distintos tratamentos de polinização.

Tratamentos	% de sementes poliembriônicas	Número de embriões Média d.p	% de sementes com diferentes quantidades de embriões					
			1	2	3	4	5	6
<i>Autopolinização</i>	90,62	3,35 ± 0,6	9,37	21,87	18,75	28,12	12,5	9,37
<i>Polinização natural</i>	78,72	2,67 ± 0,72	21,26	28,96	26,24	10,86	10,4	2,26

**Tabela 4.** Porcentagem de sementes poliembriônicas e porcentagem de sementes com diferentes quantidades de embriões encontradas em sementes viáveis de *Anemopaegma glaucum* provenientes de distintos tratamentos de polinização.

Tratamentos	% de sementes poliembriônicas	Número de embriões Média d.p.	% de sementes com diferentes quantidades de embriões						
			1	2	3	4	5	6	7
<i>Autopolinização</i>	51,26	1,78 ± 0,56	49,71	28,24	15,25	4,52	1,69	0,56	0
<i>Polinização cruzada</i>	70,37	2,15 ± 0,55	29,63	31,48	19,45	10,18	9,26	0	0
<i>Polinização natural</i>	72,28	2,48 ± 0,74	27,7	31,97	20,42	11,54	6,75	0,71	0,89

#### *Relação do número de sementes abortadas x quantidade de embriões*

A quantidade de sementes abortadas e a quantidade de embriões produzidos nas sementes viáveis foram observadas nos frutos provenientes de polinização natural de *Anemopaegma acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum*. Esta análise objetivou verificar se nas espécies supracitadas as sementes que sobrevivem em cada fruto produzem uma quantidade de embriões compatível com a quantidade de sementes abortadas. Tal relação não foi verificada nos frutos de polinização natural de tais espécies, ou seja, o número de sementes abortadas por fruto não influencia na quantidade de embriões produzidos pelas sementes que sobrevivem (Figuras 5-7).

#### **Morfologia dos embriões**

Em sementes monoembriônicas, os embriões são de coloração branca, possuem eixo hipocótilo-radícula curto e dois cotilédones bilobados (Figura 8). Já em sementes poliembriônicas, os embriões apresentam tamanhos variados com uma considerável diferença nas dimensões entre os maiores e os menores (Figura 12). Quando há dois embriões ou mais, estes possuem cotilédones deformados (Figuras 9-12) e nos embriões menores (ca. de 0,3 cm) os cotilédones são membranáceos e estes geralmente não germinam.

## Germinação de sementes

As sementes foram consideradas germinadas quando foi observada a protrusão da raiz. Todas as 333 sementes submetidas ao teste de germinação com as alas intactas não germinaram, sendo verificado o apodrecimento das mesmas após 15 dias do início do teste. Já nas sementes que tiveram suas alas retiradas antes de serem submetidas ao teste de germinação, verificou-se a protrusão da raiz cinco dias após o início do teste.

A porcentagem de sementes germinadas foi acima de 50% em todas as espécies e em todos os tratamentos de polinização. As sementes provenientes de polinização natural de todas as espécies apresentaram porcentagem de germinação acima de 60%. Em *Anemopaegma arvense*, a maior porcentagem de germinação foi verificada em sementes provenientes de polinização natural e em *A. glaucum*, essa condição foi verificada na autopolinização (Tabela 2).

A poliembrião foi detectada em uma porcentagem variável de sementes entre as espécies do complexo *Anemopaegma arvense* e entre os tratamentos de polinização realizados em cada espécie (Tabela 3). A porcentagem de poliembrião variou de 7,69% a 38,7% nas sementes provenientes de polinização natural, sendo a menor porcentagem registrada em *Anemopaegma scabriusculum*. Nas espécies em que foi possível a comparação de poliembrião entre os tratamentos de polinização, verificou-se que em *A. arvense* o maior valor foi encontrado em sementes provenientes de autopolinização (28,3%) e em *A. glaucum* este foi registrado em sementes de polinização natural (38,7%).

A quantidade de plântulas observada em cada semente variou de duas a quatro, sendo predominantemente duas (Figuras 13-16).

Como observado na Tabela 5 e na Figuras 17-19, a porcentagem de sementes poliembriônicas registradas a partir do teste de dissecação foi sempre maior que as registradas a partir do teste de germinação.

**Tabela 5.** Porcentagem de germinação das sementes das espécies de *Anemopaegma* provenientes de distintos tratamentos de polinização e porcentagem de sementes poliembriônicas. %G = porcentagem de sementes germinadas a partir do total de sementes utilizadas; %P = porcentagem de sementes poliembriônicas calculada a partir das sementes germinadas.

Espécie	Autopolinização		Polinização cruzada		Polinização natural	
	%G	%P	%G	%P	%G	%P
<i>A. acutifolium</i>	-	-	-	-	65,21	23,34
<i>A. album</i>	-	-	-	-	75,53	0
<i>A. arvense</i>	53,33	28,3	52,3	4,41	62,98	28
<i>A. glaucum</i>	84	9,52	50,6	12,04	72,64	38,7
<i>A. scabriusculum</i>	-	-	-	-	70,9	7,69

## DISCUSSÃO

A poliembriõnia foi verificada somente nas espécies poliplóides do complexo *Anemopaegma arvense*. Na espécie diplóide *A. album*, externa ao complexo, todas as sementes analisadas possuíam apenas um embrião. A ocorrência de poliembriõnia, juntamente com poliploidia, foi relatada em outras famílias de eudicotiledôneas como Malvaceae e de monocotiledôneas, como Orchidaceae. MENDES-RODRIGUES *et al.* (2005) relataram a presença de sementes poliembriônicas em frutos de *Eriotheca pubescens*, uma espécie poliplóide dos cerrados brasileiros. Para Orchidaceae, TEPPNER (1996), registrou a ocorrência de poliembriõnia e apomixia em espécies poliplóides e reprodução sexual em espécies diplóides do gênero *Nigrittela*. Em Bignoniaceae, a relação entre poliembriõnia e poliploidia foi verificada em *Handroanthus chrysotrichus* (Mart. ex DC) Mattos (= *Tabebuia chrysotricha* (Mart. ex DC) Standl.) por PIAZZANO (1998) e por ORTOLANI (2007) e em *Handroanthus chrysotrichus* e *H. ochraceus* (Cham.) Mattos (= *Tabebuia ochracea* (Cham.)

Standl) por BITTENCOURT Jr (2003) e por MATOS (2003). ORTOLANI (2007) demonstrou a existência de citótipos diplóides e tetraplóides em *H. chrysotrichus* e observou a variação na existência de poliembrião entre os citótipos, sendo constatada poliembrião somente em indivíduos poliplóides. No gênero *Anemopaegma*, o único registro de poliembrião existente é em *A. chamberlaynii* (CORREIA *et al.* 2005), porém esta espécie é descrita como diplóide (VENKATASUBBAN 1945). A ausência da relação entre poliploidia e poliembrião demonstrada em *A. chamberlaynii* (diplóide e poliembriônica) também foi verificada em *Dolichandra unguis-cati* (L.) L.G. Lohmann (= *Macfadyena unguis-cati* (L.) A.H. Gentry), uma espécie poliplóide (BOWDEN 1945; VENKATASUBBAN 1945; JULIER 1989; PIAZZANO 1998) e não poliembriônica. Tal fato pode ser atribuído a falta de relação entre poliembrião e poliploidia nas espécies de Bignoniaceae ou pode dever-se a escassez de investigações de tais características na mesma população, já que como foi observado em *Handroanthus ochraceous* por CORREIA *et al.* (2004), a condição poliembriônica varia entre populações da mesma espécie. Os autores que registraram tal diferença no comportamento reprodutivo de *H. ochraceous* não realizaram estudos cromossômicos nas distintas populações para saber se havia também diferença no número cromossômico. Portanto, futuras investigações devem unir esses dois aspectos para que a hipótese de relação entre o alto nível de ploidia e a poliembrião encontrada nas espécies do complexo *Anemopaegma arvense* seja refutada ou corroborada para outras espécies da família Bignoniaceae.

Segundo ASKER & JERLING (1992) e KOLTUNOW (1993), a poliploidia, principalmente neopoliplóides, está mais intimamente relacionada à apomixia gametofítica (aposporia e diplosporia), enquanto que a embrião adventícia (apomixia esporofítica) ocorre predominantemente em espécies ou linhagens diplóides. Essa relação foi demonstrada em famílias como Rosaceae (CAMPBELL *et al.* 1987; CAMPBELL & WRIGHT 1996). Porém, estudos embriológicos realizados nas espécies poliplóides supracitadas, inclusive em *Handroanthus chrysotricus*, revelaram a produção de

embriões assexuais por embrionia adventícia, ou seja, embriões gerados a partir de células do nucelo ou do tegumento.

Em Bignoniaceae, o tipo de apomixia foi determinado até então somente para *Handroanthus ochraceus* por CORREIA *et al.* (2004). De acordo com os autores, os embriões supranumerários são produzidos a partir de células da hipóstase e do endotélio, caracterizando assim a apomixia esporofítica (embrionia adventícia). Análises morfológicas feitas na referida espécie revelaram número bastante variável de embriões produzidos por semente e anomalia nos cotilédones dos vários embriões. Baseando-se na variação da quantidade de embriões formados e na morfologia dos embriões supranumerários, sugere-se a ocorrência de embrionia adventícia (apomixia esporofítica) para as espécies do complexo *Anemopaegma arvense* já que tais características assemelham-se às encontradas por CORREIA *et al.* (2004) para *Handroanthus ochraceus*. Segundo LAKSHMANAN & AMBEGAOKAR (1984), os embriões produzidos a partir de células do nucelo apresentam cotilédones desiguais em comprimento e espessura e, de acordo com NAUMOVA (1992), a embrionia adventícia é a forma de apomixia mais comum para a formação de sementes poliembriônicas. Apesar de tais evidências, ressalta-se a imprescindível realização de estudos histológicos para a confirmação do tipo de apomixia para estas espécies.

A produção de sementes poliembriônicas pelas espécies do complexo *Anemopaegma arvense* se mostrou constante, sendo registrada em todas as populações utilizadas neste estudo. Isto contrasta dos resultados encontrados em outras espécies poliembriônicas do cerrado como *Eriotheca pubescens* (MENDES-RODRIGUES *et al.* 2005) e *Handroanthus ochraceus* (CORREIA *et al.* 2004), para as quais foram encontrados indivíduos que produziam somente sementes monoembriônicas. De acordo com GOLDENBERG & SHEPHERD (1998), espécies com ampla distribuição geográfica apresentam variação nas características reprodutivas ao longo de sua

distribuição e, segundo ASKER & JERLING (1992), as espécies apomíticas são encontradas principalmente em habitats perturbados ou em locais onde a reprodução sexual é dificultada. Apesar da ampla distribuição de algumas espécies do complexo, como *A. arvense*, a constância da poliembrião pode ser explicada pela homogeneidade dos locais onde tais espécies ocorrem. *Anemopaegma arvense*, por exemplo, ocorre principalmente em áreas de cerrado antropizado e sujeitos a passagem periódica de fogo.

O desenvolvimento de frutos e sementes ocorreu somente em flores polinizadas em condições naturais ou por polinização controlada (FIRETTI-LEGGIERI Capítulo 6). A ausência de produção de frutos em flores emasculadas ou que não sofreram um processo ativo de polinização indica a ocorrência de apomixia facultativa (pseudogamia) nas espécies de *Anemopaegma*, ou seja, a fertilização é necessária para a formação do embrião sexual e do endosperma ou somente do endosperma, quando há degeneração do embrião zigótico. A apomixia facultativa pode ser interpretada como um caráter adaptativo por permitir uma reprodução abundante e garantida, através da formação assexuada de embriões, de genótipos bem sucedidos com a geração de novidades genéticas através da reprodução sexual (CLAUSEN 1954). Segundo NAUMOVA (1992), a maioria das espécies apomíticas apresenta apomixia facultativa e a formação autônoma do endosperma é considerada uma condição rara em tais espécies (ex. *Commiphora wightii*, GUPTA *et al.* 1996; *Taraxacum officinale*, van BAARLEN *et al.* 2002). De acordo com NAUMOVA (1992) e KOLTUNOW & GROSSNIKLAUS (2003), a formação de embriões viáveis e o estabelecimento bem sucedido das plântulas após a germinação requerem o suprimento nutricional do endosperma e, se a fertilização não ocorre, os embriões adventícios crescem até determinado estágio por obterem nutrientes da degradação das células do nucelo e do tegumento interno, porém estes embriões alcançam somente os estágios iniciais de desenvolvimento não formando, portanto, sementes viáveis (WAKANA & UEMOTO 1987).

Neste estudo foi detectada uma diferença na porcentagem de sementes poliembriônicas de acordo com o tipo de metodologia aplicada. A porcentagem de sementes poliembriônicas verificada no teste de dissecação se mostrou até seis vezes maior que a registrada no teste de germinação. Esta diferença na frequência de sementes poliembriônicas foi também expressa nos trabalhos de SALOMÃO & ALLEM (2001) e de CORREIA *et al.* (2004) para *Handroanthus ochraceous*. Através dos testes de germinação, SALOMÃO & ALLEM (2001) registraram 3% de sementes poliembriônicas para a espécie, enquanto que CORREIA *et al.* (2004), utilizando o método de dissecação das sementes, mostraram que 81,37% das sementes possuíam mais de um embrião. Acredita-se que essa diferença discrepante encontrada entre os dois testes seja devido à inviabilidade dos embriões com dimensões reduzidas e cotilédones membranáceos, que não originam plântulas e, portanto são detectados somente através da dissecação das sementes. As diferenças na morfologia dos embriões e na capacidade destes de germinarem e formarem plântulas podem ser explicadas pela formação e maturação contínua de embriões nucelares como observado em *Citrus* por KOLTUNOW (1993) ou pela competição de recursos e espaço disponíveis para a completa maturação destes (WAKANA & UEMOTO 1987,1988).

O número de embriões presentes nas sementes de espécies poliembriônicas parece ser um caráter plástico influenciado por vários fatores como: idade da planta-mãe, estado nutricional do fruto, origem do pólen e fatores ambientais (LAKSHMANAN & AMBEGAOKAR 1984). A partir do teste de dissecação, que permitiu a quantificação de embriões produzidos por semente, não foi constatada diferença significativa no número de embriões formados por semente entre os frutos provenientes de diferentes tratamentos de polinização em *Anemopaegma acutifolium*. Já em *A. glaucum*, sementes de polinização natural produziram uma quantidade significativamente maior de embriões que as sementes provenientes de autopolinização e tal diferença foi também observada no

teste de germinação onde a maior porcentagem de sementes com mais de uma plântula foi verificada em sementes provenientes de polinização natural. De acordo com MENDES-RODRIGUES *et al.* (2005), em espécies apomíticas que pertencem a grupos auto-incompatíveis, como é o caso de *Anemopaegma*, pertencente a uma família com sistema reprodutivo predominantemente auto-incompatível, sementes provenientes de polinização cruzada produziram menor número de embriões adventícios devido ao maior vigor do embrião sexual. Porém, tanto em *Eriotheca pubescens* quanto em *A. glaucum* esta condição não foi observada, sendo encontrado menor número de embriões em sementes de autopolinização.

*Anemopaegma scabriusculum* produziu menor número de embriões por semente quando comparada às outras espécies do complexo, sendo produzidos somente dois embriões nas sementes poliembriônicas. A baixa produção de embriões por semente pode ser atribuída ao curto período de desenvolvimento do fruto, já que a espécie possui dois a três ciclos reprodutivos por ano (SILVA & QUEIROZ 2003). Em contraste, as demais espécies do complexo, que possuem maior quantidade de embriões por semente, apresentam um único evento de floração e frutificação por ano e os frutos têm um período de cerca de dez meses para atingirem o desenvolvimento completo (FIRETTI-LEGGIERI Capítulo 5). De acordo com o encontrado por KOLTUNOW (1993) nas espécies poliembriônicas de *Citrus* e o observado por CORREIA *et al.* (2004) em *Handroanthus ochraceous*, o desenvolvimento dos embriões supranumerários é contínuo durante o processo de maturação da semente, tendo como consequência a variação no número e na morfologia destes embriões.

Em um estudo com diversas espécies poliembriônicas de *Citrus*, GANESHAIH *et al.* (1991), demonstraram que o número de embriões produzidos por semente é positivamente correlacionado com o número de sementes abortadas em cada fruto analisado. Segundo SHANKER & GANESHAIH (1996), as espécies com embrionia adventícia como *Citrus* spp., produzem embriões supranumerários para compensar a perda de progênie ocorrida pelo aborto de sementes

desencadeado pela competição entre as sementes de um mesmo fruto pelos recursos da planta-mãe. Portanto, de acordo com os autores, o maior número de embriões será encontrado em espécies ou frutos onde a há maior propensão de abortamento de sementes. Esta correlação observada nas espécies de *Citrus* não foi verificada nas três espécies analisadas do complexo *Anemopaegma arvense*, sendo o número médio de embriões encontrado nas sementes de cada fruto indenpende do número de sementes abortadas pelo mesmo fruto.

*Anemopaegma arvense* é uma espécie amplamente utilizada na medicina popular (embrapa), com ação anti-tumoral comprovada (LEE *et al.* 2002; UCHINO *et al.* 2004) e mais recentemente, usada na produção de cosméticos (KOKOU *et al.* 2000, SHIMIZU 2001). Devido as suas múltiplas propriedades, a espécie foi incluída em um programa de pesquisa e conservação do Estado de São Paulo, Programa de Pesquisa da Biodiversidade do Estado de São Paulo (BIOTA) (PEREIRA *et al.* 2007). Apesar de seu uso tão difundido, a matéria-prima é obtida a partir de extrativismo não havendo, portanto, o cultivo desta espécie. A identificação da poliembrionia e o futuro uso desta característica reprodutiva podem ser úteis para o cultivo em larga escala de tal espécie já que a apomixia é uma característica reprodutiva atrativa para o melhoramento de espécies cultiváveis, pois proporciona a formação de grandes populações geneticamente uniformes e perpetua o vigor híbrido através de sucessivas gerações de sementes (BICKNELL & KOLTUNOW 2004).

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Asker SE, Jerling L. 1992. *Apomixis in Plants*. Boca Raton: CRC Press.
- Baker HG. 1960. Apomixis and Polyembryony in *Paquira oleaginea* (Bombacaceae). *American Journal of Botany* 47: 296-302.

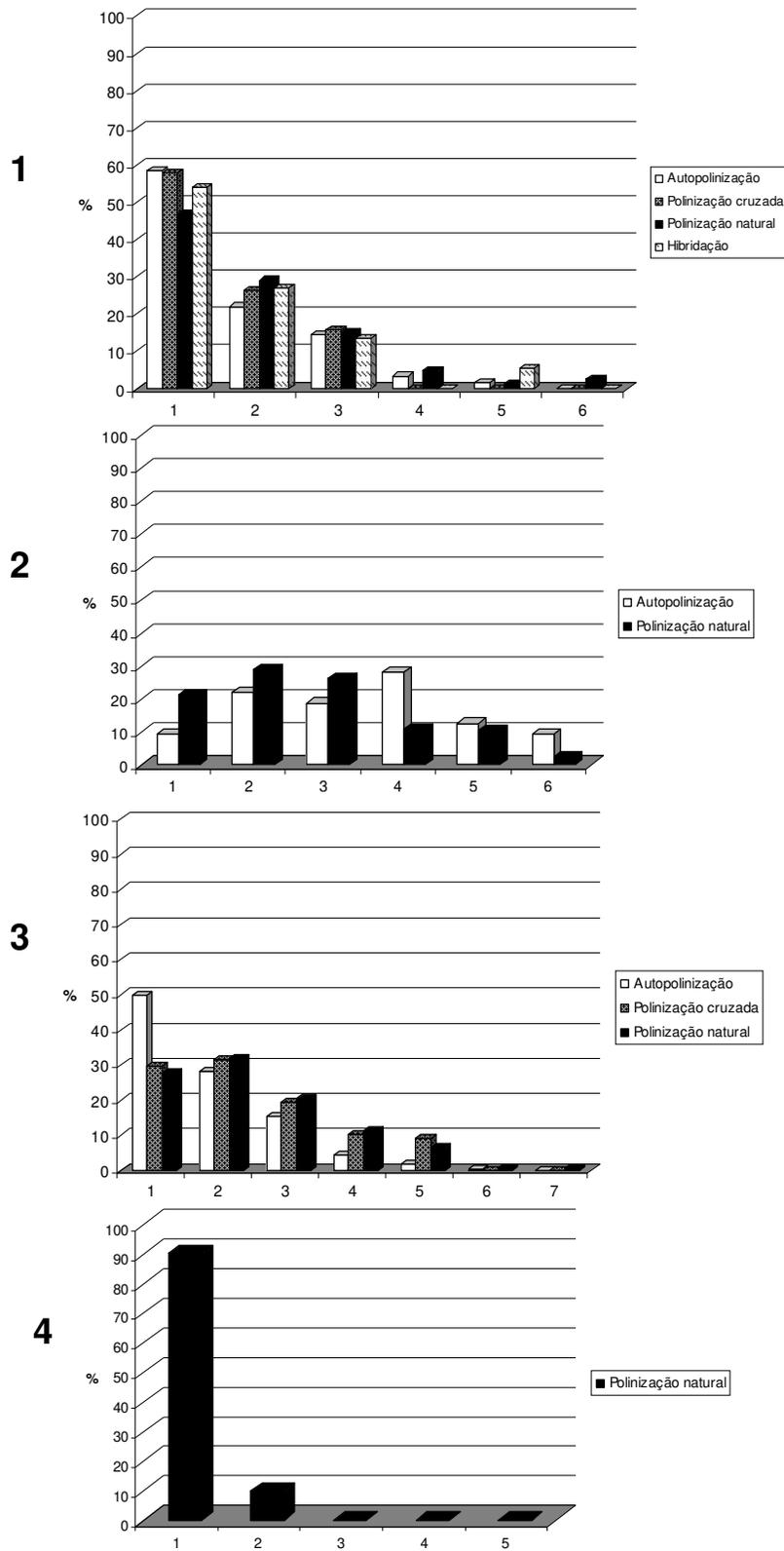
- Bicknell RA, Koltunow AM. 2004.** Understanding Apomixis: Recent Advances and Remaining Conundrums. *The Plant Cell* **16**: S228-S245.
- Bittencourt Jr. NS. 2003.** *Auto-incompatibilidade de ação tardia e outros sistemas reprodutivos em Bignoniaceae*. Tese de Doutorado. Departamento de Biologia Vegetal. Universidade estadual de Campinas, Campinas, SP.
- Bowden WM. 1945.** A list of chromosome numbers in higher plants. I. Acanthaceae to Myrtaceae. *American Journal of Botany* **32**: 81-92.
- Calzada JPV, Crane CF, Stelly DM. 1996.** Apomixis – The Assexual Revolution. *Science* **274**: 1322-1323.
- Campbell CS, Dickinson TA. 1990.** Apomixis, patterns of morphological variation, and species concepts in subfamily Maloideae (Rosaceae). *Systematic Botany* **15**: 124-135.
- Campbell CS, Wright WA. 1996.** Apomixis, hybridization and taxonomic complexity in eastern North American *Amelanchier* (Rosaceae). *Folia Geobotanica & Phytotaxonomica* **31**: 345-354.
- Campbell CS, Greene CW, Bergquist SE, 1987.** Apomixis and Sexuality in Three Species of *Amelanchier*, Shadbush (Rosaceae, Maloideae). *American Journal of Botany* **74**: 321-328.
- Carman JG. 1997.** Asynchronous expression of duplicate genes in angiosperms may cause apomixis, bisporous, tetrasporous, and polyembryony. *Biological Journal of Linnean Society* **61**: 51-94.
- Clausen J. 1954.** Partial apomixis as an equilibrium system in evolution. *Caryologia* **6(Suppl.)**: 469-479.
- Correia MCR, Pinheiro MCB, Lima HA. 2005.** Produção de frutos e germinação de sementes de *Anemopaegma chamberlaynii* Bur. & K. Schum. (Bignoniaceae) – Um registro de poliembrião. *Sitientibus Série de Ciências Biológicas* **5**: 68-71.
- Costa ME, Sampaio DS, Paoli AAS, Leite SCAL. 2004.** Poliembrião e aspectos da embriogênese em *Tabebuia ochracea* (Chamisso) Standley (Bignoniaceae). *Revista Brasileira de Botânica* **27**: 395-406.
- Costa RB, Kageyama PY, Mariano G. 1992.** Estudo do sistema de cruzamento de *Anadenanthera falcata* Benth., *Vochysia tucanorum* Mart. e *Xylopia aromatica* Baill. em área de cerrado. *Revista Brasileira de Sementes* **14**: 93-96.
- Forni-Martins ER. 2000.** Poliploidia, um processo evolucionário. *Anais do 51º Congresso Nacional de Botânica*.
- Ganeshiah KN, Shaanker RU, Joshi NV. 1991.** Evolution of polyembryony consequences to the fitness of mother and offspring. *Journal of Genetics* **70**: 103-127.

- Goldenberg R, Shepherd G. 1998.** Studies on the reproductive biology of Melastomataceae in “cerrado” vegetation. *Plant Systematics and Evolution* **211**: 13-29.
- Grant V. 1981.** *Plant Speciation*. 2nd ed. Columbia University Press, New York and London.
- Gupta P, Shivanna KR, RAM M. 1996.** Apomixis and Polyembryony in the Guggul Plant, *Commiphora wightii*. *Annals of Botany* **78**: 67-72.
- Jullier S. 1989.** Cromosomas mitóticos de *Doychandra cynanchoides* y *Macfadyena unguis-cati* (Bignoniaceae). *Kurtziana* **20**: 215-217.
- Kokou Y, Akyo M, Shoji N, Koho KT. 2000.** Skin external use agent. JP-Patent Number 2000143482. May 23.
- Koltunow AM. 1993.** Apomixis: embryo sacs and embryos formed without meiosis or fertilization in ovules. *The Plant Cell* **5**: 1425-1437.
- Koltunow AM, Grossniklaus U. 2003.** Apomixis: a developmental perspective. *Annual Review of Plant Biology* **54**: 547-574.
- Lakshmanan KK, Ambegaokar KK. 1984.** Polyembryony. In: Johri BM. (ed.). *Embryology in Angiosperms*. Spring-Verlag. Berlin. Pp. 445-474.
- Lee I, Lee YH, Leonard J. 2002.** Ursolic acid induced changes in tumor growth O<sub>2</sub> consumption and tumor interstitial fluid pressure. *Anticancer Res* **21**: 2827-2834.
- Leith IJ, Bennett MD. 1997.** Polyploidy in Angiosperms. *Trends in Plant Science* **2**: 470-476.
- Matos EC. 2003.** *Poliploidia em duas espécies poliembriônicas de ipê-amarelo: Tabebuia ochracea (Chamisso) Standley e Tabebuia chrysotricha (Martius ex DC) Standley (Bignoniaceae)*. Monografia de graduação. Universidade Federal de Minas Gerais (UFMG). Belo Horizonte, MG.
- Mendes-Rodrigues C, Carmo-Oliveira R, Talavera S, Arista M, Ortiz PL, Oliveira PE. 2005.** Polyembryony and Apomixis in *Eriotheca pubescens* (Malvaceae-Bombacoideae). *Plant Biology* **7**: 533-540.
- Naumova TN. 1992.** **Apomixis in Angiosperms: Nucellar and Integumentary Embryony**. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Naumova TN. 1997.** Apomixis in tropical fodder crops: cytological and functional aspects. *Euphytica* **96**: 93-99.
- Nogler GA. 1984.** Gametophytic apomixis. In: Johri BM, ed. **Embryology in Angiosperms**. Berlin: Springer-Verlag, pp. 475-518.
- Ortolani FA. 2007.** *Morfo-anatomia, citogenética e palinologia em espécies de ipê (Bignoniaceae)*. Tese de Doutorado. Faculdade de Ciências Agrárias e Veterinárias. UNESP. Jaboticabal, SP.

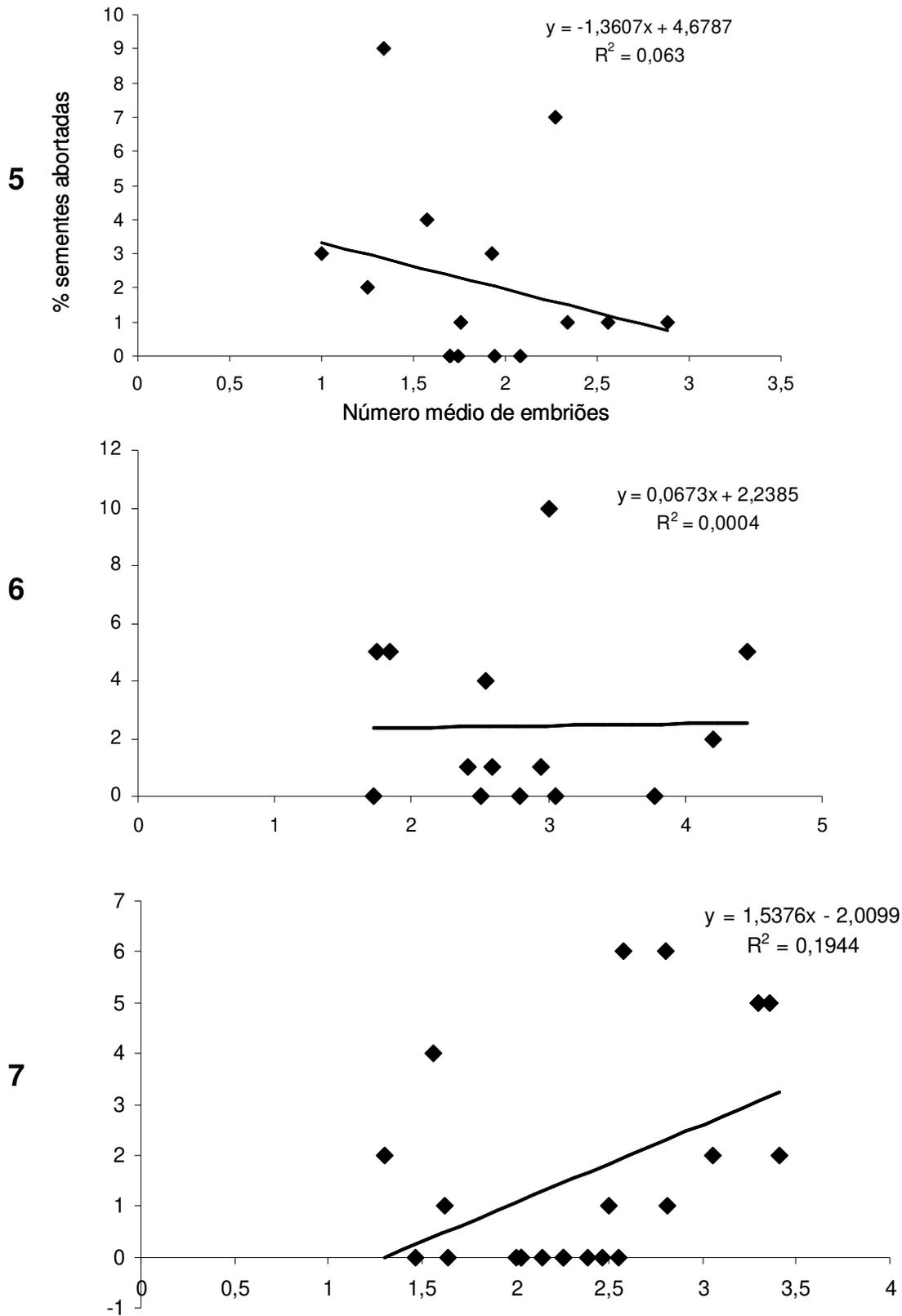
- Pannell JR, Obbard DJ, Buggs RJA. 2004.** Polyploidy and sexual system: what can we learn from *Mercurialis annua*? *Biological Journal of the Linnean Society* **82**: 547-560.
- Pereira AMS, Salomão AN, Januário AH, Bertoni, BW, Amui SF, França SC, Cerdeira AL, Moraes RM. 2007.** Seed germination and triterpenoid content of *Anemopaegma arvense* (Vell.) Stellfeld varieties. *Genetic Resource Crop Evolution* **54**: 849-854.
- Piazzano M. 1998.** Números cromossômicos em Bignoniaceae de Argentina. *Kurtziana* **26**: 179-189.
- Richards AJ. 1997.** *Plant breeding system*. 2<sup>nd</sup> ed. George Allen & Unwin, London.
- Richards AJ. 2003.** Apomixis in flowering plants: an overview. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Biological Series* **358**: 1085-1093
- Rieseberg LH. 1997.** Hybrid origins of plant species. *Annual Review in Ecology and Systematics* **28**: 359-389.
- Salomão AN, Allen AC. 2001.** Polyembryony em Angiospermous trees of the Brazilian cerrado and caatinga vegetation. *Acta Botanica Brasilica* **15**: 369-378
- Shannker RU, Ganeshaiyah KN. 1996.** Polyembryony in plants: a weapon in the war over offspring numbers? *Trends in Ecology and Evolution* **11**: 26-27.
- Shimizu H. 2001.** Antioxidant containing plant extracts for cosmetics and pharmaceuticals. JP-Patent 20011139417. May 22.
- Silva MM, Queiroz LP. 2003.** A família Bignoniaceae na região de Catolés, Chapada Diamantina, Bahia, Brasil. *Sitientibus Série Ciências Biológicas* **3**: 3-21.
- Soltis PS, Soltis DE. 2000.** The role of genetic and genomic attributes in the success of polyploids. *Proceedings of the National Academy of Science USA* **97**: 7051-7057.
- Spillane C, Calzada JPV, Grossniklaus U. 2001.** A Sexy Apomixer in Como. *The Plant Cell* **13**: 1480-1491.
- Uchino T, Kawahara N, Sekita S, Satake M, Saito Y, Tokunaga H, Ando M. 2004.** Potent protecting effects of catuaba (*Anemopaegma mirandum*) extracts against hydroperoxide-induced cytotoxicity. *Toxicology in Vitro* **18**: 255-263.
- van Baarlen P, Jong JH, van Dijk PJ. 2002.** Comparative cyto-embryological investigations of sexual and apomictic dandelions (*Taraxacum*) and their apomictic hybrids. *Sexual Plant Reproduction* **15**: 31-38.
- Venkatasubban KR. 1945.** Cytological studies in Bignoniaceae. IV. The cytology of *Dolichandrone reedii* Seem. and allied genera. *Proceedings of the Indian Academy of Science B* **21**: 77-92.

**Wakana A, Uemoto S. 1987.** Adventive embryogenesis in *Citrus*. I. The occurrence of adventive embryos without pollination or fertilization. *American Journal of Botany* **74**: 517-530.

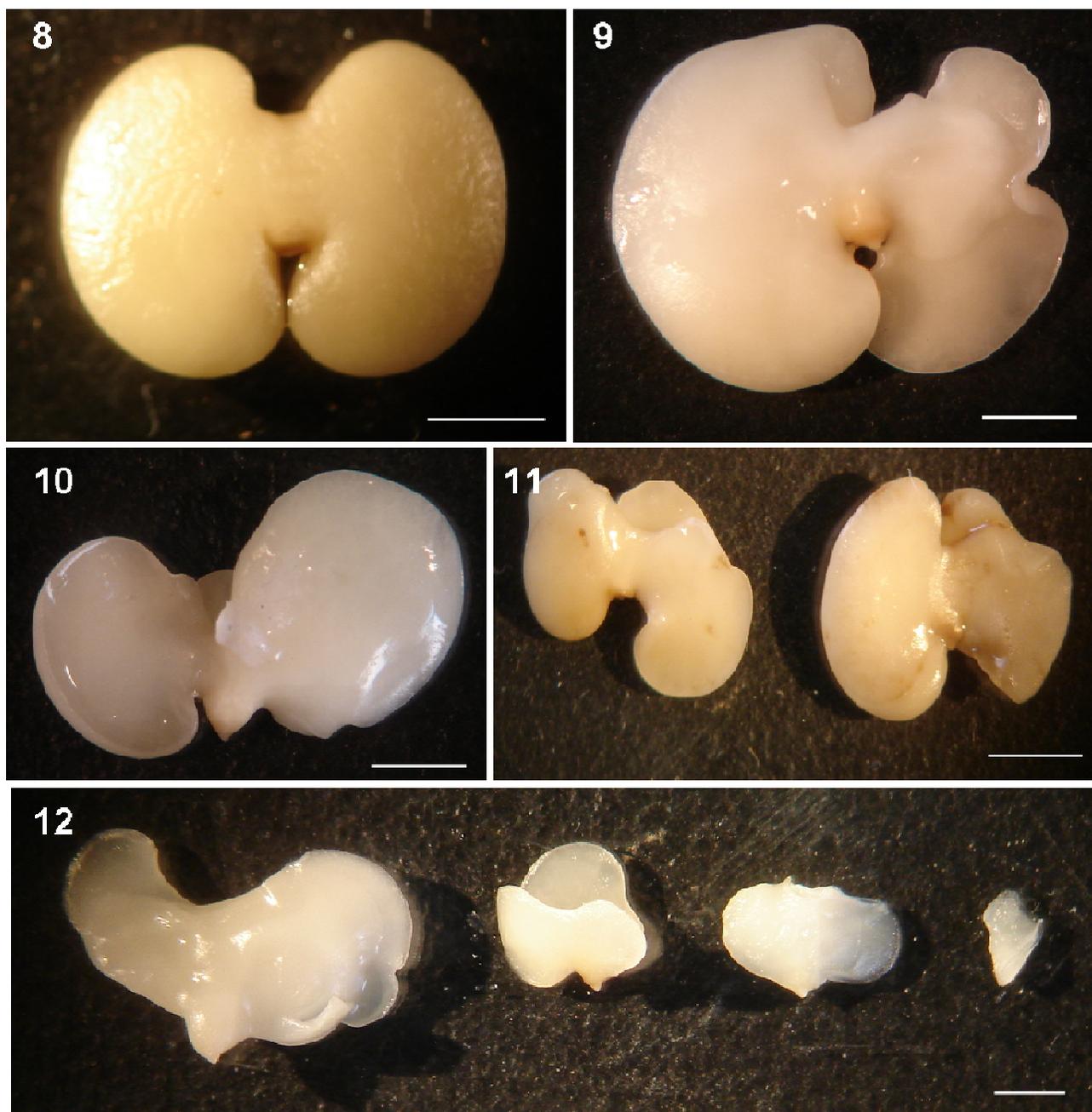
**Wakana A, Uemoto S. 1988.** Adventive embryogenesis in *Citrus* (Rutaceae). II. Postfertilization development. *American Journal of Botany* **75**:1031-1047.



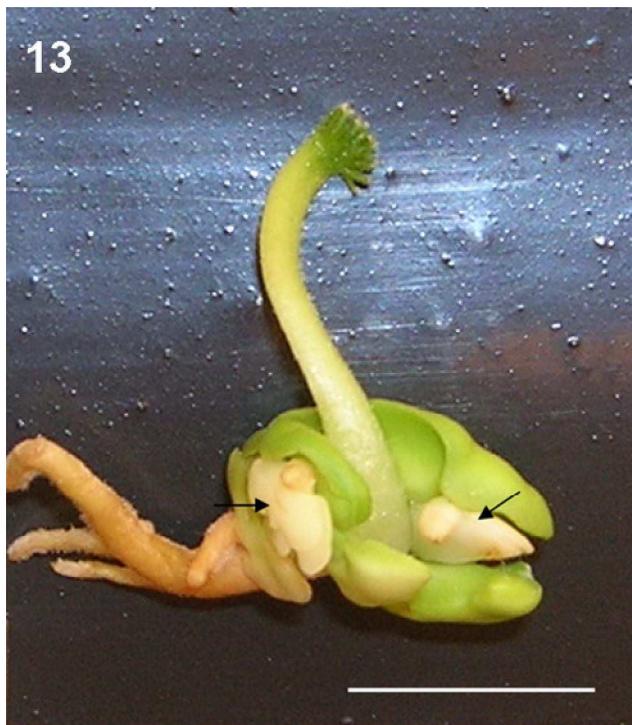
**Figuras 1-4.** Porcentagem de sementes das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* com diferentes quantidades de embriões. Comparação entre os distintos tratamentos de polinização. 1. *A. acutifolium*. 2. *A. arvense*. 3. *A. glaucum*. 4. *A. scabriusculum*.



**Figuras 5-7.** Correlação entre o número de sementes abortadas o número médio de embriões em cada fruto proveniente de polinização natural das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*. **5.** *A. acutifolium*. **6.** *A. arvense*. **7.** *A. glaucum*.



**Figuras 8-12.** Morfologia dos embriões de *Anemopaegma glaucum*. **8.** Embrião de semente monoembriônica; embrião típico. **9.** Embrião mais desenvolvido de semente poliembriônica. **10.** Embrião de semente com dois embriões. **11.** Embriões de semente poliembriônica com dois embriões, embriões anômalos; **12.** Embriões de semente poliembriônica com vários embriões; embriões anômalos; Barras = 0,25 cm.



**Figuras 13-16.** Plântulas de *Anemopaegma glaucum*. **13.** Semente poliembriônica com uma plântula apresentando raiz e parte aérea após 15 dias de germinação e embriões (setas). **14.** Semente poliembriônica com duas plântulas apresentando os dois primeiros pares de folhas já desenvolvidos. **15.** Plântula com 45 dias proveniente de semente monoembriônica. **16.** Plântulas e um embrião com raiz provenientes de semente poliembriônica.

## **CONSIDERAÇÕES FINAIS**

## CONSIDERAÇÕES FINAIS

Esta tese teve como principal objetivo auxiliar na circunscrição das espécies e variedades do complexo *Anemopaegma arvense* através da utilização dos resultados de estudos de naturezas variadas.

Inicialmente, os caracteres morfológicos, vegetativos e reprodutivos, foram usados para a delimitação das espécies pré-estabelecidas no complexo e, para as variedades descritas para *Anemopaegma arvense* e *A. glaucum*. A partir das descrições originais, fotos dos tipos das espécies e das análises de exsicatas e dos indivíduos no campo, concluiu-se que o complexo, inicialmente composto por quatro espécies, é formado por apenas três espécies polimórficas: *A. acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum*. Já *Anemopaegma scabriusculum*, inicialmente integrante do complexo, mostrou ser morfológicamente bastante distinta das demais, sendo, então, retirada deste grupo de espécies. No estudo morfométrico, que utilizou caracteres quantitativos de folhas, flores, frutos e sementes, observou-se que as características foliares são as mais informativas para a separação das espécies. Os grupos formados nas análises de agrupamento e de ordenação com caracteres foliares confirmam a separação de *A. arvense* e de *A. glaucum* e, também a condição híbrida de *A. acutifolium*. Já as análises realizadas com caracteres reprodutivos não foram informativas, mostrando que os caracteres reprodutivos são muito conservados neste grupo de espécies. Concluiu-se, dos resultados obtidos nas análises morfológicas e morfométricas, que as espécies mantidas no complexo são polimórficas, não sendo aceitas as variedades criadas anteriormente por outros pesquisadores.

O segundo estudo focou a anatomia dos folíolos das espécies inicialmente pertencentes ao complexo e, de *A. album*, uma espécie filogeneticamente próxima deste grupo de espécies. Os caracteres anatômicos encontrados, em associação com a morfologia externa, confirmaram a separação das três espécies polimórficas do complexo e, a exclusão *A. scabriusculum* deste grupo. A

maior variação anatômica foi encontrada nas morfoespécies de *A. acutifolium*. Para este grupo, propõe-se a separação de *A. acutifolium* “típica” e de *A. acutifolium* “sarmentoso” das demais morfoespécies.

O estudo de números cromossômicos revelou que as espécies do complexo são poliplóides, inclusive *Anemopaegma scabriusculum*. Já *A. album*, espécie externa ao complexo, é diplóide. Este foi o primeiro registro de poliploidia no gênero.

O estudo presente no quarto capítulo da tese objetivou delimitar as espécies e morfoespécies do complexo *Anemopaegma arvense* a partir de marcadores AFLP. Os resultados obtidos neste estudo não revelaram a separação das espécies ou de morfoespécies, não havendo, portanto, agrupamento dos indivíduos de cada espécie (ou morfoespécie) em grupos distintos. A ausência de divergência genética entre os espécimes das diferentes espécies reconhecidas a partir da morfologia pode ser devido ao fluxo gênico entre tais *taxa* a partir da polinização já que estas espécies, quando em simpatria, florescem sincronicamente e compartilham os mesmos polinizadores.

O estudo fenológico revelou dois comportamentos distintos quanto às estratégias de floração e frutificação. As espécies mantidas no complexo, *A. acutifolium*, *A. arvense* e *A. glaucum*, geralmente apresentam um único evento de floração e de frutificação ao ano, já em *A. scabriusculum*, excluída do complexo, os indivíduos florescem e frutificam duas a três vezes ao ano. A partir das observações de campo, constatou-se que populações simpátricas das espécies do complexo *Anemopaegma arvense* florescem sincronicamente. O sincronismo na floração, associado à similaridade floral e ao compartilhamento dos mesmos polinizadores, possivelmente levam ao cruzamento interespecífico, o que culmina com a formação de indivíduos híbridos. Portanto, verificou-se neste estudo que a estratégia de floração não pode ser considerada uma barreira pré- zigótica para a formação de híbridos entre as espécies do complexo *Anemopaegma arvense*, diferente do constatado por GENTRY (1974a, b) para as espécies congênicas das florestas da América Central. A perda total da parte aérea dos indivíduos de *A. arvense* e *A. glaucum* por ação do

fogo ou da poda, mostrou ser um elemento estimulador do brotamento e da floração e, o fogo revelou ser um importante elemento para a sincronia da dispersão das sementes.

O capítulo seis teve por objetivo investigar o comportamento reprodutivo das espécies do complexo *Anemopaegma arvense*, inclusive de *A. scabriusculum*. Os resultados de biologia floral e polinização mostraram que as espécies possuem flores bastante semelhantes quanto a estrutura e a recompensa oferecida aos visitantes. As espécies são polinizadas por abelhas e, têm o néctar, principal recurso, pilhado por abelhas *Oxaea flavescens*. Além das abelhas, as flores de *A. scabriusculum* são pilhadas também por beija-flores. Diferente da maioria das espécies de Bignoniaceae, as espécies de *Anemopaegma* aqui estudadas são auto-compatíveis. Além da auto-compatibilidade, estas também apresentaram ser interférteis, ou seja, não possuem barreiras pré e pós-zigóticas para a formação de progênie híbrida.

No sétimo capítulo constatou-se a existência em *Anemopaegma* da relação entre poliploidia e poliembrionia. As sementes das espécies poliplóides geralmente possuíam mais de um embrião, enquanto que as da espécie diplóide *A. album*, eram sempre monoembriônicas.

Os resultados obtidos em cada capítulo mostraram a importância de um estudo biosistemático para a compreensão da posição taxonômica das espécies vegetais. Apesar destes resultados, muito mais estudos devem ser realizados com este grupo de espécies para que um posicionamento taxonômico correto seja alcançado.