

JOÃO PAULO SARDIN NASÁRIO

BIOLOGIA FLORAL, REPRODUTIVA E CARIÓTIPOS DE
ESPÉCIES DE *Pseudobombax* Dugand (BOMBACOIDEAE,
MALVACEAE) DO SUDESTE DO BRASIL

CAMPINAS
2014

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS

INSTITUTO DE BIOLOGIA

JOÃO PAULO SARDIN NASÁRIO

**“BIOLOGIA FLORAL, REPRODUTIVA E CARIÓTIPOS DE
ESPÉCIES DE *Pseudobombax* Dugand (BOMBACOIDEAE,
MALVACEAE) DO SUDESTE DO BRASIL”**

Este exemplar corresponde à redação final
da Dissertação defendida pelo candidato

João Paulo Sardin Nasário

Eliana Regina Forni Martins

e aprovada pela Comissão Julgadora.

Dissertação apresentada ao Instituto de
Biologia da UNICAMP para obtenção do
Título de Mestre em Biologia Vegetal.

Orientadora: Profa. Dra. Eliana Regina Forni Martins

CAMPINAS,
2014

Ficha catalográfica
Universidade Estadual de Campinas
Biblioteca do Instituto de Biologia
Mara Janaina de Oliveira - CRB 8/6972

N17b Nasario, João Paulo Sardin, 1990-
Biologia floral, reprodutiva e cariótipos de espécies de *Pseudobombax*
Dugand (Bombacoideae, Malvaceae) do sudeste do Brasil / João Paulo Sardin
Nasario. – Campinas, SP : [s.n.], 2014.

Orientador: Eliana Regina Forni Martins.
Dissertação (mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Instituto de
Biologia.

1. Fenologia. 2. Polinização. 3. Biologia reprodutiva. 4. Número
cromossômico. I. Forni-Martins, Eliana Regina, 1957-. II. Universidade Estadual de
Campinas. Instituto de Biologia. III. Título.

Informações para Biblioteca Digital

Título em outro idioma: Floral biology, reproductive and karyotypes of species *Pseudobombax*
Dugand (Bombacoideae, Malvaceae) of southeastern Brazil

Palavras-chave em inglês:

Phenology

Polination

Reproductive biology

Chromosome number

Área de concentração: Biologia Vegetal

Titulação: Mestre em Biologia Vegetal

Banca examinadora:

Eliana Regina Forni Martins [Orientador]

Marlies Sazima

Júlia Yamagishi Costa

Data de defesa: 14-02-2014

Programa de Pós-Graduação: Biologia Vegetal

Campinas, 14 de fevereiro de 2014

BANCA EXAMINADORA

Profa. Dra. Eliana Regina Forni Martins (orientadora)



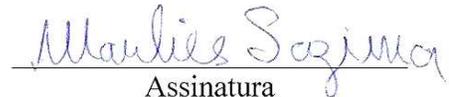
Assinatura

Profa. Dra. Julia Yamagishi Costa



Assinatura

Profa. Dra. Marlies Sazima



Assinatura

Dra. Luana Olinda Tacuatiá

Assinatura

Prof. Dr. Ricardo Augusto Lombello

Assinatura

Dedico este trabalho aos meus amados avôs, Pedro e Elisa, a minha querida avó Joaquina (in memoriam) e ao tio Sebastião, que nunca deixaram de me incentivar em minha caminhada e aos meus pais Jacinto e Sueli, por ser a rocha em que se sustenta minha vida...

O chão da Paineira

*Eu fiquei olhando a dança das flores
Ao se despencarem de uma paineira.
O vento soprando o bailado das cores,
O chão perfumado de flores inteiras.
E o povo pisando, sem nem perceber,
O tapete lilás de flores caídas.
Só eu escutava o triste gemer
Das flores, o lamento num resto de vida.
E, quase chorando em rimas singelas,
Ao se soltarem na queda certa
De um galho tão alto, tão ricas, tão belas,
Como o tempo que passa matando os amores
E a alma pisada é o chão da paineira.*

José Gilberto Gaspar

Do livro: Nos Braços do Sol, São Paulo, Edix, 1997.

AGRADECIMENTOS

Agradeço à UNICAMP, ao Instituto de Biologia, ao Departamento de Biologia Vegetal e ao Laboratório de Biossistemática e Polinização, pelo sincero acolhimento e suporte.

Agradeço ao Programa de Pós-Graduação em Biologia Vegetal pela oportunidade e por fornecer os subsídios necessários para uma ampla e vasta formação.

Agradeço à Capes pela bolsa concedida para elaboração deste estudo.

Agradeço à minha querida orientadora, Prof^a Dr^a Eliana Regina Forni-Martins, pela confiança, carinho e paciência durante estes dois anos, por estar sempre compartilhado seu conhecimento, me orientando neste desafiador compromisso de me tornar Mestre, sendo exemplo de integridade profissional e uma inspiração como pesquisadora.

Agradeço ao Professor Dr. João Semir, por ser a pedra fundamental deste trabalho, por fazer despertar em mim a paixão pelas *Pseudobombax* e por estar sempre por perto para dividir seu conhecimento, se preocupando sempre em me trazer algumas (muitas) sementes, flores e frutos.

Agradeço a Prof^a Dr^a Marlies Sazima, pela disposição e sempre prontidão em compartilhar seu vasto conhecimento acerca da Ecologia da Polinização, sendo de fundamental importância para o meu crescimento como pesquisador.

Agradeço aos membros da banca de qualificação e pré-banca, Prof^a Dr^a Marlies Sazima, Prof^a Dr^a Julia Yamagishi Costa e Dr^a Luana Olinda Tacuatiá, pelas sábias sugestões.

Agradeço a todos os professores e funcionários do Departamento de Biologia Vegetal, em especial Iara Bressam, que de alguma forma deram contribuição em minha formação e na elaboração deste estudo.

Agradeço ao pessoal do Laboratório de Taxonomia, em especial ao Gustavo Shimizu e Marcelo Monge, por colaborar sempre no envio de frutos e sementes.

Agradeço à Luciana Franci, pela amizade, risadas e é claro pelo apoio estatístico.

Agradeço ao grupo da Polinização, Vinícius, André, Jeff, Pietro, Carlos, Fernanda, Pedro, Maurício, Felipe e Camila por compartilharem além do laboratório, seus conhecimentos em torno do fantástico mundo da polinização.

Agradeço em especial, aos meus queridos colegas da Citogenética, que desde o começo me acolheram com os braços abertos, Nair Dahmer, Vanessa Mancuso, Caroline Polido, Rafael Pinto, Klenya Braga, Victoria Romero, Luana Tacuatiá e Ana Laura Leme por estarem sempre ao meu lado, sendo pilares fundamentais em minha formação profissional.

Agradeço à minha colega de mestrado, laboratório e acima de tudo, amiga Thaíssa Brogliato Junqueira Engel, por ter sempre acreditado em mim, por ter sido a força e o incentivo de nunca desistir do nosso propósito, por ser o braço firme e o abraço amigo de cada dia de trabalho. Obrigado por ser mais que uma colega, mais que amiga, uma verdadeira irmã.

Agradeço as minhas amigas Biólogas de Dourados, Joyce Azambuja, Juliana Ronchi, Paula Antunes e Patrícia Furlan, que à sua maneira se fizeram presentes na minha nova vida, sempre dando forças e mostrando a verdadeira essência da amizade.

Agradeço aos meus amigos, Paulo Foltran, Pedro Alves, Tiago Bizarri, Gabriel Rimoldi e David Almeida por terem sido o carinho e alegria necessários para esta caminhada.

Agradeço aos meus vizinhos queridos, em especial Carlos Tonhati por compartilharem suas vidas comigo, seu lar, sua comida, seu carinho. Obrigado.

Agradeço à Selma Nunes, Elza Nunes, Catarina e José Nunes, pela acolhida em Campinas, por serem a família presente de que tanto necessitei sendo o carinho constante e a confiança sempre.

Agradeço à Ana Paula Andrade, minha amiga, que dividiu comigo a morada e a vida. Agradeço a cada segundo por ter você em minha vida, por ser essa irmã de alma, sempre atenta, sendo amiga, sendo mãe, sendo um anjo de aura dourada. Obrigado pelo constante carinho, pelo incentivo, por acreditar em mim, por rir comigo, por chorar comigo, por ser o puxão de orelha, a gargalhada sem motivo, a conversa pelo olhar. Obrigado por me mostrar o lado mais belo em que uma amizade pode chegar.

Agradeço ao meu querido Arthur Ramos do Nascimento, por estar ao meu lado em cada momento, compartilhando os momentos mais difíceis e me proporcionando os mais felizes, por ser um exemplo de amor à sua profissão, integridade humana e acima de tudo pelo seu amor e paciência.

Agradeço aos meus pais, Jacinto Nasario e Sueli Gomes Sardin Nasário, pelo apoio constante durante toda a minha caminhada, por acreditarem e confiarem em mim. Em especial à minha mãe por ser o suporte de todos os dias, por ser a ligação certa do fim do dia ao abraço apertado em datas comemorativas, por nunca me deixar desanimar, por nunca deixar que eu perca a fé e de acreditar em um futuro melhor, por me ensinar que a vida é feita de pequenos momentos e que nem sempre eles são bons, por me fazer enxergar a vida como ela é simplesmente linda.

Agradeço à minha família como um todo, por estarem sempre ao meu lado, sempre demonstrando a importância de uma família, em especial a meu irmão José Luis Nasário, por ser a peste que alegra minha vida, às minhas tias Rosinei Magalhães e Roseli Bianchi, por serem o carinho e a força constante, aos meus avós amados Pedro e Elisa, que em sua simplicidade nunca deixaram de me incentivar e apoiar e a minha querida avó Joaquina (*in memoriam*), que onde quer que esteja, sei que está olhando por mim e de lá, como sempre fez, me abençoando e incentivando.

Gratidão a todos.

SUMÁRIO

1. Introdução geral.....	1	
1.1 Aspectos taxonômicos de <i>Pseudobombax</i> Dugand.....	1	
1.2 Utilidade econômica das paineiras.....	8	
1.3 Biologia floral e da reprodução de <i>Pseudobombax</i>	10	
1.4 Estudos cromossômicos em Bombacoideae.....	12	
1.5 Objetivos gerais.....	15	
1.6 Referências bibliográficas.....	16	
Biologia floral, reprodutiva e cariótipos de espécies de <i>Pseudobombax</i> Dugand (Bombacoideae, Malvaceae) do sudeste do Brasil.....		24
1. Introdução.....	25	
2. Material e Método.....	28	
2.1 Espécies e área de estudo.....	28	
2.2 Fenologia reprodutiva, morfologia e biologia floral.....	29	
2.3 Sistema reprodutivo.....	31	
2.4 Germinação de sementes, pré-tratamento e fixação de raízes.....	32	
2.5 Preparação de lâminas.....	32	
2.6 Coloração com Giemsa, bandamento CMA/DAPI e registro dos resultados.....	33	
2.7 Avaliação dos cromossomos.....	34	
2.8 Análise estatística dos dados.....	34	
3. Resultados.....	35	
3.1 Fenologia reprodutiva.....	35	
3.2 Morfologia e biologia floral.....	37	
3.3 Sistema de reprodução.....	43	
3.4 Análise cariomorfológica.....	46	

4. Discussão.....	49
4.1 Fenologia reprodutiva.....	49
4.2 Morfologia e biologia floral.....	52
4.3 Sistema de reprodução.....	54
4.4 Análise cariotípica.....	55
5. Considerações finais.....	59
6. Referências bibliográficas.....	61

LISTA DE FIGURAS

Introdução geral.....	1
Figura 1. Cladograma da ordem Malvales.....	2
Figura 2. Cladograma evidenciando o Clado Malvatheca.....	3
Figura 3. Mapa de distribuição das Bombacoideae.....	4
Figura 4. Características do gênero <i>Pseudobombax</i> Dugand.....	6
Figura 5. Utilização de espécies de <i>Pseudobombax</i> na arborização urbana.....	9
Biologia floral, reprodutiva e cariótipos de espécies de <i>Pseudobombax</i> Dugand (Bombacoideae, Malvaceae) do sudeste do Brasil.....	24
Figura 1. Parâmetros mensurados para os testes de morfometria floral de espécies de <i>Pseudobombax</i>	31
Figura 2. Fenofases de floração e frutificação de três espécies de <i>Pseudobombax</i> cultivadas no campus da Unicamp, Campinas, SP, com o número médio de flores e frutos de todos os indivíduos em cada mês.....	37
Figura 3. Flores das espécies de <i>Pseudobombax</i> ; no campo e em comparação com escala, para ilustrar dados morfométricos.....	40
Figura 4. Boxplot para mediana das características morfométricas de flores das espécies de <i>Pseudobombax</i> do campus da Unicamp, Campinas, São Paulo, com seus valores de máximo, mínimo e média.....	42
Figura 5. Frutos de <i>Pseudobombax</i> do campus da Unicamp, Campinas, São Paulo.....	43
Figura 6. Resultados dos testes de reprodução.....	45
Figura 7. Cromossomos das espécies estudadas de <i>Pseudobombax</i> em metáfase mitótica do campus da Unicamp, Campinas, São Paulo.....	48

APRESENTAÇÃO GERAL DA DISSERTAÇÃO

Esta dissertação está organizada em uma introdução geral seguida do corpo do trabalho desenvolvido. A introdução geral foi dividida em quatro tópicos. No primeiro deles, “Aspectos taxonômicos de *Pseudobombax*”, abordamos a atual posição taxonômica do gênero e de sua família Malvaceae; o segundo tópico “Utilidade econômica das paineiras” traz a importância das Bombacoideae no cenário econômico mundial e nacional e suas utilizações populares. O terceiro tópico, “Biologia Floral e da Reprodução de *Pseudobombax*”, apresenta as principais características florais, a síndrome de polinização e os sistemas de reprodução de espécies de Bombacoideae já estudadas. Por fim, o quarto tópico “Estudos cromossômicos em Bombacoideae”, mostra o panorama citogenético do grupo em estudo.

RESUMO

Tradicionalmente incluso na extinta família Bombacaceae, *Pseudobombax* Dugand pertence à subfamília Bombacoideae, Malvaceae *sensu lato*. Abrange cerca de 29 espécies, das quais 16 ocorrem em território brasileiro e nove são endêmicas. No Brasil, a maioria das espécies é encontrada no sudeste, planalto central e nordeste. As espécies possuem considerável valor comercial, por serem utilizadas no mundo todo, principalmente na ornamentação e arborização urbana. Estudos sobre o sistema reprodutivo e citogenéticos são raros para o gênero. Com este trabalho, objetivou-se o estudo da biologia floral e reprodutiva, assim como a análise cariotípica de três espécies de *Pseudobombax* da região sudeste do Brasil. As espécies de *Pseudobombax* são importantes fontes de pólen e néctar para seus visitantes florais, especialmente por florescerem na estação seca. Algumas diferenças foram observadas entre os períodos de floração e frutificação durante os dois anos de estudo, as quais podem estar relacionadas a diferentes quantidades de chuva antes do início da floração. As flores apresentam antese crepuscular/noturna, com características que se encaixam na síndrome da quiropterofilia. As flores de *P. tomentosum* são significativamente diferentes das demais espécies (maior comprimento da flor, das pétalas, do ovário e do cálice), porém a forma e o indumento dos frutos é a principal característica que podemos utilizar para separar taxonomicamente as três espécies. Os estudos reprodutivos das três espécies evidenciaram alta porcentagem de fecundação cruzada, indicando alogamia. A eficácia reprodutiva manteve-se alta, confirmando a necessidade de polinização cruzada e, conseqüentemente, de seus polinizadores. As análises citogenéticas mostraram contagens inéditas, com $2n=88$ para *Pseudobombax* sp. (nova) e *P. tomentosum* e $2n=84$ para *P. grandiflorum*. O número básico sugerido para as espécies de *Pseudobombax* é $x=44$. Foi confirmado mais de um número cromossômico no gênero, o que sugere a derivação por disploidia, decorrente de possíveis rearranjos cromossômicos. *Pseudobombax* sp. (nova) e *P. grandiflorum*, espécies muitas vezes confundidas entre si, possuem números cromossômicos diferentes ($2n=88$ e $2n=84$, respectivamente) sendo este um caráter adicional importante na separação taxonômica das duas espécies. O bandamento CMA/DAPI evidenciou um padrão conservado dentro do gênero, com seis bandas CMA^+ nas três espécies. Os valores métricos dos cromossomos das espécies em estudo indicaram um comprimento do complemento cromossômico pequeno, nas quais o menor tamanho cromossômico foi de $0,3 \mu m$ em *P. grandiflorum* e o maior foi de $3,5 \mu m$ em *P. tomentosum*. O diferente número cromossômico, bem como algumas características morfológicas florais e do fruto podem ser utilizadas na separação taxonômica das três espécies de *Pseudobombax* em estudo, evidenciando assim a existência de uma nova espécie para o gênero.

Palavras-chave: Fenologia, Polinização, Sistema reprodutivo, Número Cromossômico, Bandamento CMA/DAPI

ABSTRACT

Traditionally included in the extinct family Bombacaceae, *Pseudobombax* Dugand belongs to the Bombacoideae subfamily, Malvaceae *sensu lato*. Composed by about 29 species, of which 16 occur in Brazilian territory and nine are endemic. In Brazil, most species are found in the southeast, northeastern and central plains. Species have considerable commercial value, for being used worldwide, especially in ornamentation and urban forestry. Studies on the reproductive system and cytogenetics are rare for the genus. This work aimed to study the floral and reproductive biology, as well as analysis of karyotype of three species of *Pseudobombax* from southeastern Brazil. The *Pseudobombax* species are important sources of pollen and nectar for their floral visitors, especially by flourishing in the dry season. Some differences were observed between the periods of flowering and fruiting during the two years of study, which may be related to different amounts of rainfall before flowering. The flowers have crepuscular/nocturnal anthesis, with features that fit in the chiropterophily syndrome. The flowers of *P. tomentosum* are significantly different from the other species (greater length of the flower petals, the ovary and the cup), but the shape and indumentum of the fruit is the main feature that we can use to separate the three species taxonomically. Reproductive studies of the three species showed a high percentage of outcrossing, indicating outcrossing. The reproductive efficiency remained high, confirming the necessity of cross-pollination and, therefore, their pollinators. Cytogenetic analysis showed unprecedented chromosome counts, with $2n=88$ to *Pseudobombax* sp. (new) and *P. tomentosum* and $2n=84$ for *P. grandiflorum*. The basic chromosome number suggested to *Pseudobombax* is $x=44$. We confirmed more than one chromosome number in the genus, which suggests derivation by disploidy, due to possible chromosomal rearrangements. *Pseudobombax* sp. (new) and *P. grandiflorum*, species often confused with each other, presented different chromosome numbers ($2n=88$ or $2n=84$, respectively) which is an important taxonomic character for the separation of the two species. The CMA/DAPI banding showed a conserved pattern within the genus, with six CMA⁺ bands in all species. The metric values of the chromosomes of the species under study indicated a small chromosomal complement length, wherein the smallest chromosome size was 0.3 μm in *P. grandiflorum* and the largest was 3.5 μm in *P. tomentosum*. The different chromosome numbers, as well as some floral and fruit morphological characteristics can be used for taxonomic separation of the three *Pseudobombax* species under study *Pseudobombax*, thus revealing the existence of a new species for the genus .

Keywords: Phenology, Pollination, Reproductive biology, Chromosome number, CMA/DAPI banding

INTRODUÇÃO GERAL

1.1 Aspectos taxonômicos de *Pseudobombax* Dugand

A família Malvaceae possui nove subfamílias, que incluem membros previamente enquadrados nas antigas famílias Bombacaceae, Sterculiaceae e Tiliaceae (Alverson *et al.* 1999, Bayer *et al.* 1999, Whitlock *et al.* 2001 e Pfeil *et al.* 2002) (Figura 1). Estas famílias passaram a ser circunscritas dentro de Malvaceae com base em dados morfológicos, polínicos, químicos e anatômicos (Judd & Manchester 1997), além de moleculares e biogeográficos (Bayer *et al.* 1999). Estes dados evidenciaram que as antigas famílias Bombacaceae, Sterculiaceae e Tiliaceae *sensu* Cronquist (1981) não formavam um grupo monofilético. Alguns gêneros tradicionalmente inclusos na família Bombacaceae como *Durio* Adans., são filogeneticamente mais relacionados a *Helicteres* L. e *Neesia* Blume, enquanto *Camptostemon* Mast., *Matisia* Bonpl. e *Quararibea* Aubl. aparecem posicionados entre as Malvoideae, que correspondem às Malvaceae *sensu strictu* (Carvalho-Sobrinho 2006).

As Malvaceae *sensu* APG III apresentam considerável valor comercial, por serem utilizadas em todo o mundo na ornamentação, como espécies do gênero *Alcea* L., *Hibiscus* L., *Malva* L., *Malvastrum* Fabr., *Bombax* L. e *Ceiba* Mill. ou ainda com grande expressão econômica, como é o caso de *Gossypium* L. (algodão) e *Urena* L. (juta), altamente utilizados na indústria têxtil (Bovini *et al.* 2001).

Análises dos genes plastidiais *atpB*, *rbcL* e *ndhF* revelaram que os membros da antiga família Bombacaceae e Malvaceae juntas, formam um clado bem sustentado (Alverson *et al.* 1999, Bayer *et al.* 1999), tendo a presença de anteras monotecas como

sinapomorfia morfológica (Hinsley 2004). Dentro da circunscrição atual de Malvaceae, esse clado foi denominado Malvatheca (Baum *et al.* 1998). Em Malvatheca duas subfamílias são discernidas: Bombacoideae e Malvoideae (Figura 2).

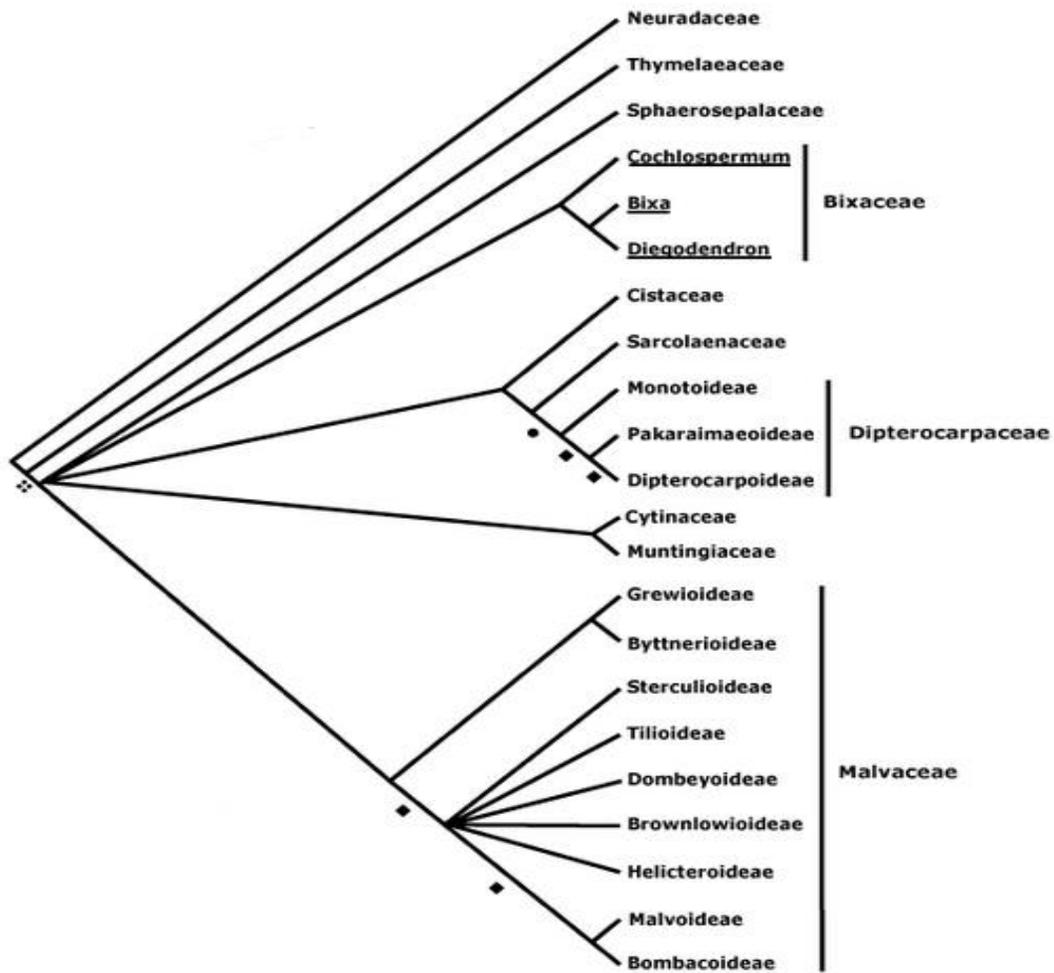


Figura 1. Cladograma da ordem Malvales. (Angiosperm Phylogeny Website, versão12, Julho de 2012)

Na subfamília Malvoideae estão inclusos grande parte dos representantes da tribo Matisieae, antes classificada em Bombacaceae (Bayer *et al.* 1999, Baum *et al.* 2004, Nyffeler *et al.* 2005), enquanto a subfamília Bombacoideae é formada por gêneros que compunham o núcleo central das antigas Bombacaceae (como *Adansonia*

característica geral, filetes parcial a totalmente concrecidos em tubo estaminal, com anteras monotecas e biesporangiadas. É composta por um número relativamente reduzido de espécies, e mesmo incluindo todos os táxons de afinidades ainda incertas, ainda haveria menos de 250 espécies (Baum *et al.* 2004). Por outro lado, Malvoideae tem uma distribuição predominantemente subtropical e temperada, contendo a maior parte dos exemplares de Malvatheca, com cerca de 1700 espécies (Pfeil *et al.* 2002).

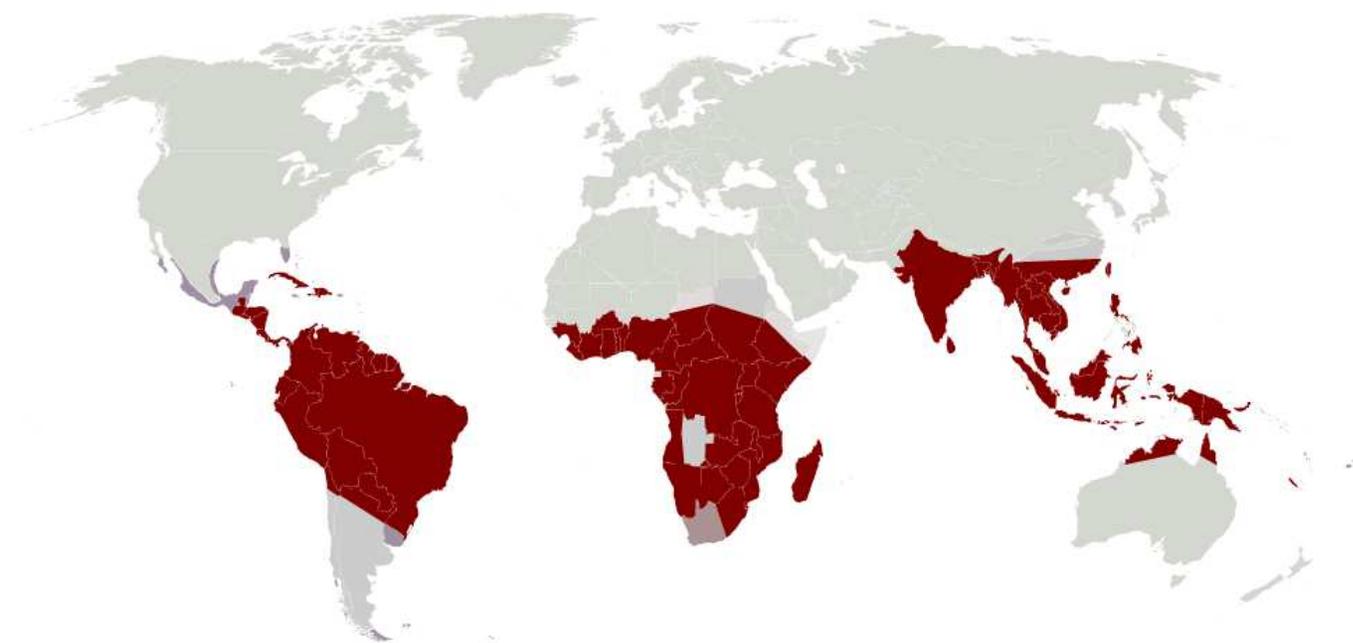


Figura 3. Mapa de distribuição das Bombacoideae. Adaptado de Angiosperm Phylogeny Website, versão 12, Julho de 2012.

No clado Malvatheca, o monofiletismo das Adansonieae, tribo à qual pertence o gênero *Pseudobombax*, é apoiado por estudos de filogenia (Alverson *et al.* 1999, Baum *et al.* 2004, Nyffeler *et al.* 2005). Contudo, amostragens limitadas de táxons têm sido utilizadas para estes trabalhos. Para *Pseudobombax*, uma única espécie (*P. ellipticum* (H.B. & K.) Dugand) foi utilizada nos trabalhos em que a filogenia das Bombacoideae foi investigada (Alverson *et al.* 1999, Baum *et al.* 2004, Nyffeler *et al.* 2005). Carvalho-

Sobrinho & Queiroz (2011), em seu trabalho de análise cladística e morfológica de *Pseudobombax*, consideraram que a monofilia do gênero foi moderadamente sustentada com base na análise de *bootstrap*, apresentando como grupo-irmão um clado formado pelos gêneros *Bombacopsis* Pittier e *Pachira* ou pelo gênero *Bombax*.

Pseudobombax abrange cerca de 29 espécies (Robyns 1963, Fernández-Alonso 2001, Carvalho-Sobrinho & Queiroz 2010, The International Plant Names Index (IPNI) 2010, Carvalho-Sobrinho & Queiroz 2011) das quais cerca de 16 espécies ocorrem em território brasileiro, sendo nove endêmicas. Em sua maioria são encontradas nas regiões sudeste, planalto central, centro-oeste e nordeste e em diversos tipos de vegetação, como floresta ombrófila, floresta semi-decídua, restinga, caatinga, cerrado e campo rupestre, havendo alta ocorrência de espécies sobre formações calcárias (Andrade-Lima 1977, Nascimento *et al.* 2004, Silva & Scariot 2004).

O gênero caracteriza-se morfológicamente, pelos seus troncos marcados na vertical (Fig. 4-A,B), abundantes frutos em forma de cápsula (Fig. 4-C, H, K) com endocarpo transformado em painda (Fig. 4-D), pelos pecíolos alargados no ápice, folhas digitadas (4-E), anteras monotecas (ver detalhe na fig. 4-F) cálices persistentes no fruto (Fig. 4-G, H), receptáculos com glândulas conspícuas, formando nectários extra-florais (ver detalhe na fig. 4-I), filetes formando parcialmente tubos (Fig. 4-J), e número cromossômico (n) igual a 36 (Carvalho-Sobrinho & Queiroz 2010). Sugere-se como provável sinapomorfia de *Pseudobombax* a presença de folhas palmadas e compostas (Fig. 4-E) (Alverson *et al.* 1999, Baum *et al.* 2004), ápice do pecíolo dilatado



Figura 4. Características do gênero *Pseudobombax* Dugand. A. Porte de *P. grandiflorum* (Cav.) A. Robyns. B. Tronco de *P. munguba* (Mart. & Zucc) Dugand marcado com estrias. C. *Pseudobombax* sp. em frutificações e sem folhas. D. Endocarpo de *P. grandiflorum* transformado em paina. E. Folhas digitadas de *P. grandiflorum*. F. Anteras monotecas (em detalhe) de *Pseudobombax* sp. G. Cálice persistente no fruto de *P. grandiflorum*. H. Fruto do tipo cápsula de *P. grandiflorum*. I. Nectários extraflorais (em detalhe) em *P. tomentosum* (Mart. & Zucc.) A. Robyns. J. Filetes concrecidos formando tubos parciais. K. Frutos de *P. munguba*. L. Botões forais de *P. ellipticum*. M. Inflorescência de *P. tomentosum*.

e os folíolos não articulados, com pecíolo (Carvalho-Sobrinho & Queiroz 2011). *Pseudobombax* e os demais gêneros de Bombacoideae ainda compartilham tricomas tufosos na face abaxial das pétalas (Carvalho-Sobrinho 2006). Os caracteres vegetativos são comumente utilizados como base para o diagnóstico de espécies de *Pseudobombax*, como forma e indumento dos folíolos e o comprimento do pecíolo e peciólulo (Robyns 1963). Porém, durante a floração, há a queda da folhagem da planta (Fig. 4-C), de modo que a grande maioria das espécies de *Pseudobombax* esteja representada em herbários com materiais incompletos, geralmente apresentando somente as flores, resultando em espécimes imprecisos e mal identificados (Carvalho-Sobrinho 2006).

Recentes estudos taxonômicos com o intuito de melhorar as coleções dos herbários, envolvendo trabalho de campo intensivo para coleta de todas as partes da planta (folhas, flores, frutos e sementes) da mesma espécie têm levado à descrição de novas espécies, como é o caso de *P. calcicola* Carv.-Sobr. & L. P. Queiroz, *P. minimum* Carv.-Sobr. & L. P. Queiroz e *P. parvifolium* Carv.-Sobr. & L. P. Queiroz, recentemente encontradas em um levantamento no estado da Bahia (Carvalho-Sobrinho & Queiroz 2010).

Pseudobombax grandiflorum tem, por muitas vezes, sido confundida com uma possível nova espécie de *Pseudobombax*. Estudos vêm sendo desenvolvidos pelo Prof. Dr. João Semir, da UNICAMP, incluindo a descrição taxonômica dessa provável nova espécie de *Pseudobombax*. Assim, estudos envolvendo a caracterização de sua biologia floral, reprodutiva e cariotípica, poderão subsidiar o esclarecimento desta problemática taxonômica.

1.2 Utilidade econômica das paineiras

A utilidade econômica das Bombacoideae geralmente está relacionada às suas sementes e, em grande parte, à paina (Fig. 5-B) originada da parede interna do endocarpo dos seus frutos (Fig. 4-D,G), da qual se originou o nome popular “paineira”, como são chamadas as Bombacoideae em diversas regiões do Brasil (Braga 1960). As sementes das Bombacoideae são oleaginosas, apresentam cerca de 20 a 30% de teor de óleo, podendo ser consumidas torradas, como na Índia, e usadas como condimento, como em Java (Hoehne 1927).

As propriedades da paina e das sementes de *Pseudobombax* não são profundamente conhecidas nem exploradas industrialmente no Brasil, o que torna interessante o estudo de seus caracteres morfológicos. Destacam-se as variações na abundância, cor e textura das painas bem como a forma, tamanho e textura das sementes (Carvalho-Sobrinho 2006). Carvalho (2006) indicou que a paina deste gênero é utilizada popularmente para o enchimento de colchões, almofadas e travesseiros (Fig. 5-B, 4-D).

As espécies de *Pseudobombax* e, em geral, as Bombacoideae podem ainda apresentar grande potencial ornamental, devido às suas copas frondosas e flores vistosas. Algumas espécies bastante conhecidas no Brasil, como os embiruços, embiratanhas e mungubas, são utilizadas na arborização urbana (Fig. 5-A,C) (Lorenzi 2002a, 2002b). O lenho de algumas espécies, como de *P. marginatum* (A. St.-Hil., Juss.

& Cambess.) A. Robyns e *P. tomentosum* (Mart. & Zucc.) Robyns, é utilizado para confecção de caixas de madeira, calçados e aeromodelos, sendo a casca empregada na cordoaria rústica (Pio-Corrêa 1926, Lorenzi 2002b). A madeira de *P. grandiflorum* (Cav.) A. Robyns é considerada adequada para fabricação de papel (Carvalho 2006).



Figura 5. Utilização de espécies de *Pseudobombax* na arborização urbana. A. *P. grandiflorum* localizado na Praça da Paz, UNICAMP, Campinas, São Paulo, Brasil. B. Paina formada do endocarpo do fruto de *Pseudobombax* sp. (nova). C. *Pseudobombax* sp. (nova) em calçada em frente ao Instituto de Química, UNICAMP, Campinas, São Paulo.

Estudos sobre a germinação de sementes de *P. grandiflorum* foram desenvolvidos por Lopes e colaboradores (2008) devido à grande carência de

conhecimentos sobre sementes de espécies florestais, dados que podem ser úteis no reflorestamento de áreas degradadas, onde são altamente recomendadas para revegetação de regiões naturais de voçorocas, além de serem utilizadas em bancos de sementes (Lopes *et al.* 2008). Essas plantas também são utilizadas na alimentação de macacos-prego que comem, além das folhas, as flores que são ricas em néctar (Carvalho 2006).

1.3 Biologia floral e da reprodução de *Pseudobombax*

Em *Pseudobombax*, as copas são geralmente bastante expandidas e pouco ramificadas. Os ramos são espessos, com as folhas decíduas habitualmente agrupadas na sua porção apical. O gênero destaca-se por suas flores grandes e vistosas em inflorescências cimosas (Fig. 4-M) e elevado número de estames (de 200 a 900) (Fig. 4-J,M) (Joly 1987). As flores apresentam morfologia bem característica, no qual o conjunto de estames tem a forma de pincel, favorecendo maior exposição do estigma, das anteras e dos grãos de pólen. As espécies de *Pseudobombax* enquadram-se em um tipo de polinização peculiar, que é o de polinização realizada por morcegos (quiropterofilia) em que flores têm antese crepuscular/noturna, os elementos florais são dispostos de forma que o pólen se deposite na porção anterior do animal (cabeça/tórax) e apresentam abundante produção de néctar e pólen (Fischer *et al.* 1992, Silva & Peracchi 1995, Peterle *et al.* 2007)

As plantas podem produzir diversos tipos de recursos florais, como néctar e pólen, e muitas vezes coevoluíram com os seus respectivos polinizadores, constituindo relações que podem ser importantes eventos mutualísticos (Darwin 1859, Darwin 1877,

Thompson 1994). Essas interações planta-polinizador constituem alguns dos exemplos mais espetaculares e clássicos de adaptação e estão associadas com a diversificação de plantas e linhagens de animais (Kay & Sargent 2009, Frik *et al.* 2013). Interações como essas reafirmam a importância da conservação da biodiversidade, uma vez que *P. grandiflorum* é endêmica do Brasil e que muitos processos dependem do equilíbrio ecossistêmico, no qual muitas plantas poderiam encontrar problemas em sua perpetuação sem seus respectivos polinizadores, podendo ocasionar a diminuição ou até mesmo a extinção de algumas espécies.

Gribel *et al.* (1999) mostraram que *Ceiba pentandra* (L.) Gaertn. possui alta produção de néctar e é visitada por diversos animais noturnos (morcegos, macacos-da-noite, marsupiais e mariposas) e também diurnos (abelhas, vespas e beija-flores), porém apenas os morcegos foram polinizadores efetivos. As flores de *Adansonia* (baobás africanos) também são grandes e de antese noturna, com alta disponibilidade de néctar e pólen. São visitadas por morcegos, lêmures e esfingídeos de língua longa e, em todos os casos, a polinização é legítima.

Em relação ao sistema reprodutivo, trabalhos enfocando aspectos da biologia reprodutiva e fenologia da família são escassos. Gribel & Gibbs (2002) encontraram alta taxa de fecundação cruzada em *Pseudobombax munguba* (Mart.&Zucc.) Dugand, apesar da espécie não apresentar mecanismo típico de autoincompatibilidade esporofítica ou gametofítica. Os autores também observaram que *P. munguba* não apresenta agamospermia (apomixia). O sistema reprodutivo das Bombacoideae parece ser bem diverso, pois em *Eriotheca*, Martins & Oliveira (2003) verificaram a ocorrência de apomixia e autoincompatibilidade em *E. pubescens* (Mart. & Zucc.) Schott & Endl. e *E. gracilipes* (K. Schum.) A. Robyns, respectivamente. Em *Ceiba pentandra*, os estudos

de autopolinização evidenciaram o crescimento de tubos polínicos, mas não foram suficientes para definir sua autocompatibilidade, devido a não formação de sementes. Em contrapartida, a polinização cruzada resultou no crescimento de tubos polínicos e fecundação dos óvulos e houve a formação de frutos com sementes viáveis. Entretanto, em alguns casos de indivíduos isolados, houve certo grau de autofecundação com formação de frutos, enquanto outros indivíduos isolados não formaram frutos, apesar de intensa floração, confirmando assim a ocorrência de autofertilidade em *Ceiba* em níveis muito variáveis. (Gribel *et al.* 1999).

A compreensão da biologia reprodutiva das espécies está fundamentalmente ligada ao conhecimento da biologia floral e dos padrões fenológicos, bem como o entendimento do sistema reprodutivo (Maués & Couturier 2002).

1.4 Estudos cromossômicos em Bombacoideae

O estudo citogenético abrange todos os aspectos relacionados ao cromossomo, seja ele isolado ou em grupo, distendido ou condensado, em relação à sua herança, organização e expressão gênica (Guerra 1988, Apples *et al.* 1998). Alguns desses estudos têm contribuído para o entendimento do comportamento reprodutivo e da evolução de espécies de plantas selvagens (Forni-Martins & Martins 2000, Forni-Martins & Calligaris 2002, Biondo *et al.* 2005, Forni-Martins *et al.* 2007a, b, Dahmer *et al.* 2011, Pinto 2013) ou de espécies cultivadas de importância agrônômica ou ornamental (Barros & Silva 2010, Almeida & Pedrosa-Harand 2011).

A citotaxonomia compreende um dos ramos mais interessantes da citogenética, e consiste na análise de dados citogenéticos em relação à sistemática do grupo

estudado (Guerra 1988, Stace 1989, Bernardos *et al.* 2004, Moraes *et al.* 2007, Pinto *et al.* 2013). Os dados citogenéticos disponíveis na literatura para espécies nativas do Brasil são raros e as informações estão fragmentadas, na maioria das vezes não estando relacionadas entre si (Pinto 2013). Um dos parâmetros citotaxonômicos mais analisados é o número cromossômico, que pode auxiliar na verificação da integridade de uma espécie ou na compreensão da evolução do grupo. Quando indivíduos de uma espécie apresentam números cromossômicos diferentes, este pode vir a ser um caráter que os separe, principalmente se acompanhado de variações morfológicas (Guerra 1988, Stace 1989).

Outro aspecto abordado pela citotaxonomia é a morfologia cromossômica, que está relacionada com o tamanho, posição centromérica e a presença de constrições secundárias (Guerra 1988, Stace 1989). Porém, em alguns casos, a análise cariomorfológica e numérica não são suficientes para se inferir as relações cromossômicas, sendo então necessária a utilização de outras técnicas para a diferenciação linear dos cromossomos, como bandamento cromossômico e hibridização de DNA *in situ* (FISH - Fluorescence *in situ* hybridization) (Pinto 2013).

Entre as técnicas de bandamento, o bandamento CMA/DAPI destaca-se por ser de fácil aplicação, utilizando-se de corantes fluorescentes na identificação de bandas heterocromáticas, caracterizando as bandas de acordo com a composição de suas bases. Algumas regiões de heterocromatina, compostas de DNA repetitivo, frequentemente apresentam uma porção de bases púricas (adenina/timina A-T) ou pirimídicas (citosina/guanina C-G) diferente do resto do genoma. O fluorocromo Cromomicina A₃ (CMA) cora preferencialmente regiões ricas em C-G e o 4-6'-diamidino-2-fenilidol (DAPI) cora preferencialmente as regiões ricas em A-T. A técnica revela

bandas fluorescentes positivas com CMA (CMA⁺) ou com DAPI (DAPI⁺). A resposta ao bandamento ainda pode ser neutra (CMA⁰ ou DAPI⁰), quando não são evidenciadas bandas com nenhum dos fluorocromos, ou negativa, quando ocorre marcação com apenas um dos fluorocromos (CMA⁻ ou DAPI⁻) (Schweizer 1976, 1976).

Estudos cromossômicos têm se tornado cada vez mais necessários para o entendimento da posição taxonômica das espécies, demonstrando grande eficiência quando associados a estudos morfológicos e comparativos. Análises em algumas espécies de Bombacoideae, revelam números cromossômicos relativamente elevados (Forni-Martins *et al.* 1995), como por exemplo, $2n = 92$ em *Eriotheca gracilipes* (Forni-Martins *et al.* 1992, 1995) e $2n = \text{ca.}270$ ou $2n=276$ em *E. pubescens*. (Forni-Martins *et al.* 1992, 1995 e Oliveira *et al.* 1992, respectivamente). Há espécies com $2n = 80$, como *Ceiba pentandra* (Baker & Baker 1968), mas a maioria possui $2n = 72$, como, *Bombacopsis glabra* (Pasq.) A. Robyns, *Ceiba speciosa* St. Hil., Para *Pseudobombax* são disponíveis contagens para poucas espécies, com números cromossômicos diferentes e imprecisos: $2n = 72/\text{ca.}88$ em *P. ellipticum* (H. B. K.) Dugand (Baker & Baker 1968) e $2n = 88$ em *P. longiflorum* (Mart. & Zucc.) A. Robyns (Gibbs *et al.* 1988) e *P. septenatum* (Jacquin) Dugand (Bawa 1973) e $2n = \text{ca.}84$ em *P. munguba* (Mart. & Zucc.) Dugand (Morawetz 1986).

1.5 Objetivos Gerais

O presente trabalho teve como objetivos gerais o estudo da biologia reprodutiva e floral, da fenologia reprodutiva e da análise cariotípica de três espécies de *Pseudobombax* da região sudeste do Brasil. Objetivou-se, compreender a biologia reprodutiva das espécies em estudo, a fim de reconhecer diferenças entre as mesmas, bem como possíveis diferenças florais, além de diferenciar os cariótipos para compreensão e separação taxonômica das espécies em estudo, contribuindo assim com informações para a conservação da diversidade biológica e para a análise biosistemática do gênero *Pseudobombax*.

1.6 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Almeida C, Pedrosa-Harand A (2011) Contrasting rDNA evolution in Lima bean (*Phaseolus lunatus* L.) and common bean (*P. vulgaris* L., Fabaceae). *Cytogenet Genome Res* 132: 212-217.
- Alverson WS, Whitlock BA, Nyffeler R, Bayer C, Baum DA (1999) Phylogeny of the core Malvales: evidence from *ndhF* sequence data. *Am J Bot* 86: 1474-1486.
- Andrade-Lima D (1977) A flora de áreas erodidas de calcário bambuí em Bom Jesus da Lapa, Bahia. *R Bras Biol* 37(1): 179-194.
- Angiosperm Phylogeny Website(2012).<http://www.mobot.org/MOBOT/research/APWeb/>. (acesso em 25/10/2013).
- APG – Angiosperm Phylogeny Group (2009) An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Bot J Lin Soc* 161: 105-121.
- Apples R, Morris R, Gill BS, May CE (1998) *Chromosome Biology*. Kluwer Academic Publishers, Boston. 401 pp.
- Baker HG, Baker I (1968) Chromosome number in the Bombacaceae. *Bot Gaz* 129 (4): 294-296.
- Barros e Silva AE, Marques A, Santos KGB, Guerra M (2010) The evolution of CMA bands in *Citrus* and related genera. *Chromosome Res* 18: 503-514.

- Baum DA, Alverson WS, Nyffeler R (1998) A durian by any other name: Taxonomy and nomenclature of the core Malvales. *Harvard Papers in Botany* 3(2): 315-330
- Baum DA, Smith SD, Yen A, Alverson WS, Nyffeler R, Whitlock BA, Oldham RL (2004) Phylogenetic relationships of Malvaceae (Bombacoideae and Malvoideae; Malvaceae *sensu lato*) as inferred from plastid DNA sequences. *Am J Bot* 91(11): 1863-1871.
- Bawa KS, Bullock SH, Perry DR, Coville RE, Grayum MH (1985) Reproductive biology of tropical lowland rain forest trees. II. Pollination systems. *Am J Bot* 72: 346-35.
- Bawa KS (1973) Chromosome numbers of tree species of a Lowland forest community. *J. Arnold Arbor* 54(4): 422-432.
- Bayer C, Fay MF, De Bruijn AY, Savolainen V, Morton CM, Kubitzki K, Alverson WS, Chase MW (1999) Support for an expanded family concept of Malvaceae within a circumscribed order Malvales: a combined analysis of plastid *atpB* and *rbcl* DNA sequences. *Bot J Linn Soc* 129: 267-303.
- Bernardos S, Tyteca D, Amich F (2004) Cytotaxonomic study of some taxa of the subtribe *Orchidinae* (Orchidoideae, Orchidaceae) from the Iberian Peninsula. *Israel J of Plant Sci* 52: 161-170.
- Biondo E, Miotto STS, Schifino-Wittmann MT, Castro B (2005) Cytogenetics and Cytotaxonomy of Brazilian Species of *Senna* Mill. (Cassieae - Caesalpinioideae - Leguminosae). *Caryologia* 58 (2): 152-163.
- Bovini MG, Carvalho-Okano RM, Vieira MF (2001) Malvaceae A. Juss. no Parque estadual do Rio Doce, Minas Gerais, Brasil. *Rodriguésia* 52(81): 17- 47.

- Braga R (1960) Plantas do nordeste, especialmente do Ceará. Natal: Ed. Universitária UFRN, 4º ed. 540 p.
- Carvalho PER (2006) Espécies arbóreas brasileiras. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo: Embrapa Florestas (2).
- Carvalho-Sobrinho JG, Queiroz LP (2011) Morphological cladistic analysis of *Pseudobombax* Dugand (Malvaceae, Bombacoideae) and allied genera. Rev Bras Bot 34 (2): 197-209.
- Carvalho-Sobrinho JG (2006) O gênero *Pseudobombax* Dugand (Malvaceae *s.l.*, Bombacoideae) no Estado da Bahia, Brasil. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual de Feira de Santana. Feira de Santana, Bahia, Brasil.
- Carvalho-Sobrinho JG, Queiroz LP (2010) Three New Species of *Pseudobombax* (Malvaceae, Bombacoideae) from Brazil. Novon 20(1): 13-20.
- Cronquist A (1981) An integrated system of classification of flowering plants. Columbia University Press, New York.
- Darwin C (1859) A origem das espécies. São Paulo, Martin Claret.
- Darwin C (1877) The different forms of flowers on plants of the same species. Murray, London.
- Dahmer N, Simon MF, Schifino-Wittmann MT, Hughes CE, Miotto STS, Giuliani JC (2011) Chromosome numbers in the genus *Mimosa* L.: cytotaxonomic and evolutionary implications. Plant Syst Evol 291: 211-220.

- Fernández-Alonso JL (2001) Bombacaceae neotropicae novae vel minuscognitae 5. Novidades en *Pseudobombax Dugand* y sinopsis de las especies Colombianas. *Revista Acad Colomb Ci Exact* 25: 467-476.
- Fischer EA, Jimenez FA, Sazima M (1992) Polinização por morcegos em duas espécies de Bombacaceae na Estação Ecológica de Juréia, São Paulo. *Rev Bras Bot* 15(1): 67-72.
- Forni-Martins ER, Pinto-Maglio CAF, Cruz ND (1992) Biologia da reprodução em plantas de cerrado. *Anais do VIII Congresso da Sociedade Botânica de São Paulo*, pp. 77-82.
- Forni-Martins ER, Calligaris KP (2002) Chromosomal studies on Neotropical *Limnocharitaceae* (Alismataceae). *Aquatic Bot* 74: 33-41.
- Forni-Martins ER, Martins FR (2000) Chromosome studies on Brazilian cerrado plants. *Genet Mol Biol* 23 (4): 947-955.
- Forni-Martins ER, Mansanares ME, Semir J (2007b) Cytotaxonomy of *Lychnophoriopsis* Schultz-Bip. and *Paralychnophora* MacLeish species (Asteraceae: Vernonieae: Lychnophorianaee). *Bot J Linn Soc* 154: 109-114.
- Forni-Martins ER, Oliveira VM, Semir J (2007a) Cytotaxonomy of species of *Vernonia* (subsection Axilliflorae, section Lepidaploa, Vernonieae, Asteraceae). *Bot J Linn Soc* 154: 99-108.
- Forni-Martins ER, Maglio CAF, Cruz ND (1995) Chromosome numbers in Brazilian cerrado plants. *Brazil. J. Genetics* 18(2): 281-288.

- Frik WF, Price RD, Heady III PA, Kay KM (2013) Insectivorous bat pollinates columnar cactus more effectively per visit than specialized nectar bat. *Am Nat* 181(1): 137-144.
- Gibbs PE, Semir J (2003) A Taxonomic Revision of the Genus *Ceiba*. *Anales Jard Bot Madrid* 60(2): 264.
- Gribel R, Gibbs PE, Queiróz AL (1999) Flowering phenology and pollination biology of *Ceiba pentandra* (Bombacaceae) in Central Amazonia. *J Trop Ecol* 15:247-263.
- Gribel R, Gibbs PE (2002) High outbreeding as a consequence of selfed ovule mortality and single vector bat pollination in the Amazonian tree *Pseudobombax munguba* (Bombacaceae). *Int J Plant Sci* 163(6): 1035-1043.
- Guerra M (1988) *Introdução à citogenética Geral*. Editora Guanabara, Rio de Janeiro. 142pp.
- Hinsley, SR (2004) Classification: Malvaceae. <http://www.malvaceae.info/Classification/Malvaceae.html>. (acesso em 25/10/2013).
- Hoehne FC (1927) As Bombacáceas Brasileiras e o seu valor para as indústrias. *Arquivos de Botânica do Estado de São Paulo* 1(4):1-35.
- IPNI – The International Plant Names Index – 2010. *Pseudobombax*. <http://www.ipni.org> (acesso em 27/08/2010)
- Joly AB (1987) *Botânica: introdução à taxonomia vegetal*. 8ed. São Paulo: Nacional. 777p.

- Judd WS, Manchester SR (1997) Circumscription of Malvaceae (Malvales) as determined by a preliminary cladistic analysis of morphological, anatomical, palynological, and chemical characters. *Brittonia* 49: 384-405.
- Kay KM, Sargent RD (2009) The Role of Animal Pollination in Plant Speciation: Integrating Ecology, Geography, and Genetics. *Evol Syst* 19: 637-656.
- Lopes JC, Matheus MT, Corrêa NB, Silva DP (2008) Germinação de sementes de embiruçu (*Pseudobombax grandiflorum* (Cav.) A. Robyns) em diferentes estádios de maturação e substratos. *Ver Flor Curitiba*, 38 (2).
- Lorenzi H (2002a) Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. vol.1. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum: 4º ed. 384p
- Lorenzi H (2002b) Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. vol. 2. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum 2º ed. 384p
- Martins RL, Oliveira PE (2003) RAPD Evidence for Apomixis and Clonal Populations in *Eriotheca* (Bombacaceae). *Plant Biol* 5(3): 338-340.
- Maués MM, Couturier G (2002) Biologia floral e fenologia reprodutiva do camu-camu (*Myrciaria dúbia* (H.B.K.) McVaugh, Myrtaceae) no Estado do Pará, Brasil. *Rev Bras Bot* 25(4):441-448.
- Moraes AP, Soares Filho WS, Guerra M (2007) Karyotype diversity and the origin of grapefruit. *Chromosome Res* 15: 115-121.
- Nascimento ART, Felfili JM, Meirelles EM (2004) Florística e estrutura da comunidade arbórea de um remanescente de Floresta Estacional Decidual de Encosta, Monte Alegre, Goiás, Brasil. *Acta Bot Bras* 18(3): 659-669.

- Nyffeler R, Baum DA (2005) Phylogenetic relationships of the Durians (Bombacaceae, Durioneae Or /Malvaceae/Helicteroideae/Durioneae) based on chloroplast and nuclear ribosomal DNA sequences. *Plant Syst Evol* 224: 55-82.
- Oliveira PE, Gibbs PE, Barbosa AA, Talavera S (1992) Contrasting breeding systems in two *Eriotheca* (Bombacaceae) species of the Brazilian cerrado. *Pl Syst Evol* 179: 207-219.
- Peterle PL, Galvêas AB, Thomaz LD (2007) Biologia floral e polinização de *Pseudobombax grandiflorum* (Cav.) A. Rob. (Bombacaceae) na região de Barra do Jucu – Vila Velha – ES. *Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil, Caxambu – MG*.
- Pfeil BE, Brubaker CL, Craven LA, Crisp MD (2002) Phylogeny of *Hibiscus* and the tribe Hibisceae (Malvaceae) using chloroplast DNA sequences of *ndhF* and the *rpl16* intron. *Syst Bot* 27: 333-350.
- Pinto RB (2013) Estudos citogenéticos e taxonômicos em *Swartzia* Schreb. (Leguminosae-Papilionoideae). Dissertação de Mestrado, Campinas, São Paulo, Brasil.
- Pio-Corrêa M (1926) Dicionário das plantas úteis do Brasil e das exóticas cultivadas. Rio de Janeiro, Imprensa Nacional.
- Polido CAM (2013) Estudo cromossômico da tribo Dalbergieae *sensu* Klitgaard & Lavin (2005), com ênfase no clado *Dalbergia s. str.* (Leguminosae, Papilionoideae). Tese de Doutorado, Campinas, São Paulo, Brasil.
- Robyns A (1963) Essai de Monographie du genre *Bombax* L. *s.l.* (Bombacaceae). *Bull. Jard Bot État Bruxelles* 33:1-315.

- Silva LA, Scariot A (2004) Comunidade arbórea de uma floresta estacional decídua sobre afloramento calcário na bacia do Rio Paraná. *Revista Árvore* 28(1): 61-67.
- Silva SSP, Pereacchi AL (1995) Observação da visita de morcegos (Chiroptera) às flores de *Pseudobombax grandiflorum* (Cav.) A. Robyns. *Revta bras Zoo* 12 (4): 859-865.
- Stace CA (1989) *Plant Taxonomy and Biosistematics*. 2 edition. Cambridge University Press, New York. 264pp
- Schweizer D (1976) Reverse fluorescent chromosome banding with chromomycin and DAPI. *Chromosoma* 58: 307-324
- Schweizer D (1979) Fluorescent chromosome banding in plants: applications, mechanisms, and implications for chromosome structure. p. 61-72. In: Davies DR, Hopwood DA (eds.) *Plant Gen (Proceedings of the Fourth John Innes Symposium)*. John Innes Charity, Norwich, UK, p. 171-183, (1980).
- Thompson JN (1994) *The coevolutionary process*. University of Chicago Press.
- Whitlock BA, Bayer C, Baum DA (2001) Phylogenetic relationships and floral evolution of the *Byttnerioideae* ("Sterculiaceae" or Malvaceae s. l.) based on sequences of the chloroplast gene, *ndhF*. *Syst Bot* 26: 420-437.

**BIOLOGIA FLORAL, REPRODUTIVA E CARIÓTIPOS DE ESPÉCIES DE
PSEUDOBOMBAX DUGAND (BOMBACOIDEAE, MALVACEAE) DO SUDESTE DO BRASIL**

1. INTRODUÇÃO

A atual circunscrição da família Malvaceae compreende nove subfamílias, algumas formadas por membros das antigas famílias Bombacaceae e Malvaceae, que se distinguem em um clado denominado Malvatheca (Baum *et al.* 1998). Neste clado são discernidas duas subfamílias: Malvoideae e Bombacoideae, esta última à qual pertence o gênero *Pseudobombax*.

O gênero *Pseudobombax* Dugand pertence à subfamília Bombacoideae e inclui 29 espécies (Robyns 1963, Fernádes-Alonso 2001; Carvalho-Sobrinho & Queiroz 2010, IPNI 2010, Carvalho-Sobrinho & Queiroz, 2011). De todas as espécies, 16 ocorrem no Brasil, sendo nove endêmicas. Estudos em desenvolvimento na região sudeste do Brasil sinalizam a descrição de uma nova espécie de *Pseudobombax*, semelhante a *P. grandiflorum* em suas características vegetativas e florais (João Semir, comunicação pessoal). As espécies de *Pseudobombax* ocorrem desde as florestas ombrófilas e semi-decíduas do sudeste, passando pelo cerrado do planalto central até a restinga e caatinga do nordeste brasileiro. Podem ser caracterizadas morfologicamente pelos seus troncos marcados na vertical, pecíolos alargados no ápice, folhas digitadas, cálices persistentes no fruto, receptáculos com glândulas conspícuas, filetes formando parcialmente tubos, anteras monotecas, abundantes frutos em forma de cápsula e número cromossômico (n) igual a 36 (Carvalho-Sobrinho & Queiroz 2010). Sugere-se como provável sinapomorfia de *Pseudobombax* a presença de folhas palmadas e compostas (Alverson *et al.* 1999, Baum *et al.* 2004), ápice do pecíolo dilatado e os folíolos não articulados com pecíolo (Carvalho-Sobrinho & Queiroz 2011).

As Bombacoideae em geral, especialmente as espécies de *Pseudobombax*, apresentam grande potencial ornamental, sendo amplamente utilizadas na arborização urbana devido às frondosas copas e suas flores vistosas (Lorenzi 2002a, 2002b). Sua paina que é originada da parede interna do endocarpo dos frutos pode ainda ser utilizada na fabricação de tecidos e enchimento de colchões (Carvalho 2006).

Trabalhos com enfoque reprodutivo e fenológico de representantes de Bombacoideae, incluindo *Pseudobombax*, são pouco frequentes. Gribel & Gibs (2002) relataram alta taxa de fecundação cruzada em *P. munguba* (Mart. & Zucc.) Dugand, porém não evidenciaram mecanismos de autoincompatibilidade esporofítica ou gametofítica; mostraram ainda que *P. munguba* não apresenta agamospermia (apomixia). O sistema reprodutivo das Bombacoideae parece ser bem diversificado. Martins & Oliveira (2003) verificaram a ocorrência de apomixia e autoincompatibilidade em *Eriotheca pubescens* (Mart. & Zucc.) Schott & Endl. e *E. gracilipes* (K. Schum.) A. Robyns respectivamente. *Ceiba pentandra* (L.) Gaertn. também parece ser autoincompatível, porém foi relatada a formação de frutos em alguns indivíduos isolados (Gribel *et al.* 1999).

A biologia da polinização do grupo mostra-se muito interessante, visto a sua fascinante e peculiar síndrome de polinização. As espécies de *Pseudobombax* em geral enquadram-se na síndrome da quiropterofilia (polinização por morcegos) (Carvalho-Sobrinho 2006, Carvalho 2006), apresentando flores bem expostas, grandes, vistosas, e de fácil acesso aos visitantes com antese crepuscular/noturna, coloração clara, alta produção de néctar e pólen. Essa exposição das flores se dá pela disposição das flores na copa da árvore (acima dos ramos vegetativos) e pela disposição dos elementos

florais na flor (estames excertos, de forma que o pólen seja depositado facilmente no visitante) (Faegri & van der Pijl 1996).

Em *P. grandiflorum* (Cav.) A. Robyns, durante a visita às flores, o pólen é depositado na porção anterior do morcego (cabeça/tórax) (Silva & Peracchi 1995, Peterle *et al.* 2007). Em outras Bombacoideae, como *Ceiba pentandra*, os visitantes florais podem ser noturnos ou diurnos, porém apenas os morcegos são polinizadores efetivos (Gribel *et al.* 1999). Em *Adansonia* L. (baobá), os visitantes são noturnos, como morcegos frugívoros, lêmures e esfingídeos e todos são efetivos na polinização.

A citotaxonomia associa dados citogenéticos na análise sistemática do grupo estudado (Guerra 1988, Stace 1989, Bernardos *et al.* 2004, Moraes *et al.* 2007, Pinto *et al.* 2013). As análises cromossômicas têm se tornado de essencial importância para o entendimento da posição taxonômica das espécies de plantas, mostrando grande eficácia quando associadas a estudos comparativos.

Estudos feitos em algumas Bombacoideae revelam números cromossômicos relativamente elevados (Forni-Martins *et al.* 1995), especialmente em *Eriotheca*: $2n=ca.270$ (Forni-Martins *et al.* 1992, 1995) ou $2n=276$ (Oliveira *et al.* 1992) em *E. pubescens*, além de $2n=92$ em *E. gracilipes* (Forni-Martins *et al.* 1992, 1995) e em *Bombax ceiba* L. (Mehra 1976, Singhal & Gill 1984). Há espécies com $2n=80$, como *Ceiba pentandra* (Baker & Baker 1968) e outras possuem $2n=72$, como *Pachira glabra* Pasq., e *P. quinata* (Jacquin) W.S. Alverson (Baker 1960). Entretanto, a maioria apresenta $2n=86$, como *Ceiba erianthos* (cav.) K. Shum. e *C. glaziovii* (Kuntze) K. Shum. (Gibbs & Semir 1988) ou $2n=88$ como em *Adansonia grandidieri* Baill., *A. gregorii* F. Muell., *A. madagascariensis* Baill., (Baum & Oginuma 1994), *Spirotheca rosea*

(Seem.) P.E. Gibbs & W.S. Alverson e *Quararibea aurantiocalyx* W.S. Alverson (Oginuma *et al.* 1999)

Em *Pseudobombax* poucas contagens estão disponíveis, com números cromossômicos imprecisos e distintos: $2n=72/\text{ca.}88$ em *P. ellipticum* (H. B. K.) Dugand (Baker & Baker 1968) e $2n=88$ em *P. longiflorum* (Mart. & Zucc.) A. Robyns (Gibbs *et al.* 1988) e *P. septenatum* (Jacquin) Dugand (Bawa 1973), além de $2n=\text{ca.}84$ em *P. munguba* (Mart. & Zucc.) Dugand (Morawetz 1986).

Dessa maneira, objetivou-se com este trabalho, o estudo do sistema reprodutivo, da biologia floral, a análise fenológica e a citogenética de três espécies de *Pseudobombax* do sudeste do Brasil, incluindo a espécie nova, que está sendo descrita por João Semir. As possíveis diferenças reprodutivas, de morfometria floral, fenológicas e de cariótipos podem subsidiar a biosistemática do gênero e a separação taxonômica entre as espécies, além de auxiliar com informações que promovam a conservação da diversidade biológica de *Pseudobombax*.

2. MATERIAL E MÉTODO

2.1 Espécies e área de estudo

Três espécies de *Pseudobombax* foram selecionadas para o estudo, *P. grandiflorum* (Cav.) A. Robyns, *P. tomentosum* (Mart. & Zucc.) A. Robyns e *Pseudobombax* sp. (nova). Essas espécies estão representadas por alguns indivíduos cultivados no campus da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), Campinas, São Paulo, cujas coordenadas geográficas são 22° 48' 57" S e 47° 03' 33" W, com altitude média de 640 m. As três espécies ocorrem naturalmente na região sudeste do Brasil: *P. grandiflorum* e *Pseudobombax* sp. (nova) distribuem-se na Mata Atlântica, (a primeira é comumente encontrada em floresta ombrófila densa e a segunda em regiões de restinga do Rio de Janeiro, Espírito Santo e Bahia), enquanto *P. tomentosum* é mais comum no Cerrado do estado de São Paulo (Dr. João Semir, comunicação pessoal). O clima na área de estudo, pela classificação de Köppen (1948), é uma transição entre os tipos Cwa e Cfa, o que indica clima tropical de altitude com inverno seco e verão úmido. A temperatura média do mês mais quente (fevereiro) é superior a 22 °C, e a do mais frio (junho) é inferior a 18 °C. A precipitação pluvial média anual é de 1.382 mm, com período chuvoso entre outubro e março (1.048 mm), o que representa 75% do total de chuva anual. O período mais seco ocorre de junho a setembro (Cepagri 2013).

Para cada espécie, foram coletados ramos vegetativos e reprodutivos, que posteriormente foram herborizados segundo técnicas usuais e incorporados no Herbário da Universidade Estadual de Campinas (UEC). Voucher/nº coletor: *P. tomentosum* 179017 (JPSN 3), *P. grandiflorum* 17910 (JPSN 4), *Pseudobombax* sp. (nova) 17911 (JPSN 6).

2.2 Fenologia reprodutiva, morfologia e biologia floral

Para o estudo da fenologia, cerca de cinco-seis indivíduos de cada espécie foram marcados e monitorados semanalmente (de março de 2012 a outubro de 2013), registrando as fenofases de floração (foi contado o número de botões florais em pré-antese e de flores recém-abertas) e de frutificação (foi contado o número de frutos bem formados). Também foi feita a descrição do porte e de características vegetativas de cada espécie.

Para a descrição da morfologia floral foram analisados a forma, o tamanho, as cores e o número de cada peça floral, além do horário e forma de abertura das flores (n=10). Na análise da morfometria floral foram obtidas medidas do comprimento floral, comprimento do cálice, comprimento da corola, comprimento do ovário, comprimento do estilete e comprimento do estame, considerando dez flores por espécie (Fig. 1)

A viabilidade dos grãos de pólen foi testada durante a antese. Uma amostra de pólen foi retirada de uma antera deiscente e colocado em uma gota de carmim acético, sobre uma lâmina de microscopia (Radford *et al.* 1974) e observado em microscópio óptico. Também foi avaliada a viabilidade polínica com a coloração pela enzima DAB (diamino-benzidina Sigma Fast TM). Foram utilizadas 20 flores selecionadas entre pelo menos três indivíduos de cada espécie. Para cada flor, uma lâmina foi elaborada, analisando 1000 grãos de pólen por lâmina. A receptividade do estigma foi avaliada colocando uma gota de peróxido de hidrogênio (H₂O₂) a 3% (Kearns & Inouye 1993) sobre a superfície estigmática. Em cada espécie foram analisadas 20 flores, distribuídas em várias etapas da antese (desde flores recém-abertas até flores com 12 horas de abertura).

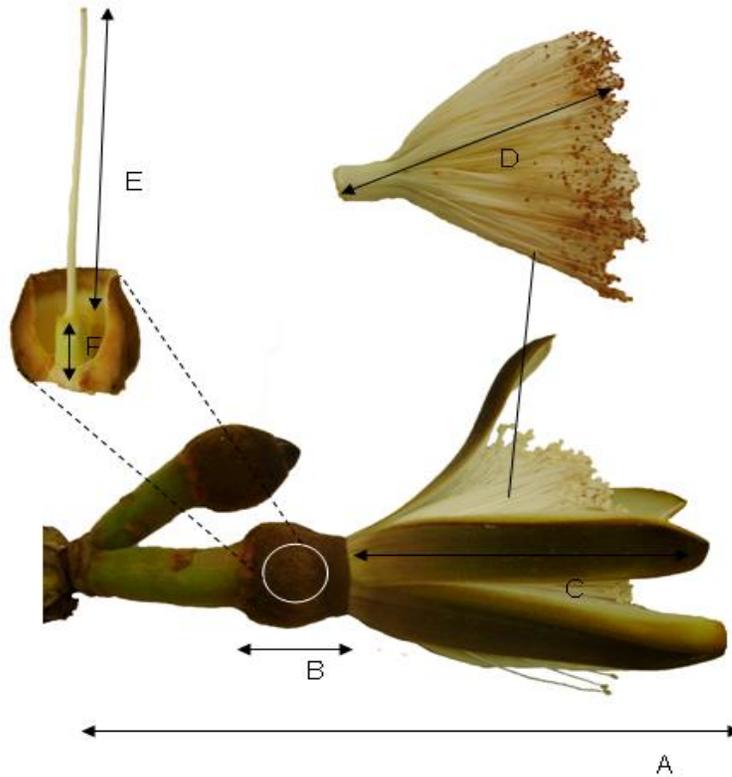


Figura 1. Parâmetros mensurados para os testes de morfometria floral de espécies de *Pseudobombax*. A- Comprimento floral. B-Comprimento do cálice. C-Comprimento da pétala. D-Comprimento do estame. E- Comprimento do estilete. F-Comprimento do ovário.

2.3 Sistema reprodutivo

O estudo do sistema reprodutivo foi realizado utilizando de 30-40 flores de cada espécie para cada tratamento nas espécies em estudo. Foram realizados os seguintes tratamentos: AE- autopolinização espontânea, AM- autopolinização manual, PC- polinização cruzada, E- emasculação, PN- polinização em condições naturais (controle). Em cada tratamento (exceto PN), as flores em fase de pré-antese foram protegidas conforme metodologia proposta por Mussury & Fernandes (2000) utilizando sacos confeccionados com o tecido do tipo pano multiuso (perfex) ou sacos de papel. Nos tratamentos AM, PC e E também foi feita a emasculação das flores na pré-antese. Nos tratamentos AM e PC foi feita a polinização manual (autopolinização e polinização

cruzada, respectivamente) nas flores protegidas e emasculadas. As flores permaneceram ensacadas de sete a dez dias. Posteriormente os sacos foram retirados para acompanhamento da formação ou não de frutos. Os botões marcados no tratamento PN, para verificar a polinização em condições naturais (controle), permaneceram expostos aos visitantes florais. Também foi observado o período de maturação dos frutos.

A partir dos resultados obtidos foram calculados o índice de autoincompatibilidade ($ISI = \% \text{ de frutos formados por flores autopolinizadas manualmente} / \% \text{ de frutos formados por flores submetidas à polinização cruzada}$) e a eficácia reprodutiva ($ER = \% \text{ de frutos formados em condições naturais} / \% \text{ de frutos formados por polinização cruzada}$) (Sobrevila & Arroyo 1982).

2.4 Germinação de sementes, pré-tratamento e fixação de raízes

Para cada espécie, flores e frutos foram coletados para análises e germinação de sementes no Laboratório de Biossistemática e Polinização, no Departamento de Biologia Vegetal do Instituto de Biologia, UNICAMP

As sementes foram lavadas em hipoclorito de sódio (2%) por cerca de 15 minutos e posteriormente hidratadas em água. Foram posteriormente semeadas em Gerbox® com papel filtro umedecido em câmara BOD a 25°C e regadas quatro a cinco vezes por semana.

As radículas recém-emergidas foram coletadas e pré-tratadas em 8-hidroxiqiloneína (8-HQ a 0,002M), em temperatura de 4-10°C por 24 horas. Posteriormente foram fixadas em solução Farmer (3 partes de etanol absoluto: 1 parte

de ácido acético, v/v) por 24 horas à temperatura ambiente e armazenadas em freezer (-20°C) até o momento de preparo das lâminas.

2.5 Preparação de lâminas

As lâminas foram preparadas através de digestão enzimática e esmagamento das pontas de raízes. Inicialmente, as raízes foram lavadas em água destilada por três vezes, durante cinco minutos. Após a lavagem, as raízes foram mergulhadas em solução de enzimas digestivas (2% celulase, 20% pectinase, 1% macerozima) e mantidas em banho-maria a 37°C por 10 minutos. Posteriormente foram transferidas para água destilada por pelo menos uma hora, com a finalidade de reduzir a presença de citoplasma nas células. As pontas das raízes foram maceradas nas lâminas, juntamente com uma gota de ácido acético 45% e cobertas com lamínula; as lâminas foram congeladas em nitrogênio líquido (para aderência do material na lâmina) e as lamínulas retiradas. As lâminas foram secas e armazenadas para posteriores procedimentos de coloração com Giemsa ou bandamento CMA/DAPI.

2.6 Coloração com Giemsa, bandamento CMA/DAPI e registro dos resultados

As lâminas selecionadas foram mergulhadas em solução de Giemsa 2% por 8-10 minutos, lavadas em água e secas como auxílio de uma bomba de ar. Foi utilizada a resina Entelan® como meio de montagem da lâmina.

Para o bandamento CMA/DAPI (Guerra & Lopes, 2002), os fluorocromos cromomicina A₃ (CMA₃) e 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI) foram administrados

sequencialmente. Para a coloração, uma gota de 15 µl de CMA₃ (0,5 mg/ml) foi aplicada sobre cada lâmina previamente preparada, e então coberta com uma lamínula. Depois de uma hora em câmara úmida escura, a lâmina foi lavada com um jato de água destilada para remoção da lamínula e do excesso do fluorocromo. Posteriormente, cada lâmina recebeu uma gota de 15 µl de DAPI (2 mg/ml) e foi mantida durante 30 minutos também em câmara úmida escura. A lâmina foi novamente lavada com um jato de água destilada e retirada a lamínula. Quando secas, as lâminas foram montadas em meio de montagem para CMA₃/DAPI (glicerol: tampão McIlvaine pH7: MgCl₂; 1:1:1) e armazenadas em câmara escura para a estabilização de fluorocromos por três dias antes da análise sob fotomicroscópio de epifluorescência.

As lâminas preparadas pela técnica de Giemsa e de bandamento CMA/DAPI foram analisadas em fotomicroscópio de epifluorescência Olympus® BX51. As fotografias foram feitas através do aplicativo DP2-BSW.

2.7 Avaliação dos cromossomos

Para confirmar a contagem do número cromossômico foram utilizadas 15 células coradas com Giemsa, utilizando o programa Adobe Photoshop CS5® e impressão das imagens. As medições dos tamanhos dos cromossomos foram feitas a partir de três células coradas com Giemsa. Foi utilizado o programa Image J® para mensurar o comprimento dos cromossomos (n=3), respeitando os devidos fatores de ampliação. Foi calculado o somatório dos comprimentos cromossômicos de cada espécie, denominado de comprimento do complemento cromossômico (CCC), segundo os conceitos apresentados por Greilhuber *et al.* (2005).

2.8 Análise estatística de dados

Os resultados obtidos na morfometria floral foram analisados no ambiente R versão 3.0.2 (R Development Core Team 2013), utilizando o pacote *stats*. Os dados de morfometria floral foram submetidos ao teste de normalidade Shapiro-Wilk. Os caracteres que apresentaram distribuição normal foram analisados pela ANOVA a partir da função *aov*, seguido pelo teste de Tukey a partir da função *Tukey HSD*. Para os caracteres que não apresentaram distribuição normal, foi feita a análise com o teste de Kruskal-Wallis a partir da função *kruskal.test*, com o teste de Dunn *a posteriori*.

3. RESULTADOS

3.1 Fenologia reprodutiva

As fenofases de floração e frutificação de *P. tomentosum*, *P. grandiflorum* e *Pseudobombax* sp. (nova) são apresentadas na Figura 2, comparativamente entre os anos de 2012 e 2013. As espécies apresentaram longo período de floração, podendo variar de abril a outubro/novembro e não houve diferença nos períodos de floração entre as espécies e entre os dois anos de estudo (Figura 2).

Em 2012 o período de floração foi maior (abril a outubro/novembro) e também o de frutificação (abril a novembro). Em 2013 estes períodos foram mais curtos, com floração de abril a agosto e frutificação de abril a outubro. Em março de 2012, mês que antecedeu a floração, houve pouca precipitação (cerca de 21 mm), situação bem diferente da observada em 2013 (cerca de 241mm) (Figura 2). Entretanto, no início da

floração (abril), a precipitação média foi muito semelhante nos dois anos (em torno de 140 mm). As principais diferenças mensais de precipitação ocorreram em junho e julho, quando se compara os dois anos de estudo (Fig. 2).

O pico de floração no ano de 2012 se deu em maio nas três espécies, enquanto que no ano seguinte se alternou entre os meses de maio e junho, dependendo da espécie. Em 2012, a frutificação atingiu o auge nos meses de julho e agosto nas três espécies e em 2013, o pico de frutificação também ocorreu em julho e agosto nas espécies *P. tomentosum* e *Pseudobombax* sp. (nova) e foi um pouco mais atrasada (agosto e setembro) em *P. grandiflorum*.

O mês de agosto apresentou o maior pico de frutificação, sendo também o mês com o menor índice de pluviosidade nos dois anos de estudo, em 2013 houve maior frutificação em relação ao ano anterior, por exemplo, em agosto de 2013 em *P. tomentosum* foi observada a formação de 77 frutos em média, contra apenas 38 em agosto de 2012. Essa tendência também foi constatada para as demais espécies.

Quando comparamos as três espécies, houve pouca diferença entre as espécies, visto que as espécies florescem na mesma época, apresentando quantidade semelhante de flores e frutificam também concomitantemente, não apresentando desta maneira, diferenças significativas que possam ser inferidas como características específicas de cada espécie.

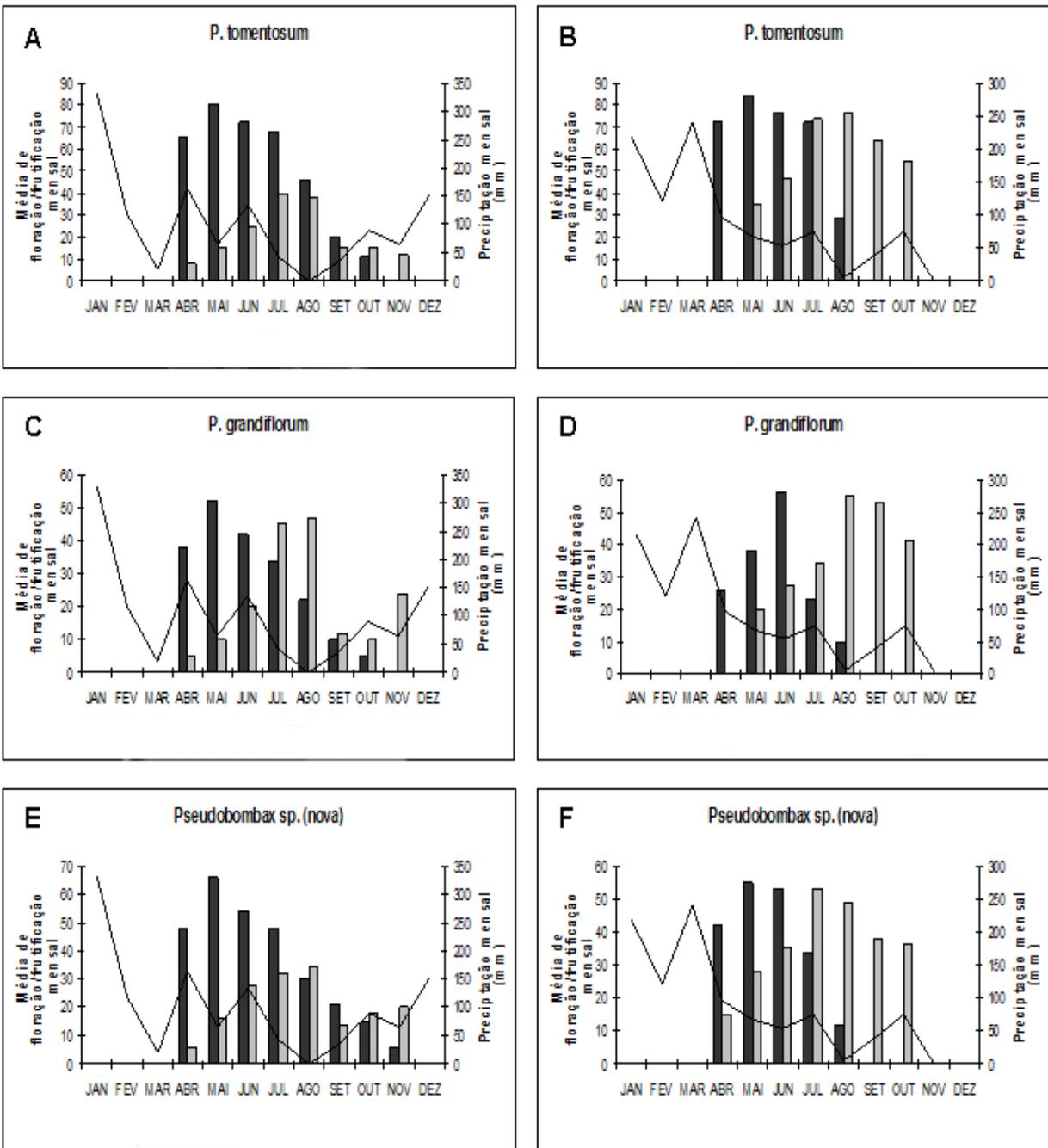


Figura 2. Fenofases de floração e frutificação de três espécies de *Pseudobombax* cultivadas no campus da Unicamp, Campinas, SP, com o número médio de flores e frutos de todos os indivíduos em cada mês. Barras escuras: Floração, barras claras: Frutificação, linha: Precipitação. A, C, E: 2012 e B, D, F: 2013. Dados de pluviosidade fornecidos pelo CEPAGRI/UNICAMP.

3.2 Morfologia e biologia floral

Pseudobombax tomentosum possui porte arbóreo, variando de 3 a 12 m de altura. *Pseudobombax grandiflorum* e *Pseudobombax* sp. (nova) possuem também porte arbóreo, porém atingem alturas menores, variando de 3 a 7 m de altura. Nas três espécies, o tronco é estriado na vertical e as folhas são palmadas. Apresentam vistosos nectários extraflorais circulares e de coloração avermelhada ou púrpura, localizados abaixo do receptáculo floral.

As três espécies apresentaram as características típicas do gênero, como: inflorescências terminais, definidas e pedunculadas, podendo variar de 10 a 15 flores por inflorescência, possuindo flores hermafroditas, actinomorfas, pentâmeras, pétalas carnosas e pilosas, estames numerosos e monadelfos e o estilete é único e central. Apesar da semelhança na morfologia floral das três espécies, há variação no tamanho, coloração e pilosidade dos elementos florais, assim como no fruto (Tabela 1, Figuras 3 e 5).

Em *P. tomentosum*, o cálice apresenta-se muito piloso, a corola também apresenta bastante pilosidade marrom na porção abaxial, enquanto a porção adaxial apresenta pouca pilosidade e de cor branca. *P. grandiflorum* apresenta o cálice glabro, a corola é glabra na parte adaxial e na porção abaxial apresenta pilosidade marrom-escuro. Em *Pseudobombax* sp. (nova), o cálice é glabro, a corola na porção adaxial é glabra e na porção abaxial possui indumento preto.

Tabela 1. Características morfológicas, funcionais e estruturais de flores e frutos de *Pseudobombax* do campus da Unicamp, Campinas, São Paulo.

Características	<i>Pseudobombax</i> sp. (nova)	<i>P. grandiflorum</i>	<i>P. tomentosum</i>
Nº de flores	30	45	60
Cor da flor	Creme	Branco	Branco
Cor do cálice	Verde	Verde/Marrom	Marrom
Pilosidade do cálice	Pouco piloso	Sem pilosidade	Muito piloso
Cor da pétalas	Creme	Branco	Branco
Cor dos estames	Branco	Branco	Creme
Cor da antera	Marrom	Ocre	Marrom
Cor do estilete	Rosado	Rosado	Branco
Longevidade da flor	Até 36 horas	Até 24 horas	Até 36 horas
Superfície/cor do fruto	Quilhado/Verde	Liso/Verde	Liso/marrom
Indumento do fruto	Glabro	Glabro	Piloso

Tabela 2. Resultados de média e desvio padrão dos comprimentos das peças florais de três espécies de *Pseudobombax* do campus da Unicamp, Campinas, São Paulo. Médias com letras iguais não diferem significativamente. (*= $p < 0,001$; **= $p < 0,01$).

	<i>P. tomentosum</i>		<i>P. grandiflorum</i>		<i>Pseudobombax</i> sp. (nova)	
	Média (cm)	Desvio Padrão	Média (cm)	Desvio Padrão	Média (cm)	Desvio Padrão
Comprimento total da flor*	20,61a	0,51	13,33b	0,57	17,78b	0,81
Comprimento da pétala**	15,75a	0,92	12,75b	0,50	12,82b	0,81
Comprimento do ovário**	1,37a	0,13	1,10b	0,01	1,17b	0,27
Comprimento do estilete*	11,30a	0,41	12,75b	1,00	12,35b	1,09
Comprimento do estame*	10,76b	0,43	11,66a	0,57	11,20b	0,68
Comprimento do cálice**	3,04a	0,34	2,56b	1,00	2,60b	0,26



Figura 3. Flores das espécies de *Pseudobombax*; no campo e em comparação com escala, para ilustrar dados morfométricos, respectivamente: A e B: *P. grandiflorum*; C e D: *Pseudobombax* sp. (nova); E e F: *P. tomentosum*.

As flores de *P. tomentosum* (Fig. 3 - E, F) apresentaram o maior comprimento floral, seguidas de *Pseudobombax* sp. (nova) (Fig. 3 – C, D) e *P. grandiflorum* (Fig. 3 – A, B); as duas últimas não diferiram significativamente uma da outra (Figura 4-A) (Tabela 2). O comprimento das pétalas, do ovário e do cálice (Figura 4 – B, C, F) de *P. tomentosum* são significativamente maiores que as demais espécies. *Pseudobombax* sp. (nova) e *P. grandiflorum* não diferiram significativamente entre si para estes caracteres. O comprimento dos estames de *P. grandiflorum* é maior do que os das demais espécies (Figura 4-E). O comprimento do estilete de *P. tomentosum* é significativamente menor e diferente das demais espécies, as quais também não apresentaram diferenças significativas para este caráter (Fig. 4-D) (Tab. 2).

Todas as flores de *Pseudobombax* produzem néctar e possuem antese crepuscular/noturna, por volta das 17-20 h, podendo permanecer funcionais até o dia seguinte. As pétalas abrem-se concomitantemente, de forma sincrônica. A antese inicia-se com a separação das pétalas, evidenciando os numerosos estames. A deiscência das anteras ocorre cerca de uma a duas horas após a antese floral. As flores permanecem abertas por volta de 24 até 36 horas e logo após iniciam o processo de senescência, caracterizado pelo escurecimento da corola e o ressecamento dos estames (Fig. 6 – A, C). O estilete e o cálice são persistentes até a formação e o crescimento do fruto, enquanto as outras peças florais secam e caem (Figura 6-C). O início da formação dos frutos pode ser visualizado cinco a sete dias após a queda das peças florais e seu amadurecimento ocorreu em cerca de 25 dias. Com a abertura do fruto, a paina é exposta ao vento, facilitando a dispersão das sementes.

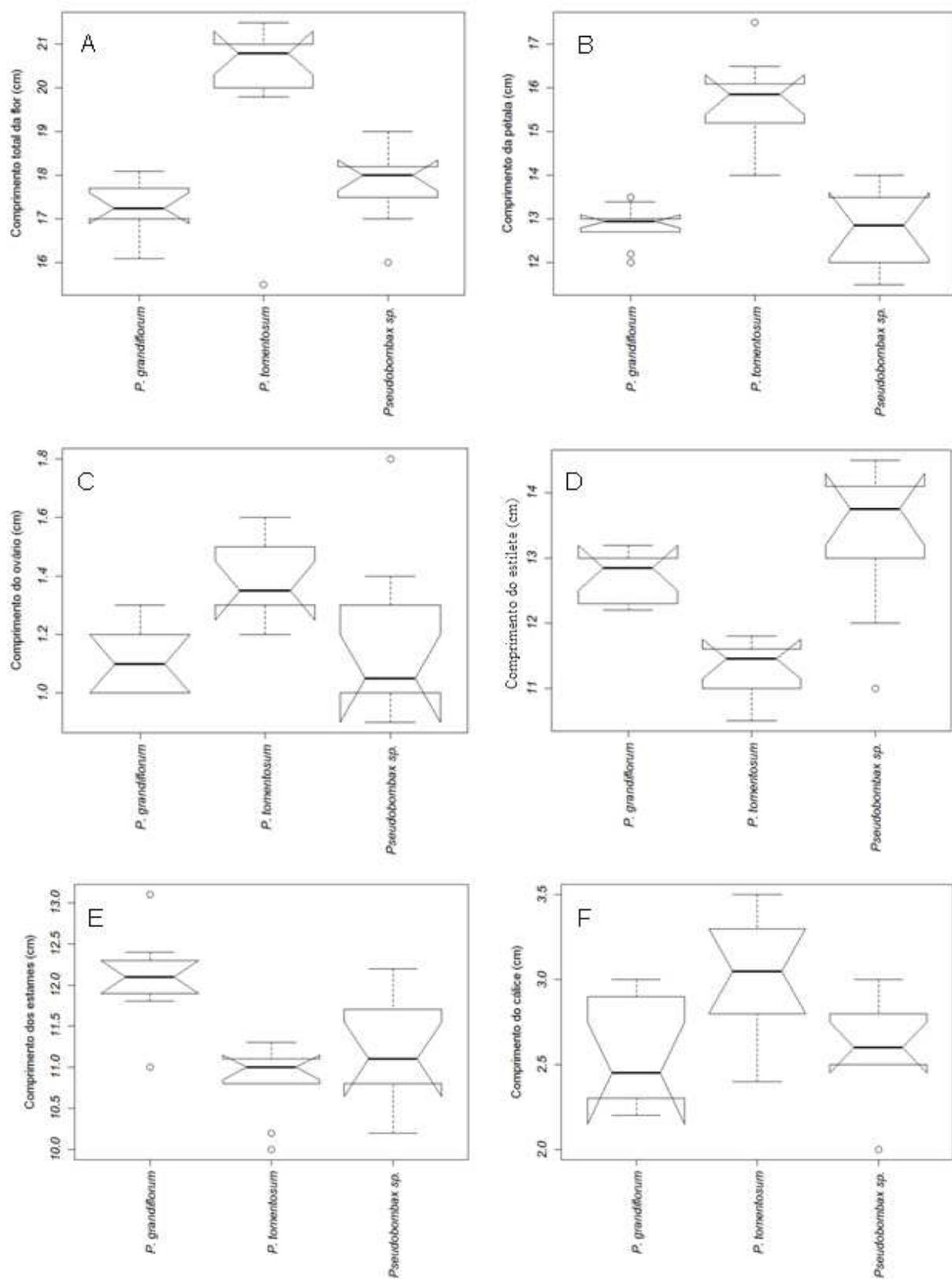


Figura 4. Boxplot para mediana das características morfométricas de flores das espécies de *Pseudobombax* do campus da Unicamp, Campinas, São Paulo, com seus valores de máximo, mínimo e

média. A. Comprimento total. B. Comprimento da pétala. C. Comprimento do ovário. D. Comprimento do



estilete. E. Comprimento dos estames. F. Comprimento do cálice.

Figura 5. Frutos de espécies de *Pseudobombax* do campus da Unicamp, Campinas, São Paulo. A. *P. grandiflorum*. B. *Pseudobombax* sp. (nova). C. *P. tomentosum*.

Os frutos de todas as espécies são do tipo cápsula, com o endocarpo transformado em paina, porém apresentaram formatos diferentes. Em *P. grandiflorum* o fruto apresentou formato alongado, superfície lisa (sem rugosidades ou expansões), glabro (sem indumento), e de coloração verde (Figura 5-A). Em *Pseudobombax* sp. (nova) o fruto também é alongado, glabro e verde, porém é quilhado (com cinco expansões angulares ao longo do comprimento) (Figura 5-B). Em *P. tomentosum* o fruto é obovado, liso e com a presença de indumento de coloração marrom (Figura 5-C).

Os testes de viabilidade de pólen mostraram alta taxa de grãos viáveis (98-100%), tanto pela coloração de carmim acético, quanto pela enzima DAB, sem anormalidades. Os estigmas estão receptivos aos grãos de pólen a partir da antese até

a manhã seguinte, por volta das 9:00 H. Todas as flores apresentaram estigmas receptivos.

3.3 Sistema de reprodução

No tratamento de autopolinização espontânea, em 2012 não houve formação de frutos em *Pseudobombax* sp. (nova) (Fig. 6–A) e em *P. grandiflorum*, havendo frutificação de apenas 3,33% em *P. tomentosum*. Em contrapartida, em 2013 não houve formação de frutos nestas espécies após o referido tratamento (Tabela 3).

O tratamento de autopolinização manual também resultou em baixa porcentagem de frutificação, sendo de 2,5% em *Pseudobombax* sp. (nova) nos dois anos, 6,67% em *P. grandiflorum* em 2012 e 0% no ano seguinte e em *P. tomentosum* não houve formação de frutos para este tratamento em nenhum dos períodos observados (Tabela 3).

Altas porcentagens de formação de frutos foi observada nos tratamentos de polinização cruzada e em condições naturais (controle), variando de 70 a 95% (Tabela 3). Houve, respectivamente, 90 e 80% de frutificação em *Pseudobombax* sp. (nova) em 2012 (Fig. 6 – C) e 95 e 85% em 2013. A porcentagem de frutificação nos tratamentos de polinização cruzada e em condições naturais de *P. tomentosum* foi, respectivamente 96,67 e 90% em 2012 e 83 e 80% em 2013, enquanto para *P. grandiflorum* foi de 90 e 83,33% em 2012 e de 93 e 87% em 2013 (Tabela 3). Os testes de emasculação não resultaram em formação de frutos em nenhuma das espécies estudadas nos dois períodos (Tabela 3).

O índice de autoincompatibilidade (ISI) é muito baixo em todas as espécies (Tabela 3). Em *Pseudobombax* sp. (nova) o ISI foi de apenas (3%) nos dois períodos estudados, enquanto em *P. grandiflorum* foi de 7% em 2012, e no ano seguinte foi nulo. Em *P. tomentosum* o índice foi nulo nos dois anos de estudo. A eficácia reprodutiva (ER) foi alta para todas as espécies nos dois períodos de estudo (2012/2013) sendo de 89/89%, respectivamente, em *Pseudobombax* sp. (nova), 93/96% em *P. tomentosum* e 93/93% em *P. grandiflorum* (Tabela 3).



Figura 6. Resultados dos testes de reprodução. A. Restos florais murchos de *Pseudobombax* sp. (nova) após autopolinização manual, evidenciando o ovário intumescido. B. Peças florais após autopolinização espontânea. C. Frutos em diferentes fases de desenvolvimento, obtidos em condições naturais (notar cálice e estigma persistentes).

Tabela 3. Resultados dos testes de polinização controlada em espécies de *Pseudobombax* do campus da Unicamp, Campinas, São Paulo. Índice de autoincompatibilidade (ISI = % de frutos formados por flores autopolinizadas manualmente/% de frutos formados por flores submetidos à polinização cruzada) e a eficácia reprodutiva (ER = % de frutos formados em condições naturais/% de frutos formados por polinização cruzada). NFP = Número de flores polinizadas; NFO = Número de frutos obtidos; % = Porcentagem de formação de frutos por teste.

	Tratamentos	<i>Pseudobombax</i> sp. (nova)			<i>P. tomentosum</i>			<i>P. grandiflorum</i>		
		NFP	NFO	%	NFP	NFO	%	NFP	NFO	%
2012	Aupolinização espontânea	40	0	0	30	1	3,33	30	0	0
	Autopolinização manual	40	1	2,5	30	0	0	30	2	6,67
	Polinização cruzada	40	36	90	30	29	96,67	30	27	90
	Polinização natural (controle)	40	32	80	30	27	90	30	25	83,33
	Emasculação	10	0	0	10	0	0	10	0	0
	ER			0,89			0,93			0,93
ISI			0,03			0,00			0,07	
2013	Aupolinização espontânea	40	0	0	30	0	0	30	0	0
	Autopolinização manual	40	1	2,5	30	0	0	30	0	0
	Polinização cruzada	40	38	95	30	25	83	30	28	93
	Polinização natural (controle)	40	34	85	30	24	80	30	26	87
	Emasculação	10	0	0	10	0	0	10	0	0
	ER			0,89			0,96			0,93
ISI			0,03			0,00			0,00	

3.4 Análise cariomorfológica

Os números cromossômicos encontrados para as espécies de *Pseudobombax* foram $2n=88$ em *Pseudobombax* sp. (nova), $2n=88$ em *P. tomentosum* e $2n=84$ em *P. grandiflorum*. O bandamento com fluorocromos indicou a presença de seis bandas terminais nos cromossomos, todas CMA⁺/DAPI⁻ (Fig.7- B, D e F, setas). Não foram observadas bandas DAPI⁺ nas espécies estudadas de *Pseudobombax* (Figura 7).

Os dados métricos citogenéticos obtidos apontam para um cariótipo pequeno em *Pseudobombax*. Os cromossomos são pequenos, variando de 0,3 a 2 μm em *P. grandiflorum*, de 0,6 a 2 μm em *Pseudobombax* sp. (nova) e de 0,6 a 3,5 μm em *P. tomentosum* (Tabela 4).

Pseudobombax tomentosum apresentou o maior comprimento do complemento cromossômico (CCC), com média de 114,54 μm , seguida por *Pseudobombax* sp. (nova), com 77,26 μm e por fim *P. grandiflorum*, com média de 52,96 μm (Tabela 4).

Tabela 4. Dados citogenéticos para as espécies de *Pseudobombax* estudadas no campus da Unicamp, Campinas, São Paulo. ($2n$ – número cromossômico somático; CCC- comprimento do complemento cromossômico).

Espécie	$2n$	Número de bandas CMA ⁺ /DAPI ⁻	Variação do comprimento cromossômico	Comprimento cromossômico médio	CCC
<i>Pseudobombax</i> sp.	88	6	0.6 a 2 μm	0,87 μm	77,26 μm
<i>P. grandiflorum</i>	84	6	0,3 a 2 μm	0,62 μm	52,96 μm
<i>P. tomentosum</i>	88	6	0,6 a 3,5 μm	1,29 μm	114,54 μm

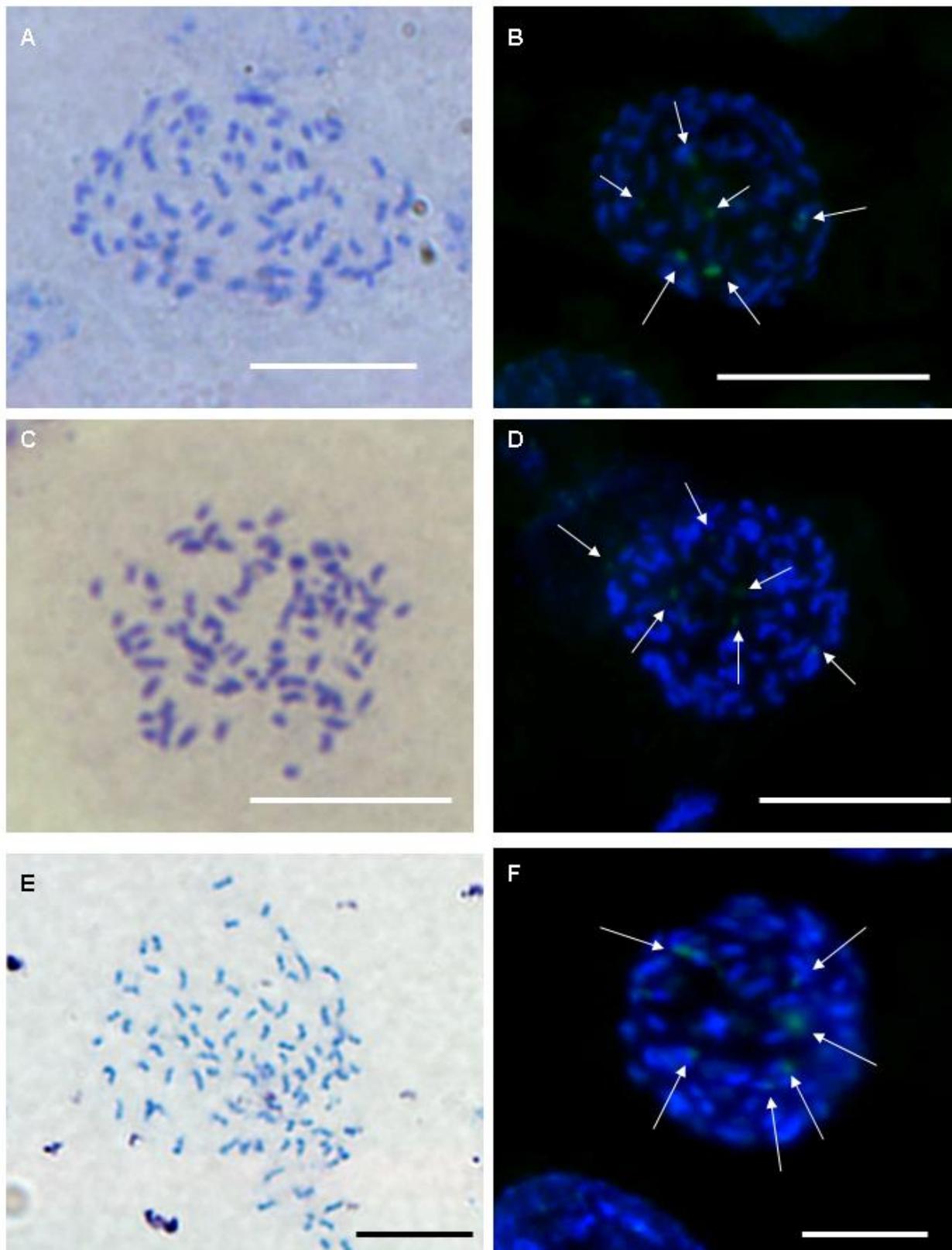


Figura 7. Cromossomos das espécies estudadas de *Pseudobombax* em metáfase mitótica do campus da Unicamp, Campinas, São Paulo. A e B: *Pseudobombax* sp. (nova) ($2n=88$); C e D: *P. grandiflorum* ($2n=84$); E e F: *P. tomentosum* ($2n=88$). A, C, E: coloração com Giemsa, B, D, F – bandamento CMA/DAPI. Setas: bandas CMA⁺. Escalas: 10 µm.

4. DISCUSSÃO

4.1 – Fenologia Reprodutiva

Segundo a classificação de Newstrom *et al.* (1994), o padrão de floração das espécies estudadas é anual, irregular. O início da floração de *P. grandiflorum* em maio, observado no presente estudo, coincidiu com as observações do início da floração para esta mesma espécie de Carvalho (2006) para a Mata Atlântica do estado de São Paulo. Entretanto, o término da floração de *P. grandiflorum* diferiu (outubro no primeiro período e em agosto no segundo) do constatado por Carvalho (2006), o qual mencionou setembro para o término da florada. Portanto, apesar das espécies estudadas estarem em condições de cultivo, como ornamentais, as informações sobre a fenologia são semelhantes as encontradas na literatura, salvo algumas diferenças regionais, visto que as espécies estudadas distribuem-se naturalmente pela região sudeste.

As diferenças pluviométricas mensais não diferiram muito durante os períodos de floração e frutificação das espécies de *Pseudobombax* entre os anos de 2012 e 2013. A maior diferença de pluviosidade ocorreu no mês antecedente (março) ao florescimento das espécies. Provavelmente, a duração do período de floração é dependente de determinadas condições ambientais, como a quantidade de chuva no período que antecede a formação das flores. Segundo Santos & Carlesco (1998) a deficiência hídrica provoca alterações no comportamento e desenvolvimento vegetal. As raízes das plantas aumentam em comprimento até o início da floração, portanto absorvem a maior parte de água antes que haja florescimento; posteriormente há decréscimo no aumento das raízes, causando diminuição na absorção de água (Huber *et al.* apud Pimentel &

Rossielo 1995, Santos & Carlesco 1998). No presente trabalho, esperava-se maior floração no período em que houvesse mais chuva, porém em 2012 a menor precipitação no período pré-floração foi seguida de maior produção de flores e durante um período mais longo, quando comparado a 2013.

As três espécies floresceram concomitantemente na área cultivada. Isto também pode ocorrer em outras espécies de *Pseudobombax* em áreas naturais, como apresentado por Carvalho-Sobrinho (2006), com *P. cacicola*, *P. parvifolium*, *P. minimum* entre outras, no estado da Bahia. De acordo com Janzen (1980), a produção sincronizada de flores de espécies diferentes (florescem ao mesmo tempo), por curto período de tempo, poderia atrair a atenção de polinizadores menos especializados, enquanto as espécies cujo florescimento ocorre de forma assincrônica atrairiam polinizadores mais especializados. Outro fator que pode restringir os visitantes florais é o horário da antese. Como as espécies aqui estudadas florescem no mesmo período, mesmo horário (crepuscular/noturno) e por um período longo, sugerimos que pode haver competição por polinizadores entre elas, porém esta competição não afeta a frutificação das plantas.

Tanto a floração quanto a frutificação das três espécies tiveram seu início no final do período chuvoso (abril/maio), atingindo o pico no período de estiagem, assim como constatado em *P. grandiflorum* por Carvalho (2006) da região de Mata Atlântica do sudeste do país. Por outro lado, no nordeste (principalmente na região semi-árida da Bahia), Carvalho-Sobrinho (2006) observou que o começo da floração e frutificação de algumas espécies, como *P. tomentosum*, *P. cacicola* e *P. minimum*, foi mais tardio (de julho a dezembro), porém estas espécies também apresentaram fenologia reprodutiva de estiagem (Carvalho-Sobrinho & Queiroz, 2010). As diferenças nos períodos de

floração e frutificação se devem justamente a diferenças sazonais e climáticas das diferentes regiões do país.

A floração e a frutificação destas espécies em período de seca são importantes eventos ecossistêmicos relacionados à disponibilidade de recursos. No período de estiagem há menor disponibilidade de recursos para os animais, visto que há poucas plantas florindo. A reprodução das espécies de *Pseudobombax* caracteriza-se por alta disponibilidade de pólen e néctar para seus visitantes, sendo assim uma importante fonte de alimento para estes animais no período de estiagem.

Os frutos das espécies de *Pseudobombax* são secos e anemocóricos (Carvalho-Sobrinho 2006; Carvalho 2006). A maturação de frutos na estação seca e transição seca-chuva aumenta as chances de dispersão e germinação das sementes e do crescimento e estabelecimento de plântulas, quando as sementes são beneficiadas pela umidade e abundância de nutrientes liberados a partir da decomposição de serrapilheira acumulada na estação da seca (Felfili *et al.* 1999). Plantas que vivem em zonas sazonais têm se adaptado para sincronizar a maturação dos frutos e liberação de sementes em épocas mais propícias para a germinação, crescimento e sobrevivência das plântulas (Antunes & Ribeiro 1999, Pirani *et al.* 2009). Isso pode ser constatado também nas espécies de *Pseudobombax* em estudo, que têm maturação de frutos no fim do período de estiagem e início da estação chuvosa.

4.2 - Morfologia e biologia floral

As flores das três espécies são muito semelhantes, porém *P. tomentosum* diferiu significativamente das demais espécies, principalmente por apresentar o maior tamanho da flor, além do ovário, do cálice e das pétalas também serem maiores e haver muito indumento no cálice e no fruto. Carvalho-Sobrinho (2006) apresentou várias informações sobre o indumento das espécies de *Pseudobombax* que permitem diferenciá-las taxonomicamente. De acordo com as características dos tricomas (tamanho, localização na pétala, número de ramos e densidade), Carvalho-Sobrinho (2006), diferenciou algumas espécies, como por exemplo, *P. tomentosum* e *P. marginatum* que apresentam tricomas com comprimentos maiores que os de *P. campestre* e *P. longiflorum*.

Pseudobombax sp. (nova), foi por muito tempo identificada como *P. grandiflorum*, devido às suas semelhanças florais e vegetativas. Essa semelhança foi sustentada por nossas análises morfométricas, que não mostram diferenças significativas entre o tamanho das peças florais das duas espécies, exceto pelo tamanho dos estames, que são significativamente maiores em *P. grandiflorum*. A dificuldade de distinção entre as espécies ocorreu, muitas vezes pela confecção de exsicatas incompletas, apenas com material vegetativo e, contendo poucas flores. Porém, através do presente estudo, reunimos algumas características que podem ajudar na diferenciação destas espécies, sendo a principal característica a forma e cor dos frutos, algumas sutis diferenças florais como tamanho dos estames e, cor do estilete e por diferenças no pecíolo (João Semir, comunicação pessoal), sustentando assim a descrição de uma nova espécie de *Pseudobombax*.

As três espécies de *Pseudobombax* apresentam características que se enquadram na síndrome de quiropterofilia, sendo esta predominante para o gênero (Silva & Pereachi 1995, Peterle *et al.* 2007). A antese crepuscular/noturna, presença de flores bem expostas na copa, flores grandes, claras, androceu em forma de pincel, com numerosos estames, e alta produção de néctar são características que sustentam a síndrome (Faegri & van der Pijl 1996), todas estas características foram observadas nas espécies em estudo de *Pseudobombax*, apoiando assim, a polinização por morcegos das espécies. Antese noturna também foi constatada por Peterle *et al.* (2007) e Silva & Pereachi (1995) em *P. grandiflorum*, assim como por Carvalho-Sobrinho (2006) e Carvalho-Sobrinho & Queiroz (2010) para espécies como *P. calcicola*, *P. tomentosum* e *P. parviflorum*.

No auge de floração das três espécies (abril a junho) há maior disponibilidade de néctar para os visitantes florais. Os morcegos são os visitantes mais relatados para *Pseudobombax* (Peterle *et al.* 2007), associados à antese crepuscular e às características florais que favorecem a síndrome da quiropterofilia (Fischer *et al.* 1992).

4.3 - Sistema de reprodução

O fato dos testes de autopolinização (espontânea e manual) apresentarem resultados nulos ou com baixa porcentagem de frutificação, sugere que as espécies de *Pseudobombax* estudadas são alógamas e que podem apresentar mecanismos de autoincompatibilidade. Estudos complementares, com a observação do crescimento de tubos polínicos no gineceu, após autopolinizações ou polinizações cruzadas, utilizando técnicas de microscopia de fluorescência (Kears & Inouye, 1993), poderão confirmar a ocorrência de autoincompatibilidade e os mecanismos de atuação.

Gribel & Gibbs (2002) observaram altas taxa de fecundação cruzada em *Pseudobombax munguba*, porém não comprovaram a existência de mecanismos de autoincompatibilidade. Martins e Oliveira (2003) verificaram em *Eriotheca gracilipes*, um gênero relacionado, a presença de autoincompatibilidade. Em *Ceiba pentandra*, Gribel *et al.* (1999) observaram o crescimento de tubos polínicos tanto em flores autopolinizadas quanto naquelas submetidas à polinização cruzada, porém apenas nesse último tratamento foram formados frutos com sementes viáveis. Em alguns casos de indivíduos isolados, houve certo grau de autofecundação com formação de frutos, sugerindo assim a ocorrência em níveis muito variáveis de autofertilidade em *Ceiba*. Lobo *et al.* (2013) relataram um nível considerável de autofecundação também para *Ceiba pentandra* em um estudo sobre as taxas e padrões de fluxo de pólen em suas populações, apesar de ser incomum para plantas tropicais. Esses resultados diferem, portanto, dos observados nas espécies de *Pseudobombax*, nas quais a taxa de autofecundação manteve-se muito baixa ou inexistente.

Como observado anteriormente em *P. munguba* (Gribel & Gibbs 2002), a alta taxa de fecundação cruzada para as três espécies em estudo, indica a importância da polinização cruzada, papel executado pelos agentes polinizadores. A maioria das árvores tropicais apresenta elevada taxa de fecundação cruzada e alto nível de autoincompatibilidade (Bawa *et al.* 1985, Hufford & Hamrick 2003, Ward *et al.* 2005). Isso promove altas taxas de fluxo gênico entre as populações, resultando em alta variabilidade genética (Hamrick & Godt 1996, Dick *et al.* 2008).

Conforme apresentado na Tabela 3, o ISI (índice de autoincompatibilidade) é muito baixo, confirmando, portanto a importância da fecundação cruzada nas três espécies estudadas. O alto ER (índice de eficácia reprodutiva) confirma o sucesso reprodutivo das espécies mediante a polinização cruzada e sugere a importância dos visitantes florais para a reprodução das três espécies de *Pseudobombax*.

4.4 - Análise cariotípica

Os dados disponíveis na literatura mostram altos números cromossômicos em Bombacoideae, variando de $2n=72$ até $2n=276$ (Tabela 5). Parece haver constância do número somático $2n=88$ em alguns gêneros, como *Adansonia*, *Guararibea* e *Spirotheca*. Porém diferentes números cromossômicos aparecem inclusive entre espécies do mesmo gênero, como *Eriotheca* ($2n=92$ a 276) ou *Pseudobombax* ($2n=84$ e 88), não sendo possível inferir algum caráter evolutivo para a subfamília ou mesmo para o gênero. Mais análises devem ser feitas, incluindo não só contagem cromossômica, mas também bandamento e hibridação de DNA *in situ* para regiões conservadas, a fim de obter mais dados, para que possa ser feita alguma inferência evolutiva no grupo.

Tabela 5. Números cromossômicos de algumas espécies de Bombacoideae.

Espécie	Número Cromossômico	Referência
<i>Adansonia grandidieri</i>	2n=88	Baum & Oginuma 1994
<i>Adansonia gregorii</i>	2n=88	Baum & Oginuma 1994
<i>Adansonia madagascariensis</i>	2n=88	Baum & Oginuma 1994
<i>Bombacopsis glabra</i>	2n=72	Baker 1960
<i>Bombax ceiba</i>	2n=92	Mehra 1976, Singhal & Gill 1984
<i>Ceiba erianthos</i>	2n=86	Gibbs & Semir 1988
<i>Ceiba glaziovii</i>	2n=86	Gibbs & Semir 1988
<i>Ceiba pentandra</i>	2n=80	Baker & Baker 1968
<i>Eriotheca gracilipes</i>	2n=92	Forni-Martins et al. 1992, 1995
<i>Eriotheca pubescens</i>	2n=270/276	Forni-Martins et al. 1992, 1995, Oliveira et al. 1992
<i>Pachira glabra</i>	2n=72	Baker 1960
<i>Pachira quinata</i>	2n=72	Baker 1960
<i>Pseudobombax septenatum</i>	2n=88	Bawa 1973
<i>Pseudobombax ellipticum</i>	2n=72/88	Baker & Baker 1968
<i>Pseudobombax grandiflorum</i>	2n=84	Neste trabalho
<i>Pseudobombax longiflorum</i>	2n=88	Gibbs et al. 2003, Forni-Martins & Martins 2000
<i>Pseudobombax munguba</i>	2n=84	Morawetz 1986
<i>Pseudobombax sp. (nova)</i>	2n=88	Neste trabalho
<i>Pseudobombax tomentosum</i>	2n=88	Neste trabalho
<i>Quararibea aurantiocalyx</i>	2n=88	Oginuma et al. 1999
<i>Spirotheca rosea</i>	2n=88	Oginuma et al. 1999

Poucos estudos foram relatados até o momento para espécies de *Pseudobombax* (Tabela 5). Os números cromossômicos para as espécies estudadas (2n=88 em *P. tomentosum* e *Pseudobombax sp. (nova)* e 2n=84 em *P. grandiflorum*) são inéditas na literatura. O número cromossômico mais freqüente em *Pseudobombax* é 2n= 88, como em *P. longiflorum* (Mart. & Zucc.) A. Robyns (Gibs et al. 1988, Forni-Martins & Martins 2000, Gibbs & Semir 2003) e *P. septenatum* (Jacquin) Dugand (Bawa 1973). Em *P. ellipticum* (H. B. K.) Dugand foi relatado 2n=72/ca.88 (Baker & Baker 1968) e para *Pseudobombax munguba* (Mart. & Zucc.) Dugand foi constatado 2n=84 (Morawetz 1986).

Carvalho-Sobrinho (2006) definiu o número básico de *Pseudobombax* como $x=36$, provavelmente com base em espécies de outros gêneros de Bombacoideae, como *Pachira* (Baker 1960), que apresentam $2n=72$. Tendo em vista que o número mais frequente em *Pseudobombax* é $2n=88$ (Tabela 5), agora apoiado pelas contagens em *P. tomentosum* e *Pseudobombax* sp. (nova), podemos sugerir como número básico para o gênero $x=44$. Entretanto, o número básico será confirmado quando se dispuser de estudo filogenético para *Pseudobombax*. Outros gêneros de Bombacoideae também apresentam $2n=88$, como *Adansonia*, *Quararibea* e *Spirotheca* (Tabela 5). Portanto, o número básico $x=36$, descrito como característico de *Pseudobombax* por Carvalho-Sobrinho (2006) parece não ser adequado para a caracterização do gênero.

Os dados obtidos, somados aos dados relatados, indicam heterogeneidade de números cromossômicos no gênero, sugerindo que possa ter ocorrido diferenciação cariotípica por algum evento de displóidia. Apesar da maior frequência do número cromossômico somático $2n=88$, a ocorrência de $2n=84$ em *P. grandiflorum* e *P. munguba*, sugere a ocorrência de rearranjos cromossômicos.

Variações numéricas foram associadas a eventos como a displóidia em vários grupos de plantas. Por exemplo, no gênero *Cassia* (Leguminosae), algumas espécies como *C. grandis* L. e *C. javanica* L. apresentam $2n=28$ (Goldblatt 1985, 1988, Goldblatt & Johnson 1996), enquanto outras contagens também foram citadas, como $2n=24$ em *C. fistula* L. (Goldblatt 1985, 1988, Goldblatt & Johnson 1990, 1991, 1994, 1996) e $2n=26$ em *C. fastuosa* Willd.ex Vogel (Souza & Benko-Iseppon 2004). A displóidia é um mecanismo de variação do número cromossômico muito comum nas espécies da tribo Cassieae (Leguminosae), como apresentando por Biondo *et al.* 2005. A displóidia também foi relatada em *Nierembergia* (Solanaceae), sendo caracterizada como um

importante evento evolutivo (Acosta *et al.* 2006). Na família Malvaceae também foram observados eventos de disploidia, como no gênero *Hibiscus* L., o qual Dasgupta & Bhatt (1988), mostraram grande variação numérica para o gênero, sendo por exemplo, $2n=32$ para *Hibiscus ovalifolius* (Forssk.) Vahl, $2n=36$ para *Hibiscus caesius* Garcke, $2n=56$ para *Hibiscus trionum* L., $2n=64$ para *Hibiscus hirtus* L. e $2n=120$ para *Hibiscus mutabilis* L. evidenciando alta variação em um mesmo gênero para a família em estudo.

O número cromossômico de *P. grandiflorum* ($2n=84$) torna-se de fundamental importância taxonômica quando comparado ao de *Pseudobombax* sp. (nova) ($2n=88$), espécies muitas vezes confundidas entre si. Portanto, além das diferentes características morfológicas do fruto, da flor e no tamanho do pecíolo e folíolo (João Semir, comunicação pessoal), os números cromossômicos distintos constituem um caráter taxonômico adicional, sustentando ainda mais a descrição de uma nova espécie de *Pseudobombax*.

Pseudobombax sp. (nova) e *P. grandiflorum* podem ser consideradas simpátricas por apresentarem áreas de sobreposição ao longo da Mata Atlântica. *Pseudobombax* sp. (nova) ocorre naturalmente em restinga enquanto *P. grandiflorum* ocorre naturalmente em florestas ombrófilas densas, mas também podem ocorrer cultivadas como ornamentais. As duas espécies apresentam morfologia floral e fenologia reprodutiva muito semelhante, e até podem competir pelos mesmos polinizadores. Este conjunto de características (área de ocorrência, morfologia, fenologia reprodutiva e polinização) muito similares entre as duas espécies poderia sujeitar as plantas a cruzamentos interespecíficos, criando possíveis híbridos naturais (Widmer *et al.* 2009). O isolamento reprodutivo entre as duas espécies pode ser mantido por vários mecanismos pós-polinização, entre eles por diferenciação nos números cromossômicos

(Wood *et al.* 2008). O diferente número cromossômico entre *P. grandiflorum* ($2n=84$) e *Pseudobombax* sp. (nova) ($2n=88$) pode funcionar como um mecanismo de isolamento reprodutivo interespecífico.

Espécies de Orchidinae (Orchidaceae), que ocorrem simpatricamente no Mediterrâneo, possuem cariótipos variando entre $2n=36$ em *Anacamptis*, *Himantoglossum*, *Serapias* e *Ophrys* e $2n=42$ in *Orchis* e *Neotinea* (Pridgeon *et al.* 1997, D'Emérico 2001). Estes resultados mostram a importância da variação cariotípica como mecanismo de isolamento pós-zigótico em orquídeas, além do papel de polinizadores espécie-específicos (Cozzolino *et al.* 2004).

Houve algumas variações métricas entre as espécies em estudo, sendo encontrado o menor cromossomo em *P. grandiflorum* ($0,3 \mu\text{m}$) e o maior em *P. tomentosum* ($3,5 \mu\text{m}$). As espécies *P. tomentosum* e *Pseudobombax* sp. (nova), com o mesmo número cromossômico ($2n=88$), possuem CCC bem diferente ($114,54$ e $77,26 \mu\text{m}$), retratando as diferenças nos tamanhos de seus cromossomos (Tabela 4), o que sugere a ocorrência de rearranjos cromossômicos, que até podem ocasionar displóidia. Diante do alto número de cromossomos e de seu tamanho reduzido, não foi possível elaborar cariótipos mais detalhados, com a caracterização da morfologia cromossômica.

O bandamento CMA/DAPI é uma ferramenta muito útil para a identificação de processos envolvidos na evolução das espécies, como por exemplo, rearranjos cromossômicos (Moraes *et al.* 2008, Gaeta 2010, Pinto 2013). Os dados inéditos para o gênero mostraram número de bandas conservado em todas as espécies, seis bandas CMA⁺. Pinto (2013) observou algo semelhante em espécies do gênero *Swartzia* (Leguminosae), que apresentou padrão de duas bandas CMA⁺ para todas as espécies. Ao contrário, em outros estudos, como o apresentado por Urdampilleta *et al.* (2013), o

padrão de bandas CMA variou entre as espécies de *Serjania* (Sapindaceae). O padrão de bandas CMA/DAPI parece ser também uma característica conservada nas espécies de *Pseudobombax*.

5. Considerações finais

De acordo com os resultados apresentados no presente trabalho, podemos concluir que as três espécies de *Pseudobombax* estudadas apresentam fenologia reprodutiva no período de seca, sendo uma importante fonte de recursos para seus visitantes nesta época, em que há menor disponibilidade de recursos para os animais. Dessa maneira, as espécies de *Pseudobombax*, que são ricas em pólen e néctar, tornam-se primordiais na manutenção e sobrevivência de vários de seus visitantes, sendo de fundamental importância a conservação das espécies de *Pseudobombax*.

Os dados de morfometria floral mostraram que as flores das três espécies de *Pseudobombax* são muito semelhantes tanto em forma, como em tamanho, porém algumas diferenças puderam ser identificadas. *P. tomentosum* apresentou o maior comprimento floral, além de apresentar indumento no cálice e no fruto, sendo estas importantes características para a separação taxonômica desta espécie. Por outro lado, *P. grandiflorum* e *Pseudobombax* sp. (nova) não apresentaram diferenças florais importantes no tamanho de suas peças florais. Todavia algumas características morfológicas podem distinguir as duas espécies, como por exemplo, o tamanho e a coloração do estilete de *Pseudobombax* sp. (nova), que apresenta estilete significativamente maior e de coloração rósea, quando comparado a *P. grandiflorum*, que possui estilete menor e branco.

A forma e o indumento dos frutos das espécies de *Pseudobombax* são os principais caracteres que separam taxonomicamente as três espécies. Em *P. tomentosum* o fruto é obovado, não apresenta quilhas e possui bastante indumento. *Pseudobombax. grandiflorum* tem fruto alongado, sem presença de quilhas, porém é glabro enquanto *Pseudobombax* sp. (nova) possui fruto alongado, com presença de cinco quilhas e é glabro.

As três espécies de *Pseudobombax* apresentam alogamia em seu sistema reprodutivo, confirmando a importância da fecundação cruzada e do papel de seus respectivos polinizadores.

O diferente número cromossômico mostrou-se muito importante para a separação taxonômica de *P. grandiflorum* e *Pseudobombax* sp. (nova), visto que as duas espécies são geralmente confundidas em estado vegetativo e reprodutivo.

Dados inéditos como, número cromossômico e a descrição de algumas características florais e de frutos, subsidiam a descrição de uma nova espécie no gênero *Pseudobombax*.

6. Referências Bibliográficas

- Alverson WS, Whitlock BA, Nyffeler R, Bayer C, Baum DA (1999) Phylogeny of the core Malvales: evidence from *ndhF* sequence data. *Am J Bot* 86: 1474-1486.
- Baker HG (1960) Apomixis and Polyembryony in *Pachira oleaginea* (Bombacaceae), *Am J Bot* 47: 296-302.
- Baker HG, Baker I (1968) Chromosome number in the Bombacaceae. *Bot Gaz* 129: 294-296.
- Baum DA, Oginuma K (1994) A review of chromosome numbers in Bombacaceae with new counts for *Adansonia*. *Taxon* 43: 11-20.
- Baum DA, Smith SD, Yen A, Alverson WS, Nyffeler R, Whitlock BA, Oldham RL (2004) Phylogenetic relationships of Malvaceae (Bombacoideae and Malvoideae; Malvaceae *sensu lato*) as inferred from plastid DNA sequences. *Am J Bot* 91: 1863-1871.
- Bawa KS, (1973) Chromosome numbers of tree species of a Lowland forest community. *J. Arnold Arbor* 54(4): 422-432.
- Bawa KS, Bullock SH, Perry DR, Coville RE, Grayum MH (1985) Reproductive biology of tropical lowland rain forest trees. II. Pollination systems. *Am J Bot* 72: 346-35
- Bernardos S, Tyteca D, Amich F (2004) Cytotaxonomic study of some taxa of the subtribe *Orchidinae* (Orchidoideae, Orchidaceae) from the Iberian Peninsula. *Israel J of Plant Sci* 52: 161-170.

- Biondo E, Miotto STS, Schifino-Wittmann MT (2005) Chromosome numbers and systematic implications in species of subfamily Caesalpinioideae (Leguminosae) from the Southern region of Brazil. *Rev Bras Bot* 28: 797-808.
- Carvalho PER (2006) *Espécies arbóreas brasileiras*. Brasília, DF: Embrapa Informação Tecnológica; Colombo: Embrapa Florestas.
- Carvalho-Sobrinho JG (2006) O gênero *Pseudobombax* Dugand (Malvaceae s.l., Bombacoideae) no Estado da Bahia, Brasil. Dissertação de mestrado. Universidade Estadual de Feira de Santana. Feira de Santana, Bahia, Brasil .
- Carvalho-Sobrinho JG, Queiroz LP (2010) Three new species of *Pseudobombax* (Malvaceae, Bombacoideae) from Brazil. *Novon* 20: 13-20.
- Carvalho-Sobrinho JG, Queiroz LP (2011) Morphological cladistic analysis of *Pseudobombax* Dugand (Malvaceae, Bombacoideae) and allied genera. *Rev Bras Bot* 34: 197-209.
- Cepagri - Centro de Pesquisas Meteorológicas e Climáticas aplicadas a Agricultura. Universidade Estadual de Campinas.
- Cozzolino S, D'Emerico S, Widmer A (2004) Evidence for reproductive isolate selection in Mediterranean orchids: karyotype differences compensate for the lack of pollinator specificity. *Proc R Soc B* 271: 259-262.
- Dasgupta A, Bhatt RP (1981) Citotaxonomy of Malvaceae II. Chromosome number and karyotype analysis of *Thespesia*, *Hibiscus*, *Pavonia* and *Malachra*. *Cytologia* (46): 149-160.
- D'Emerico, S. (2001) Tribe Orchideae cytogenetics. In *Genera Orchidacearum*. 1. Orchidoideae, vol. 2: 216–224.

- Dahmer N, Simon MF, Schifino-Wittmann MT, Hughes CE, Miotto STS, Giuliani JC (2011) Chromosome numbers in the genus *Mimosa* L.: cytotaxonomic and evolutionary implications. *Plant Syst Evol* 291: 211-220.
- Dick CW, Hardy OJ, Jones FA, Petit RJ (2008) Spatial scales of pollen and seed-mediated gene flow in tropical rain forest trees. *Trop Plant Biol* 1: 20-33.
- Faegri K, Van der Pijl L (1976) The principles of pollination ecology. 2.ed. Oxford: Pergamon Press.
- Fernández-Alonso JL (2001) Bombacaceae neotropicae novae vel minuscognitae 5. Novedades en *Pseudobombax Dugand* y sinopsis de las especies Colombianas. *Revista Acad Colomb Ci Exact* 25: 467-476.
- Fischer EA, Jimenez FA, Sazima M (1992) Polinização por morcegos em duas espécies de Bombacaceae na Estação Ecológica de Juréia, São Paulo. *Rev Bras Bot* 15: 67-72.
- Forni-Martins ER, Maglio CAF, Cruz ND (1995) Chromosome numbers in Brazilian cerrado plants. *Brazil J Genetics* 18: 281-288.
- Forni-Martins ER, Martins FR (2000) Chromosome studies on Brazilian cerrado plants. *Genet Mol Biol* 23: 947-955.
- Forni-Martins ER, Pinto-Maglio CAF, Cruz ND (1992) Biologia da reprodução em plantas de cerrado. *Anais do VIII Congresso da Sociedade Botânica de São Paulo*, pp. 77-82
- Gaeta RT, Pires JC (2010) Homoeologous recombination in allopolyploids: the polyploid ratchet. *New Phytol* 186: 18-28.

- Gibbs PE, Semir J (2003) A Taxonomic Revision of the Genus *Ceiba*. *Anales Jard Bot Madrid* 60: 264.
- Gibbs PE, Semir J, Cruz ND (1988) A proposal to unite the genera *Chorisia* Kunth and *Ceiba* Miller (Bombacaceae). *Notes Roy Bot Gard Edinburgh* 45: 125-136.
- Goldblatt P (1985) Index to plant chromosome numbers 1982-1983. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden* 13:1-224.
- Goldblatt P (1988) Index to plant chromosome numbers 1984-1985. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden* 23:1-264.
- Goldblatt P, Johnson DE (1990) Index to plant chromosome numbers 1986-1987. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden* 30:1-243.
- Goldblatt P, Johnson DE (1991). Index to plant chromosome numbers 1988-1989. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden* 40:1-238.
- Goldblatt P, Johnson DE (1994) Index to plant chromosome numbers 1990-1991. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden* 51:1-267.
- Goldblatt P, Johnson DE (1996) Index to plant chromosome numbers 1992-1993. *Monographs in Systematic Botany from the Missouri Botanical Garden* 58:1-276.
- Greilhuber J, Dolezel J, Lysak M, Bennett MD (2005) The origin, evolution and proposed stabilization of the terms 'genome size' and 'C-value' to describe nuclear DNA contents. *Ann Bot* 95: 255-260.

- Gribel R, Gibbs PE (2002) High outbreeding as a consequence of selfed ovule mortality and single vector bat pollination in the Amazonian tree *Pseudobombax munguba* (Bombacaceae). *Int J Plant Sci* 163: 1035-1043.
- Gribel R, Gibbs PE, Queiróz AL (1999) Flowering phenology and pollination biology of *Ceiba pentandra* (Bombacaceae) in Central Amazonia. *J Trop Ecol* 15:247-263.
- Guerra M (1980) Introdução à citogenética Geral. Editora Guanabara, Rio de Janeiro. 142pp.
- Hamrick JL, Godt MJW (1996) Effects of life history traits on genetic diversity in plant species. *Proc R Soc B Biol Sci* 351: 1291-1298.
- Hufford KM, Hamrick JL (2003) Viability selection at three early life stages of the tropical tree, *Platypodium elegans* (Fabaceae, Papilionoideae). *Evolution* 57: 518-526.
- IPNI – The International Plant Names Index – 2010. *Pseudobombax*. <http://www.ipni.org> (acesso em 27/08/2010).
- Janzen DH (1980) *Ecologia vegetal nos trópicos*. EPU, Ed. USP, São Paulo.
- Kearns CA, Inouye D (1993) *Techniques for pollinations biologists*. Niwot. Colorado: University press of Colorado. 579p.
- Köppen W, (1948) *Climatologia: con un estudio de los climas de la tierra*. Fondo de Cultura Econômica. México. 479p.
- Lobo J, Solís S, Fuchs EJ, Quesada M (2013) Individual and Temporal Variation in Outcrossing Rates and Pollen Flow Patterns in *Ceiba pentandra* (Malvaceae: Bombacoidea). *Biotropica* 45: 185–194.

- Lorenzi H (2002a) Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. vol.1. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum: 4º ed. 384p.
- Lorenzi H (2002b) Árvores brasileiras: manual de identificação e cultivo de plantas arbóreas do Brasil. vol. 2. Nova Odessa, SP: Instituto Plantarum 2º ed. 384p.
- Martins RL, Oliveira PE (2003) RAPD Evidence for Apomixis and Clonal Populations in *Eriotheca* (Bombacaceae). Plant Biol 5: 338-340.
- Mehra PN (1976) Cytology of Himalayan Hardwoods. Sree Saraswaty Press, Calcutta.
- Moraes AP, Mirkov TE, Guerra M (2008) Mapping the chromosomes of *Poncirus trifoliata* Raf. by BAC-FISH. Cytogenet Genome Res 121: 277-281.
- Moraes AP, Soares Filho WS, Guerra M (2007) Karyotype diversity and the origin of grapefruit. Chromosome Res 15: 115-121.
- Mussury RM, Fernandes WD (2000) Studies of the floral biology and reproductive system of *Brassica napus* (Crucifera). Arq Biol Tecnol 3: 111-117.
- Newstrom LE, Frankie GW, Baker HG (1994) A new classification for plant phenology based in flowering patterns in lowland tropical rain forest trees at La Selva, Costa Rica. Biotropica 26(2):141-159.
- Oginuma K, Alverson WS, Baum DA (1999) A cytological study of three genera of neotropical Bombacaceae (clades Bombacoideae and Malvoideae). Acta Phytotax Geobot 50: 173-178.
- Oliveira PE, Gibbs PE, Barbosa AA, Talavera S (1992) Contrasting breeding systems in two *Eriotheca* (Bombacaceae) species of the Brazilian cerrado. PI Syst Evol 179: 207-219.

- Peterle PL, Galvêas AB, Thomaz LD (2007) Biologia floral e polinização de *Pseudobombax grandiflorum* (Cav.) A. Rob. (Bombacaceae) na região de Barra do Jucu – Vila Velha – ES. Anais do VIII Congresso de Ecologia do Brasil, Caxambu – MG.
- Pimentel C, Rossiello ROP (1995) Entendimento sobre relações hídricas. In: Simpósio Internacional sobre estresse ambiental: o milho em perspectiva, Belo Horizonte, MG. Anais. EMBRAPA/CNPMS 1: 131-146.
- Pinto RB (2013) Estudos citogenéticos e taxonômicos em *Swartzia* Schreb. (Leguminosae-Papilionoideae). Dissertação de Mestrado, Campinas, São Paulo, Brasil.
- Pirani FR, Sanchez M, Pedroni F (2009) Fenologia de uma comunidade arbórea em cerrado sentido restrito, Barra do Garças, MT, Brasil. Acta Bot Bras 23:1096-1109.
- Pridgeon AM, Bateman RM, Cox AV, Hapeman JR, Chase MW (1997) Phylogenetic of subtribe *Orchidineae* (Orchidoideae, Orchidaceae) based on nuclear ITS sequences 1. Intergeneric relationships and pplyphyly of *Orchis* sensu lato. Lyndleana, 12: 89-109.
- Robyns A (1963) Essai de Monographie du genre *Bombax* L. s.l. (Bombacaceae). Bull. Jard Bot État Bruxelles 33:1-315.
- Santos RF, Carlesco R (1998) Déficit hídrico e os processos morfológico e fisiológico das plantas. Rev Bras Eng Agr Amb 2:287-294.

- Silva SSP, Pereacchi AL (1995) Observação da visita de morcegos (Chiroptera) às flores de *Pseudobombax grandiflorum* (Cav.) A. Robyns. Revta bras Zoo 12: 859-865.
- Singhal VK, Gill BS (1984) SOCGI plant chromosome number reports – II J Cytol Genet 19: 115-117.
- Sobrevila C, Arroyo MTK (1982) Breeding systems in a montane tropical cloud forest in Venezuela. Plant Syst Evol 140:19-37.
- Souza MGC, Benko-Iseppon AM (2004) Cytogenetics and chromosome banding patterns in Caesalpinioideae and Papilionoideae species of Pará, Amazonas, Brazil. Bot J Lin Soc 144: 181-191.
- Stace CA (1989) Plant Taxonomy and Biosistematics. 2 edition. Cambridge University Press, New York. 264pp
- Urdampilleta JD, Ferrucci MS, Vanzela ALL (2013) Cytogenetic studies in South American species of *Serjania* (Sapindaceae: Paullinieae). Plant Biosys 146: 835-846.
- Widmer A, Lexer C, Cozzolino S (2009) Evolution of reproductive isolation in plants. Heredity 102: 31-38.
- Wood ET, Takebayashi N, Barker MS, Mayrose I, Greenspoon PB, Rieseberg LH (2009) The frequency of polyploid speciation in vascular plants PNAS 2009 106: 13875-13879