

Universidade Federal do Rio de Janeiro

PALINOTAXONOMIA DOS GÊNEROS NEOTROPICAIS
DE PODOSTEMACEAE

Elysiane de Barros Marinho

2013



UFRJ

PALINOTAXONOMIA DOS GÊNEROS NEOTROPICAIS
DE PODOSTEMACEAE

Elysiane de Barros Marinho

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica), Museu Nacional, da Universidade Federal do Rio de Janeiro, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Botânica).

Orientadores: Vania Gonçalves Lourenço Esteves

Cláudia Petean Bove

Rio de Janeiro
Fevereiro de 2013

PALINOTAXONOMIA DOS GÊNEROS NEOTROPICAIS
DE PODOSTEMACEAE

Elysiane de Barros Marinho

Prof^ª. Dra. Vania Gonçalves Lourenço Esteves
Prof^ª. Dra. Cláudia Petean Bove

Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica), Museu Nacional, da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Botânica).

Aprovada por:

Presidente, Prof^ª. Dra Claudia Barbieri Ferreira Mendonça

Prof. Dr. Francisco de Assis Ribeiro dos Santos

Prof^ª. Dra Bárbara de Sá Haiad

Prof^ª. Dra Lana da Silva Sylvestre

Rio de Janeiro
Fevereiro de 2013

FICHA CATALOGRÁFICA

Marinho, Elysiane de Barros.

Palinotaxonomia dos gêneros neotropicais de Podostemaceae/
Elysiane de Barros Marinho. - Rio de Janeiro: UFRJ/ Museu
Nacional, 2012.

xi, 112f.: il.; 31 cm.

Orientadores: Gonçalves-Esteves, Vania e Bove, Cláudia Petean
Dissertação (mestrado) – UFRJ/ Museu Nacional/ Programa de
Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica), 2012.

Referências Bibliográficas: f. 75-79.

1. Palinotaxonomia. 2. Gêneros neotropicais. 3. Podostemaceae.
I. Esteves, Vania Gonçalves Lourenço e Bove, Cláudia Petean. II.
Universidade Federal do Rio de Janeiro, Museu Nacional, Programa
de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica). III.
Palinotaxonomia dos gêneros neotropicais de Podostemaceae.

DEDICATÓRIA

Aos meus grandes amores, Alice e Júlio, pela companhia e compreensão. Amo vocês!

AGRADECIMENTOS

" Em um grão de pólen está a metade das informações necessárias para formar uma nova planta. Essa somente será formada se um grão de pólen encontrar a outra metade correspondente e germinar. Isso quer dizer que um grão de pólen sozinho, apesar de ser capaz de ir para muito longe de sua origem, só cumpre seu papel se houver a participação da outra parte."

Reinaldo Bozelli

A Deus, agradeço a minha vida e pela trajetória que a mim concedeu, muitas vezes difíceis, sinto-me por Ele amparada. E, a toda outra parte, com a qual inicio meus agradecimentos, pela participação em mais uma etapa da minha vida acadêmica.

À minha querida orientadora Prof^a Vânia Gonçalves Lourenço Esteves por ter acreditado em meu potencial e me acolhido desde a iniciação científica, permitindo que eu fizesse parte da família do laboratório de Palinologia do Museu Nacional. Agradeço pela orientação acadêmica e pessoal, pelas belíssimas pranchas e tabelas que aprendi a construir com o toque de perfeccionismo. Obrigada pelos puxões de orelhas e pelas broncas que muitas vezes me fizeram parar, refletir e reorganizar o rumo da minha trajetória. Muito obrigada pelas palavras de apoio e carinho das horas felizes e principalmente nas horas mais difíceis.

À minha orientadora Prof^a Claudia Petean Bove por ter me apresentado o belíssimo mundo das plantas aquáticas. Agradeço pelo carinho e por suas ricas contribuições para concretização de mais uma etapa.

Aos amigos do Laboratório de Palinologia, agradeço a todos pelas boas gargalhadas que demos. Isso fez com que esta caminhada se tornasse cada vez mais gratificante. Obrigada pela companhia nos eventos, nas tardes de acetólises sem fim, nos dias de muito calor e de muito frio controlados pelo nosso ar condicionado! Desejo que a cumplicidade de todos vocês continue tão farta quanto o nosso pote de biscoito. Agradeço também os miojos doados e a companhia e amizade, obrigada Aninha, Danielle, Fernanda, Hian, Jéssica, Juliana, Mário, Priscilla, Raquel, Simone, Vanessa, Wellerson e à Gabrielle pela ajuda com o design gráfico.

À Prof^a Claudia Barbieri, pela amizade e pela sua participação no meu amadurecimento profissional.

À mineirinha linda, Ana Carolina Mezzonato, por ter compartilhado os altos e baixos desses dois anos de mestrado. Pelas horas de estudo, pelas horas de conversa jogada fora, por ter acreditado que pensando juntas conseguiríamos um dia interpretar o gráfico bidimensional. Agradeço também a sua mãe pelas deliciosas pizzas, que nos alimentou entre uma disciplina e outra e enquanto corríamos do Museu Nacional ao Jardim botânico.

Agradeço a todos os meus professores, da educação básica ao ensino superior, que direta ou indiretamente contribuíram para a minha formação, e que os questionamentos provocados me levaram às inquietações na construção do saber científico. Obrigada a todos pelas sábias palavras.

Aos professores da banca examinadora por aceitarem participar da avaliação deste trabalho. Em especial à prof^a Lana Sylvestre, pelas riquíssimas sugestões desde a seleção do projeto até a versão final. Muito obrigada por acompanhar este processo sempre disposta a contribuir cada vez mais.

Ao meu grande amor e amigo, Júlio Vianna Barbosa pelo companheirismo, cumplicidade e aprendizado que conquistamos hoje, juntos! Muito obrigada pelo seu amor, pelo incentivo e suporte para que eu continue a crescer cada vez mais como profissional e como pessoa. Por entender as minhas noites em claro para construir esta dissertação, por fazer o possível para que tudo ocorresse da melhor maneira para que ao final comemorássemos mais uma vitória. Obrigada por manter a união da nossa família, e por ter preenchido os momentos de atenção necessários à nossa filha, principalmente quando estive ausente. O retorno disso tudo é muito mais gratificante com você ao meu lado. Eu te amo muito!

Aos meus amigos Carla, Ivete, Paulo e Wellington que me aconselharam nos meus momentos de fraqueza e me fizeram sorrir quando eu mais precisei. Obrigada por vocês acreditarem que sou capaz. Acredito que Deus pôs cada um de vocês em meu caminho como anjos para tornar mais leve a minha caminhada. Muito obrigada!

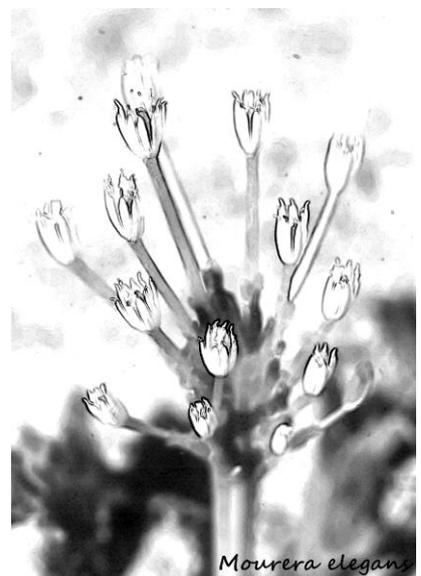
Ao CNPq pela bolsa concedida para a realização desse trabalho.

Aos meus alunos e aos colegas professores do Curso Supremo que me deram todo o suporte durante essa trajetória e por entenderem a minha ausência pela busca de conquistar mais um sonho. À Cida Guarieiro pela amizade e por acreditar no meu potencial. Muito obrigada!

Aos meus pais e irmãos pelo carinho e apoio. E a todos aqueles que participaram como a outra parte para a germinação da minha vida profissional, muito obrigada.

É na sutileza dos detalhes que consigo admirar as diferenças. E, cada vez mais fico deslumbrada com a sua tímida beleza. Esta que só é revelada aos que permite encharcar-se das emoções contidas no amor à profissão.

Elysiane Marinho



Mourera elegans

RESUMO

PALINOTAXONOMIA DOS GÊNEROS NEOTROPICAIS DE PODOSTEMACEAE

Elysiane de Barros Marinho

Orientadores: Vania Gonçalves Lourenço Esteves
Cláudia Petean Bove

Resumo da Dissertação de Mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológica (Botânica), Museu Nacional da Universidade Federal do Rio de Janeiro - UFRJ, como parte dos requisitos necessários à obtenção do título de Mestre em Ciências Biológicas (Botânica).

Podostemaceae é a maior família de angiospermas estritamente aquática. Estudos filogenéticos realizados com dados moleculares e morfológicos tem proposto uma nova topologia que abrange os representantes neotropicais. Estudos palinológicos apesar de pontuais e esparsos tem mostrado que os grãos de pólen são ferramentas úteis para a taxonomia da família. No presente trabalho é estudada a diversidade da estrutura do pólen em gêneros neotropicais de Podostemaceae. A palinologia foi utilizada para traçar a evolução de pólen. Os grãos de pólen foram obtidos a partir de anteras férteis de botões e flores depositadas nos herbários do Nacional e Internacional, e acetolizados. Foram examinados através de microscopia luz e eletrônica de varredura (ML e MEV, respectivamente). Utilizou-se o programa Past versão 2.16 para análise multivariada, e o traçado evolutivo foi utilizado o programa Mesquite. Os resultados mostraram que os grãos de pólen são dispersos como mônades, díades e tétrades, pequenos a médios, isopolares ou apolares, tricolpados, tricolporados, pantoporado ou nomocolpados. Sexina espinulada, com ornamentação granular e/ou perfurada, ou rugulada. A análise de principais componentes dos dados quantitativos (PCA), e o agrupamento hierárquico aglomerativo (AHC) de características palinológicas suporta a divisão das subfamílias. A morfologia polínica refletiu a filogenia proposta. Mas, é necessária a combinação dos caracteres palinológicos para diferenciar os gêneros, não sendo possível o mesmo para separar as espécies. A inclusão de *Cipoia*, e das espécies *Macarenia clavigera* e *Marathrum capillaceum* no clado Podostemoideae é totalmente suportado pela morfologia polínica. A evolução dos caracteres mostrou que o tamanho pequeno dos grãos de pólen é uma sinapomorfia de Podostemaceae. As díades surgiram na base de Podostemoideae e no clado paleotropical.

Palavras-chave: palinologia, reófitas, evolução, plantas aquáticas.

Rio de Janeiro
Fevereiro 2013

ABSTRACT

PALYNOTAXONOMY OF NEOTROPICAL GENERA OF PODOSTEMACEAE

Elysiane de Barros Marinho

Orientadores: Vania Gonçalves Lourenço Esteves
Cláudia Petean Bove

Abstract of Dissertation submitted to Master Degree Program in Biological Sciences (Botany), National Museum of the Federal University of Rio de Janeiro - UFRJ, as requirements necessary to obtaining a Master's Degree in Biological Sciences (Botany).

The Podostemaceae the largest family of strictly aquatic angiosperms. Phylogenetic studies with molecular and morphological data has proposed a new topology that includes the neotropical representatives. Palynological studies although occasional and sparse has shown that pollen grains are useful tools for taxonomy of the family. In the present research is studied the diversity of pollen structure in genera neotropical of Podostemaceae. The palynology was used to make up pollen evolution. Pollen grains were obtained from anthers of flower buds from specimens deposited in the herbaria of the National and International, and were prepared by acetolysis. It were examined using light and scanning electron microscopy (LM and SEM, respectively). We used the program Past version 2.16 for multivariate analysis, and evolution was mapped using the program Mesquite. The results showed that pollen grains were shed as monads, dyads and tetrads, small to medium, isopolar or apolar, tricolpate, tricolporate, pantoporate, nomocolpate. Sexine spinulate, with granular sculpture and/or perforate, or rugulate. The principal component analysis (PCA) of quantitative data, agglomerative hierarchical clustering (AHC) of palynological features does support a division of subfamilies. Pollen morphology that might reflected the proposal phylogeny. But is necessary the combination palynological characters to separated of genera but not specimens. The inclusion of the genus *Cipoia*, and species *Macarenia clavigera* and *Marathrum capillaceum* in the clade Podostemoideae is fully supported by pollen morphology. The characters evolution showed that the size small pollen grain is a synapomorphy of the Podostemaceae. Dyads emerge of the basal in the Podostemoideae and paleotropical clade.

Kew-words: palynology, rheophyte, evolution, aquatic plants.

Rio de Janeiro
Fevereiro 2013

SUMÁRIO

Ficha catalográfica.....	vi
Resumo.....	ix
Abstract.....	x
1. INTRODUÇÃO.....	1
1.1. Histórico Palinológico.....	3
2. MATERIAL E MÉTODOS.....	10
2.1. Escolha dos táxons.....	10
2.2. Terminologia.....	11
2.3. Microscopia de luz (ML).....	11
2.4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV).....	11
2.5. Mensuração dos grãos de pólen.....	12
2.6. Análise multivariada.....	13
2.7. Evolução polínica de Podostemaceae.....	14
3. RESULTADOS.....	15
3.1. Morfologia polínica de gêneros de Podostemaceae.....	15
3.1.1. <i>Apinagia</i> Tul.....	15
3.1.2 <i>Autana</i> C.T. Philbrick.....	16
3.1.3 <i>Ceratolacis</i> Wedd.....	16
3.1.4 <i>Cipoia</i> C.T. Philbrick, Novelo & Irgang.....	17
3.1.5 <i>Diamantina</i> C.T. Philbrick & Irgang.....	17
3.1.6 <i>Jenmaniella</i> Engl.....	18
3.1.7 <i>Lophogyne</i> Tul.....	19
3.1.8 <i>Macarenia</i> P. Royen	19
3.1.9 <i>Marathrum</i> Bonpl.....	20
3.1.10 <i>Monostylis</i> Tul.....	21
3.1.11 <i>Mourera</i> . Aubl.....	21
3.1.12 <i>Noveloa</i> C.T. Philbrick	22
3.1.13 <i>Oserya</i> Tul & Wedd.....	22
3.1.14 <i>Podostemum</i> Benth & Hook F.....	23
3.1.15 <i>Rhyncholacis</i> Tul.....	24
3.1.16 <i>Tristicha</i> Thouars.....	24
3.1.17 <i>Weddellina</i> Tul.....	25
3.2. Morfologia polínica de gênero de Hypericaceae.....	25
3.2.1. <i>Hypericum</i> L.....	25
3.3. Análise multivariada.....	46
3.4. Evolução polínica dos gêneros neotropicais de Podostemaceae.....	51

4. DISCUSSÃO.....	64
4.1. Morfologia polínica e aspectos filogenéticos.....	64
4.2. Evolução polínica dos gêneros neotropicais de Podostemaceae.....	69
4.2.1 Tamanho.....	69
4.2.2 Aberturas e costa.....	70
4.2.3. Área Polar (IAP) e âmbito.....	71
4.2.4 Ornamentação e margem.....	71
4.2.5 Polaridade e Unidade de dispersão.....	72
5. CONCLUSÃO.....	73
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	75
ANEXO 1 Filogenia de Tippery et al.(2011).....	80
ANEXO 2 Filogenia de Ruhfel et al.(2011).....	81
ANEXO 3 Filogenia de Koi et al. (2011).....	82
ANEXO 4 Listagem de material examinado.....	83
ANEXO 5 Pollen morphology of <i>Podostemum</i> : the type genus of Podostemaceae.....	90

1. INTRODUÇÃO

Podostemaceae Rich. ex Kunth é a maior família de Angiosperma estritamente aquática. Possui três subfamílias (Tristichoideae, Weddellinoideae e Podostemoideae) e distribuição essencialmente pantropical, incluindo cerca de 50 gêneros (diversos monotípicos) e aproximadamente 300 espécies. Está bem representada na região Neotropical por todas as subfamílias, com cerca de 20 gêneros e 150 espécies (Bove & Philbrick, 2010).

Historicamente, a família foi alocada na ordem monotípica Podostemales por Engler (1964), Takhtajan (1969) e Cronquist (1988). Na primeira versão de classificação das angiospermas do Angiosperm Phylogeny Group (APG, 1998), a família ficou em posicionamento incerto. Na segunda versão (APG II 2003), Podostemaceae foi incluída na ordem Malpighiales, relacionada com Clusiaceae e Bonnetiaceae. Na versão mais recente (APG III, 2009), a família foi considerada como possuindo uma relação estreita com Hypericaceae (anteriormente parte de Clusiaceae).

O estudo filogenético de Podostemaceae neotropical foi realizado por Tippery *et al.* (2011a), utilizando dados moleculares e morfológicos. A fim de avaliar o monofilismo dos gêneros e suas relações filogenéticas, este estudo, com uma amostragem de 38 táxons e 15 gêneros, realizaram mudanças nomenclaturais e revelou que os amplos gêneros como *Apinagia* Tul. e *Marathrum* Bonpl., não são monofiléticos; alguns gêneros, no entanto, foram sinonimizados, enquanto outros foram criados.

Para a ordem Malpighiales, Ruhfel *et al.* (2011), utilizando dados moleculares, realizaram um estudo filogenético do clado das clusióides (Bonnetiaceae, Calophyllaceae, Clusiaceae *s.s.*, Hypericaceae e Podostemaceae). Dos gêneros de Podostemaceae analisados, os resultados mostraram o posicionamento de *Diamantina* Novelo, C.T. Philbrick & Irgang como grupo irmão das demais Podostemoideae. Os gêneros restantes de Podostemoideae são divididos em dois clados, um com representantes exclusivamente neotropicais e outro com representantes essencialmente paleotropicias. Os gêneros neotropicais *Ceratolacis* Wedd. e *Podostemum* Michx. são uma exceção por estarem alocados no clado do Velho Mundo. Na mais recente análise filogenética molecular de Podostemaceae (Koi *et al.* 2012), apesar da inclusão de diversos táxons e genes, a topologia apresentada nos trabalhos anteriores se manteve estável.

Com relação à distribuição geográfica das espécies, a família é amplamente reportada por possuir espécies com alto grau de endemismo local. Segundo Philbrick *et al.* (2010), o Brasil, a Guiana e o Suriname são os países neotropicais mais ricos em espécies. Desses países, o Brasil é o que apresenta a maior diversidade e endemismo.

As espécies de Podostemaceae são ervas aquáticas, anuais ou perenes, que vegetam submersas em corredeiras e cachoeiras. Às vezes assemelham-se a líquens, briófitas ou algas. Fixam-se em substrato sólido como rochas e troncos por meio de hápteras, estruturas especializadas de fixação e as raízes são geralmente fotossintetizantes, rastejantes ou parcialmente flutuantes, filiformes ou incrustantes (Cook & Rutishauser, 2007).

Segundo Tippery *et al.* (2011), a dificuldade na classificação de Podostemaceae pode estar relacionada à difícil interpretação do desenvolvimento das estruturas vegetativas. Florescem e frutificam apenas na época de seca, quando ficam expostas devido ao nível de água mais baixo dos rios. Por esse tipo de habitat, a família é pouco representada em herbários, o que dificulta seu estudo (Souza & Lorenzi, 2008). O crescimento vegetativo ocorre durante as estações chuvosas quando as espécies de Podostemaceae estão completamente submersas.

A polinização da família é pouco estudada, mas tem sido relatado entomofilia, anemofilia (Sobral-Leite *et al.*, 2011) e hidrofília (Sculthorpe, 1967). A antese ocorre geralmente acima da superfície da água, no entanto, Philbrick (1987) relata a ocorrência de antese abaixo e sobre a superfície da água em *Podostemum ceratophyllum* Michx. Segundo Ameka *et al.* (2003), o desenvolvimento e a maturidade dos frutos ocorrem rapidamente, as cápsulas liberam as sementes em rochas expostas ou em outro tipo de substrato sólido, onde germinam no início das chuvas.

Segundo Cook & Rutishauser (2007), espécies do Novo Mundo são caracterizadas por flores com estames livres e grãos de pólen em mônades, enquanto que as espécies do Velho mundo apresentam flores com um ou dois estames sobre um andropódio por flor e grãos de pólen em díades. Os estudos polínicos existentes na família Podostemaceae são pontuais e isolados (tabela 1). A existência de trabalhos esparsos e a problemática classificação de alguns gêneros em Podostemaceae, assim como a nova topologia apresentada pelas publicações recentes mencionadas acima, foram fatores preponderantes para a idealização deste estudo palinológico. No entanto, trabalhos realizados em Podostemaceae nos mostraram que os grãos de pólen são ferramentas taxonômicas úteis na delimitação dos táxons de Podostemaceae; porém, não nos deixam claro até que nível taxonômico esses dados são capazes de nos fornecer informações da delimitação das subfamílias, gêneros e espécies. O presente estudo pode também contribuir com a identificação de fósseis, pois ainda não há registro de pólen fóssil na literatura para a família, o que pode estar sendo provocado pelo desconhecimento de sua morfologia. Além disso, muitas das relações filogenéticas dentro do grupo ainda são pouco esclarecidas.

O presente trabalho tem como objetivo estudar a palinotaxonomia dos gêneros neotropicais de Podostemaceae à luz da filogenia. Para atender a esse objetivo procurou-se descrever a morfologia polínica; detectar caracteres palinológicos que possam distinguir os gêneros de Podostemaceae; ilustrar os grãos de pólen em microscopia de luz e eletrônica de varredura;

Confeccionar palinogramas e Traçar uma linha evolutiva dos estados dos caracteres polínicos em Podostemaceae.

1.1 Histórico Palinológico

No que se refere à Palinologia algumas obras clássicas de Podostemaceae, como por exemplo, os de Tulasne (1852), Warming (1899) e Royen (1951) incluíram os grãos de pólen em suas descrições taxonômicas e ilustrações. Posteriormente, pode-se destacar Erdtman (1952) que descreveu a morfologia polínica de espécies pertencentes a três gêneros neotropicais e dois gêneros paleotropicais. Bezuidenhout (1964) estudou os grãos de pólen de dez gêneros africanos sob microscopia de luz, incluindo o gênero pantropical *Tristicha*. Nair (1965) analisou a morfologia polínica de três gêneros indianos. O'Neill *et al.* (1997) descreveram a morfologia polínica de cinco gêneros de Podostemaceae neotropicais. Lobreau-Callen *et al.* (1998) estudaram a palinologia de 26 gêneros paleo e neotropicais. Osborn *et al.* (2000) analisaram *Marathrum schiedeanum* Cham. (espécie atualmente sinonimizada para *M. foeniculaceum* Bonpl). Passarelli *et al.* (2002) analisaram a palinologia de três espécies de *Apinagia* ocorrentes na América do Sul.

Recentemente, Sá-Haiad *et al.* (2010) analisaram pela primeira vez a estrutura floral e a palinologia de *Podostemum weddellianum* (Tul.) C.T.Philbrick & Novelo. Passarelli *et al.* (2010) descreveram a morfologia polínica de quatro espécies neotropicais de *Podostemum* Michaux, Abreu *et al.* (2012) analisaram o pólen de todas as espécies de *Castelnavia* Tul. & Wedd. e Furness (2012) tratou de espécies do clado das Clusióides. A relação das espécies neotropicais abordadas neste histórico, assim como o tipo de análise e resultados encontrados é apresentada na tabela 1.

Baseando-se nas relações filogenéticas propostas por Gustafsson *et al.* (2002), Wurdack & Davis (2009) e Ruhfel *et al.* (2011), Hypericaceae Juss. é o grupo irmão de Podostemaceae. Pensando em atender ao objetivo de caracterizar apropriadamente a evolução das características polínicas, através da detecção dos estados plesiomórficos, esta família foi incluída como o grupo externo (tabela 2). Em Clusiaceae *s.l.*, pode-se destacar o trabalho de Erdtman (1952) que descreveu a morfologia polínica de seis espécies pertencentes a quatro gêneros de Hypericaceae. Mártonfi (2001) descreveu uma nova espécie do gênero *Hypericum* na qual inclui descrições palinológicas. Posteriormente, Mártonfi *et al.* (2002) estudaram a palinologia de sete espécies de *Hypericum*. Grãos de pólen desse gênero também foram analisados por Mildenhall (2006) em investigação criminal na palinologia forense. Stevens (2007) em suas descrições taxonômicas apresentou uma abordagem geral que caracteriza a família, sendo assim reconhecida como uma família distinta.

Tabela 1. Histórico palinológico de espécies neotropicais de Podostemaceae. ML: microscopia de luz; MEV: microscopia eletrônica de varredura; MET: microscopia eletrônica de transmissão.

Autor/ ano	Tipo de análise	Espécies	Descrições
Erdtman (1952)	ML	<i>Apinagia longifolia</i> (Tul.) P.Royen	Mônades, 3-colpados, subprolatos (17x13 µm)
		<i>A. richardiana</i> (Tul.) P. Royen	Mônades, 3-colpados, prolatos (18x12,5µm)
		<i>Castelnavia princeps</i> Tul. & Wedd.	Mônades, 3-colpados, subprolatos (23x18µm) colpo com membrana granulada
		<i>Tristicha trifaria</i> (Bory ex Willd.) Spreng.	Mônades, 12-porados (16,5µm)
		<i>Weddellina squamulosa</i> Tul.	Mônades, 3-colporados, prolatos (16,5x11,5µm)
Bezuidenhout (1964)	ML	<i>Tristicha trifaria</i> (Bory ex Willd.) Spreng.	Mônades, 9-12- porados, esferoidais, ornamentação “foraminada” com grânulos irregulares
O’Neill <i>et al.</i> (1997)	MEV e MET	<i>Marathrum plumosum</i> Novelo & C.T. Philbrick (= <i>Vanroyenella plumosa</i>)	Mônades, 3-colpados, esferoidais (11,1µm), ornamentação equinada
		<i>Marathrum rubrum</i> Novelo & C.T. Philbrick	Mônades, 3-colpados, esferoidais (11,8µm)
		<i>Noveloa couteriana</i> (Tul.) C.T. Philbrick (= <i>Oserya couleriana</i>)	Mônades, 3-5-colporados, esferoidais (12µm), ornamentação microequinada que diferem na região apertural e não-apertural
		<i>Podostemum ceratophyllum</i> Michx.	Díades (28,9x16,1µm), 3-colpados, grão da díade esferoidais (11,3 µm), ornamentação microequinada

continuação

Autor/ ano	Tipo de análise	Espécies	Descrições
O'Neill <i>et al.</i> (1997)	MEV e MET	<i>Tristicha trifaria</i> (Bory ex Willd.) Spreng.	Mônades, pantoporados, esferoidais (13,1µm) ornamentação microequinada
Lobreau-Callen <i>et al.</i> (1998)	ML, MEV e MET	<i>Apinagia guyanensis</i> (Pulle) P. Royen	Mônades, 3-colpados, ornamentação microequinada
		<i>Castelnavia princeps</i> Tul. & Wedd.	Mônades, ornamentação microequinada
		<i>Jenmaniella varians</i> Engl.	Mônades, ornamentação microequinada
		<i>Mourera aspera</i> (Bong.) Tul.	Mônades, 3-colpados
		<i>Mourera fluviatilis</i> Aubl.	Mônades, 3-colpados, ornamentação equinada
		<i>Mourera monadelpha</i> (Bong.) C. T. Philbrick & C. P. Bove (= <i>Tulasneantha monadelpha</i>)	Mônades, 3-colpados, ornamentação microequinada
		<i>Podostemum comatum</i> Hicken	Díades, ornamentação microequinada
		<i>Rhyncholacis linearis</i> Tul.	Mônades, ornamentação microequinada
		<i>Tristicha trifaria</i> (Bory ex Willd.) Spreng.	Mônades, (5-8) pantoporados, ornamentação microequinada
		<i>Weddellina squamulosa</i> Tul.	Mônades, 3-colporados, ornamentação rugulo-areolada
Osborn <i>et al.</i> (2000)	ML, MEV e MET	<i>Marathrum foeniculaceum</i> Bonpl. (= <i>M. schiedeanum</i>)	Mônades, 3-colpados, pequenos, esferoidais, ornamentação microequinada com grânulos espiraperturados

continuação

Autor/ ano	Tipo de análise	Espécies	Descrições
Passarelli <i>et al.</i> (2002)	ML, MEV e MET	<i>Apinagia glaziovii</i> (Warm.) P. Royen <i>A. riedelii</i> (Bong.) Tul. <i>A. yguazuensis</i> Chodat & Vischer	Mônades, colpados, esferoidais (11,7µm), ornamentação microequinada Mônades, 3-colpados, esferoidais (13x11,5µm) ornamentação microequinada com perfurações e elementos filiformes Mônades, colpados, subprolatos (19x15,5µm), ornamentação microequinada com microprocessos em diferentes tamanhos
Sá-Haiad <i>et al.</i> (2010)	ML e MEV	<i>Podostemum weddellianum</i> (Tul.) C. Philbrick & Novelo	Díades e pseudomonades acalimadas, 3-colpados, suboblato (22,9x26,4µm), ornamentação espiculada
Passarelli <i>et al.</i> (2010)	ML e MEV	<i>Podostemum comatum</i> Hicken <i>P. distichum</i> (Cham.) Wedd. <i>P. muelleri</i> Warm. <i>P. rutifolium</i> Warm.	Díades (25,5x15,5µm), 3-colpados, ornamentação microequinada Díades (27x15µm), 3-colpados, ornamentação microequinada com pontes de exina na região da abertura Díades (26x14,5µm), 3-colpados, ornamentação microequinada com elementos ornamentados na região da abertura Díades (25,5x14,5µm), 3-colpada, ornamentação microequinada, fusão parcial da exina dos grãos da díade
Abreu <i>et al.</i> (2012)	ML e MEV	<i>Castelnavia fluitans</i> Tul. & Wedd.	Mônades, 3-colpados, oblato-esferoidais, âmbito subtriangular, presença de fastígio, margem espessa

continuação

Autor/ ano	Tipo de análise	Espécies	Descrições
		<i>C. monandra</i> Tul. & Wedd.	Mônades, 3-colpados, subprolatos, âmbito subcircular, margem espessa
		<i>C. multipartita</i> Tul. & Wedd.	Mônades, 3-colpados, oblato-esferoidais, âmbito subtriangular, presença de costa, margem espessa
		<i>C. noveloi</i> C.T. Philbrick & C.P. Bove	Mônades, 3-colpados, oblato-esferoidais, âmbito subtriangular, margem espessa
		<i>C. pendulosa</i> (C.T. Philbrick & C.P. Bove) C.T. Philbrick & C.P. Bove	Mônades, 3-colpados, subprolatos, âmbito subtriangular, presença de fastígio, margem espessa
		<i>C. princeps</i> Tul. & Wedd.	Mônades, 3-colpados, prolato-esferoidais, âmbito subtriangular, margem espessa, presença de costa

Tabela 2. Histórico palinológico de espécies de Hypericaceae. ML: microscopia de luz; MEV: microscopia eletrônica de varredura; MET: microscopia eletrônica de transmissão.

Autor/ ano	Tipo de análise	Espécies	Descrições
Erdtman (1952)	ML	<i>Cratoxylum floribundum</i> (Jack) Dyer	Mônades, 3-colporados, subprolatos (26x20 µm), sexina tão espessa quanto a nexina, endoabertura lalongada
		<i>Hypericum perforatum</i> L.	Mônades, 3-colporados, subprolatos
		<i>H. prolificum</i> L.	Mônades, 3-colporados, prolatos
		<i>Psorospermum cerasifolium</i> Baker	Mônades, angulaperturados, suboblato
		<i>Vismia baccifera</i> (L.) Triana & Planch. (= <i>V. mexicana</i>)	Mônades, prolato-esferoidais, sexina tão espessa quanto a nexina, endoabertura lalongada
Seetharam (1985)	ML	<i>Cratoxylum</i> Blume	Mônades, oblato-esferoidais ou prolato-esferoidais, âmbito lobado, 3-colporados, raramente 2-colporados; colpo longo com margens espessas, endoaberturas lalongadas, raramente circular, sexina reticulada, muros com densos grânulos, exine columelada ca. 1.5–2 µm, sexina ca. 1–1.5 µm, nexine ca. 5 µm
		<i>Vismia</i> Vand.	Mônades, prolato-esferoidais, âmbito triangular, 3-colporados, raramente 2-colporados ou 4-colporado; colpo com costa; endoaberturas lalongadas, raramente circular ou lalongada, sexina reticulada e exina ca. 1.2–2.5 µm

continuação

Autor/ ano	Tipo de análise	Espécies	Descrições
Mártonfi (2001)	ML e MEV	<i>Hypericum carpaticum</i> Mártonfi	Mônades, pequenos, subprolato, 3- zonocolporados, presença de costa, endoabertura lolongada, sexina com perfurações
Mártonfi <i>et al.</i> (2002)	ML e MEV	<i>Hypericum sechmenii</i> Ocak & Koyuncu	Mônades, pequenos, médios, presença de fastígio, 3- zonocolporados, 2,4,3-sincolpados
Mildenhall (2006)	ML	<i>Hypericum</i> L.	Mônades, prolato-esferoidais, 3-colporados, ornamentação reticulada com perfurações
Stevens (2007)	ML	Hypericaceae Juss.	Mônades, tricolpados ou tricolporados, presença de costa, variação na orientação da endoabertura. Em <i>Vismieae</i> , membrana apertural com grânulo

2. MATERIAL E MÉTODOS

O material polínico foi obtido a partir de anteras férteis de flores em antese e/ou botões em pré-antese, provenientes de exsicatas depositadas no Herbário R (Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro, UFRJ); Herbário RB (Jardim Botânico do Rio de Janeiro); Herbário BM (Natural History Museum, Londres).

Para cada espécie estudada foi escolhido um espécime considerado "padrão", indicado por asterisco (*) anteposto aos dados do coletor, utilizado para a realização das descrições e ilustrações. Utilizou-se até dois espécimes como materiais de comparação, com a finalidade de se estabelecer a variação morfométrica.

2.1 Escolha dos táxons

A escolha dos táxons se baseou na hipótese proposta por Tippery *et al.* (2011a) sobre as relações filogenéticas dos gêneros neotropicais (Anexo 1) e Ruhfel *et al.* (2011) do clado das clusióides (Anexo 2). A partir das análises dos cladogramas foram destacadas as espécies relevantes para o estudo polínico de acordo com o seu posicionamento nos cladogramas. Ambos os trabalhos nos forneceram uma base sólida do grupo e de suas relações filogenéticas, servindo de alicerce para a escolha das espécies a serem trabalhadas dentro de cada gênero.

A fim de abranger todos os gêneros neotropicais, também foram analisados neste trabalho *Macarenia* P.Royen e *Cipoia*, apesar de não terem sido abordados por Tippery *et al.* (2011a) ou Ruhfel *et al.* (2011). Baseando-se nas relações filogenéticas de Malpighiales citadas anteriormente, foram incluídas em nossas análises representantes de Hypericaceae como o grupo externo. Foi realizada a análise palinológica de três espécies do gênero *Hypericum* L. como representante da tribo Hypericeae. As espécies de *Hypericum* foram escolhidas a partir da disponibilidade de material fértil no herbário (R), a fim de ilustrar atributos polínicos importantes uma vez que a bibliografia encontrada não apresentava imagens elucidativas. Os representantes das tribos Cratoxyleae e Vismieae foram incluídos em nossas análises a partir de dados de bibliografia.

Foram realizados estudos palinológicos de 40 espécies selecionadas de Podostemaceae distribuídas em 17 gêneros, e três espécies de Hypericaceae (*Hypericum brasiliense* Choisy, *H. floribundum* Aiton e *H. meridionale* L.B. Sm.). O material examinado encontra-se listado no Anexo 4.

2.2 Terminologia

Foi adotada a terminologia de Barth & Melhem (1988) e de Punt *et al.* (2007) levando-se em consideração a unidade polínica, o tamanho, a forma, o número e qualidade das aberturas e o padrão de ornamentação da sexina. A denominação da área polar e do tamanho da abertura seguiu classificação estabelecida por Faegri & Iversen (1966) para o índice da área polar. A largura das aberturas foi determinada como estreita ($\leq 3,9\mu\text{m}$), larga (4,0-6,9 μm) e muito larga ($>7,0\mu\text{m}$).

2.3 Microscopia de luz (ML)

Para a realização do estudo em microscopia de luz, o material foi processado segundo o método da acetólise estabelecido por Erdtman (1952) com modificações propostas por Melhem *et al.* (2003). Lâminas diretas (Wodehouse, 1935) foram confeccionadas a fim de detectar díades e tétrades fracamente unidas.

Para evitar a deformação das unidades polínicas, a lamínula foi apoiada sobre quatro esferas de massa de modelagem com aproximadamente 2 mm de diâmetro; para uma melhor focalização, sob microscopia, especialmente em grandes aumentos. Após a parafina preencher todo o espaço sob a lamínula, a lâmina foi virada sobre um papel de filtro com a lamínula voltada para baixo.

As fotomicrografias dos grãos de pólen em microscopia de luz foram realizadas em vista polar e equatorial, detalhando a ornamentação da sexina e, sempre que possível das aberturas.

2.4 Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

Para análise em microscópio eletrônico de varredura (MEV), as anteras foram maceradas e os grãos de pólen, não acetolisados, pulverizados sobre suportes recobertos por fita de carbono (Melhem *et al.*, 2003). O conjunto foi metalizado com uma camada de ouro-paládio por ca. 3 minutos sendo, posteriormente, analisado em aparelho Zeiss DS M960 no Laboratório de Ultraestrutura Celular do Instituto de Biofísica da Universidade Federal do Rio de Janeiro e em aparelho Jeol, JSM 6390 do Departamento de Invertebrados do Museu Nacional, Universidade Federal do Rio de Janeiro.

2.5 Mensuração dos grãos de pólen

Os grãos de pólen acetolisados foram medidos até sete dias após sua preparação (Salgado-Labouriau, 1973). Do material padrão foram mensuradas as vistas polar e equatorial dos grãos de pólen isopolares, onde foram tomadas, aleatoriamente, 25 medidas dos diâmetros polar (DP) e equatorial (DE) em vista equatorial. Em vista polar, foram mensuradas 10 medidas do diâmetro equatorial em vista polar (DEVP) e lado do apocolpo (LA). Nos grãos de pólen apolares foram realizadas as medidas de dois diâmetros (D1 e D2). As díades foram mensuradas em vista equatorial, sendo 25 medidas para cada diâmetro (D1 e D2) e, em seguida, os diâmetros dos grãos de pólen formadores de díades. As tétrades foram mensuradas em vista basal sendo medidos em 25 tétrades os diâmetros (D1 e D2), em seguida, 25 medidas para os diâmetros dos grãos de pólen formadores da tétrade. As medidas tomadas estão esquematizadas na figura 1.

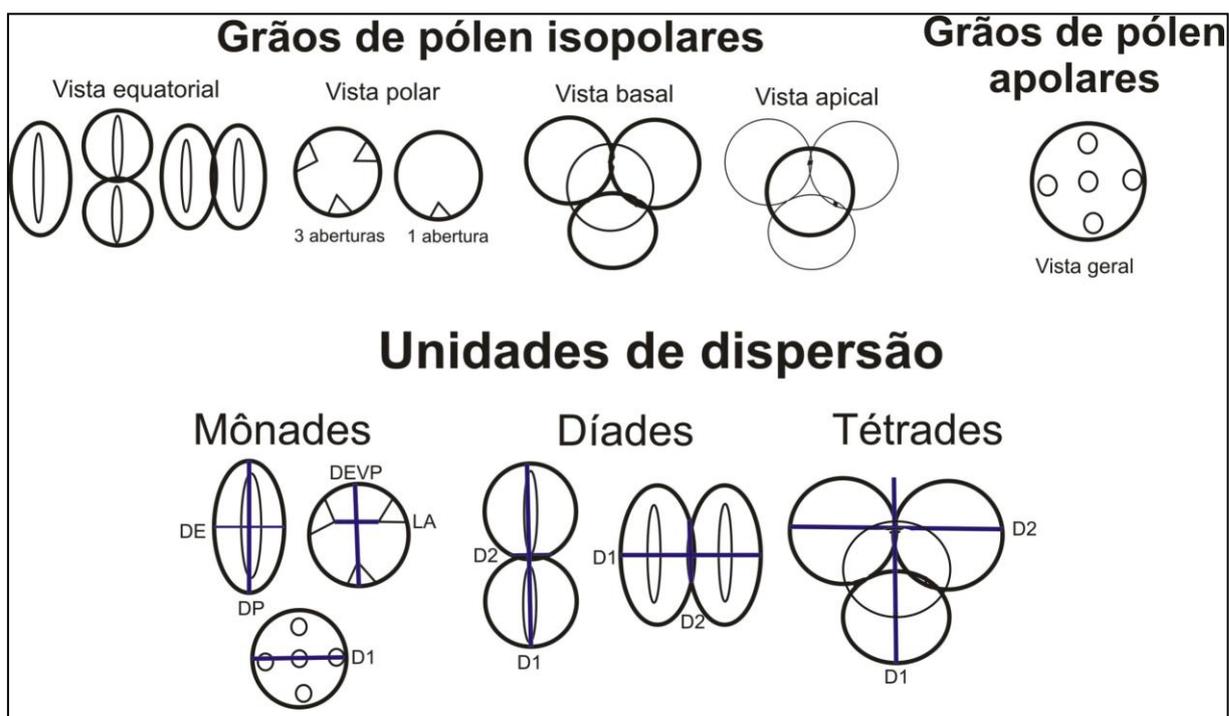


Figura 1: Esquema das medidas tomadas para grãos de pólen isopolar, apolar e unidades de dispersão. D1- Diâmetro 1, D2 – Diâmetro 2, DE- Diâmetro equatorial, DP- Diâmetro polar, DEVP- Diâmetro equatorial em vista polar, LA- Lado do apocolpo.

Para cada espécie, foram realizadas dez medidas da abertura, margem e da espessura da exina e dos diâmetros dos grãos de pólen do material comparação. A medida da exina foi realizada sempre na região mediana do mesocolpo com o grão de pólen em vista polar.

Foram contados 100 grãos de pólen do material acetolizado e não acetolizado para os espécimens com unidades de dispersão variável (mônades, díades e tétrades) para verificar se havia diferença quanto à unidade polínica após a realização da técnica.

De cada espécime foram montadas um mínimo de três lâminas permanentes com os grãos de pólen acetolisados de forma a uniformizar a amostra (Salgado-Labouriau, 1965), nas quais foram tomadas as devidas mensurações, de acordo com o estabelecido por Erdtman (1952) e modificações propostas por Melhem *et al.* (2003).

As lâminas utilizadas no estudo foram depositadas na Palinoteca do Laboratório de Palinologia Álvaro Xavier Moreira, no Departamento de Botânica do Museu Nacional/UFRJ. Os resultados foram submetidos a tratamento estatístico, sendo calculadas as médias aritméticas (\bar{x}), o desvio padrão da amostra (s), o desvio padrão da média ($s_{\bar{x}}$) e o intervalo de confiança a 95% (I.C). Os resultados do tratamento estatístico foram expressos em forma de tabelas. O desvio padrão da amostra bem como o coeficiente de variabilidade foram calculados para fins de confirmação dos resultados e não são expressos em tabelas.

2.6 Análise multivariada

O software de estatísticas Paleontológicas (PAST) versão 2.16 foi utilizado para análise exploratória dos dados. Para melhor organização dos dados abreviou-se o nome das espécies com primeira letra do gênero e as primeiras três/quatro letras dos epítetos específicos. Foi realizada a análise de agrupamento (Cluster –AHC) com o objetivo de classificar as 40 espécies analisadas, em grupos que compartilham (similaridade) as mesmas características baseadas no conjunto de variáveis polínicas (Tab. 3). Na análise de Cluster (AHC) foi construído um dendrograma com o algoritmo de grupos pareados (Paired-group) com o coeficiente de correlação 0,8 e medida de distância euclidiana (Caccavari *et al.* 2008).

Para a ordenação das variáveis comensuráveis realizou-se a análise de componente principal (PCA) por meio da matriz de variância e covariância (var-cov), obtida a partir da média dos dados morfométricos na análise palinológica. Os primeiros três eixos da variância total dos dados foram considerados para o conjunto de dados com mais de 20 espécies, como recomendado por Henderson (2003), desde que os três primeiros eixos acumulem mais de 30% da variância. Como ainda não há uma convenção desses valores para a análise multivariada em estudos palinológicos, os valores de limite aceitável foram adaptados de estudos para análise ecológica (McGarigal *et al.* 2000), mostrados em um gráfico bidimensional do primeiro e segundo componente principal. Os valores dos vetores em cada eixo e o total da variância cumulativa foram representados em tabelas, assim como a matriz de caracteres.

Tabela 3. Caracteres e variáveis de grãos de pólen para a análise de AHC de espécies de Podostemaceae. O número entre parênteses representa os códigos das variáveis para a matriz.

Caracteres		Variáveis
1	tamanho	(0) pequeno (1) médio
2	Polaridade	(0) isopolar (1) apolar
4	Unidade polínica	(0) mônade (1) díade (2) tétrade
5	Área polar	(0) muito pequena (1) Pequena
6	Tipo de abertura	(0) colpo (1) cólporo (2) poro
7	Número de abertura	(0) uma (1) três
7	Âmbito	(0) circular (1) subcircular (2) triangular (3) subtriangular
8	Ornamentação	(0) espinulada (1) espinulada c/ grânulos (2) rugulada (3) reticulada (4) espinulada com perfurações
9	Margem na abertura	(0) ausente (1) presente

2.7 Evolução polínica de Podostemaceae

Para a visualização da evolução dos caracteres polínicos na família buscou-se uma contextualização dos dados polínicos encontrados com um grupo externo. Os caracteres morfológicos polínicos são discutidos à luz das filogenias propostas por Philbrick & Novelo (2004), Moline *et al.* (2006), Tippery *et al.* (2011), Philbrick *et al.* (2011) e Koi *et al.* (2012). Os dados referentes às espécies de *Castelnavia* são obtidos do trabalho de Abreu *et al.* (2012). Para mapear os estados dos caracteres polínicos (Tab. 3) foi criada uma árvore de consenso das filogenias (Fig.11) no programa Mesquite v.2.75 (Maddison & Maddison, 2011).

3. RESULTADOS

3.1 Morfologia polínica de gêneros de Podostemaceae

3.1.1 *Apinagia* Tul. (Fig. 2 A-U)

Apinagia fimbriifolia P. Royen (Fig. 2 A-D)

Apinagia fluitans P. Royen (Fig. 2 E-I)

Apinagia longifolia (Tul.) P. Royen (Fig. 2 J-M)

Apinagia nana Went (Fig. 2 N-O)

Apinagia richardiana (Tul.) P. Royen (Fig. 2 P-R)

Apinagia riedelii (Bongard) Tul. (Fig. 2 S-U)

As espécies apresentam grãos de pólen em mônades, isopolares, pequenos, prolatos ou subprolatos, âmbito subcircular (Fig. 2 A) ou subtriangular (Fig. 2 N), área polar pequena ou muito pequena, 3-colpados, sexina espinulada.

Tamanho: *A. riedelii* foi a espécie com grãos de pólen de menor tamanho, inclusive sem sobreposição de medidas de eixo polar (maior eixo) com as demais espécies (Tab. 4, 9).

Forma e área polar: a forma dos grãos de pólen varia de prolata em *A. fluitans*, *A. longifolia*, *A. richardiana* e *A. riedelii* a subprolata em *A. fimbriifolia* e *A. nana* (Tab. 1, 7). A área polar é pequena em *A. fimbriifolia*, *A. nana* e *A. riedelii* e muito pequena em *A. fluitans*, *A. longifolia* e *A. richardiana* (Tab. 7). O âmbito é subtriangular em *A. nana* e subcircular nas demais espécies.

Aberturas: colpos longos e largos em *A. fimbriifolia* (ca. 17,5 x 4,9 μm) e *A. nana* (ca. 16,1 x 5,3 μm); longos e estreitos em *A. riedelii* (ca. 17,3 x 2,0 μm), muito longos e estreitos em *A. fluitans* (ca. 16,0 x 3,0 μm) e *A. longifolia* (ca. 15,3 x 3,0 μm) e *A. richardiana* (ca. 14,7 x 3,3 μm). Os maiores valores do comprimento do colpo foram registrados em *A. fimbriifolia* e *A. riedelii* (ca. 17,0 μm) e os menores em *A. longifolia* e *A. richardiana* (Tab. 8); membrana apertural com espínulos mais proeminentes (Fig. 2 I).

Estratificação da exina e ornamentação: A exina é fina, tem a espessura ca. 1 μm e apresenta a nexina tão espessa quanto a sexina (Tab. 8). A ornamentação da sexina é espinulada (Fig. 2 B, D, F, G, I, K, R, U) com grânulos pequenos isolados ou fundidos apenas em *A. fimbriifolia* (Fig. 2 D).

3.1.2 *Autana* C.T.Philbrick (Fig. 3 A-C)

Autana andersonii C.T.Philbrick

Grãos de pólen em mônades, isopolares, pequenos (21,1-21,5 μm), prolatos (Tab.4, 9), âmbito subtriangular (Fig. A), área polar pequena (Tab. 7), 3-colpados, sexina espinulada.

Aberturas: colpos longos, largos (15,0 x 4,0 μm) (Tab. 8), com membrana apertural ornamentada com espínulos (Fig. 3 B), margem espessa ornamentada (Fig. 3 B, C).

Estratificação da exina e ornamentação: a exina é fina, tem a espessura de ca.1 μm , com a nexina tão espessa quanto a sexina (Tab. 8). A ornamentação da sexina é espinulada (Fig. 3 B).

3.1.3 *Ceratolacis* Wedd (Fig. 3 D-G)

Ceratolacis pedunculatum C.T. Philbrick, Novelo & Irgang

Grãos de pólen organizados em díades (47,2 μm) (Tab. 2, 7), acalimadas (Fig. 3 D), com unidades formadoras isopolares, pequenas, oblatas, 3-colpadas, âmbito circular, sexina rugulada.

Unidade de dispersão e tamanho: díades com grãos de pólen pequenos (31,3-32,1 μm) (Tab. 2) ligados por pontes de exina (Fig. 3 G). Para avaliar a estabilidade da unidade polínica, foram contados 100 grãos de pólen do material acetolisado e não acetolisado. Constatou-se que 100% dos grãos de pólen não apresentaram diferença entre os dois tipos de preparação, ou seja, as díades não se desfazem após a acetólise (Tab. 10).

Aberturas: colpos longos, largos (Tab. 6), com membrana apertural ornamentada com pilos, algumas vezes fundidos (Fig. G). Os colpos entre os grãos das díades estão alinhados (Fig. 3 D, F)

Estratificação da exina e ornamentação: a exina tem a espessura de ca. 2 μm , com a nexina tão espessa quanto a sexina (Tab. 6). A ornamentação da sexina é rugulada, com formações mamilóides isoladas em toda a superfície e presença de corpos de Ubisch (Fig. 3 E).

3.1.4 *Cipoia* C.T. Philbrick, Novelo & Irgang (Fig. 3 H-T)

Cipoia inserta C.T. Philbrick, Novelo & Irgang (Fig. 3 H-M)

Cipoia ramosa C.P. Bove, C.T. Philbrick & A. Novelo (Fig. 3 N-T)

Grãos de pólen organizados em díades (33,1-39,7 μm) acalimadas (Fig. 3 H, N), os grãos de pólen formadores das díades são isopolares (Fig. L, S), pequenos, suboblato, prolato ou subprolato, monocolpado e sexina espinulada ou granulada.

Unidade de dispersão e forma: em *C. inserta* são registradas as maiores díades (39,7 μm) (Tab. 5, 9). Os grãos de pólen formadores das díades estão unidos na região do equador (Fig. 3 J, O). Os grãos de pólen são suboblato em *C. inserta*, enquanto em *C. ramosa*, são subprolato a prolato. Para avaliar a estabilidade da unidade polínica, foram contados 100 grãos de pólen do material acetolizado e não acetolizado. Constatou-se que 100% dos grãos de pólen não acetolizados estavam organizados em díades. No material acetolizado, *Cipoia inserta* apresentou 85% de díades e 15% de mônades, enquanto *Cipoia ramosa*, 82% eram mônades e 18% díades. Concluiu-se que as mônades encontradas se desprenderam das díades após a acetólise (Tab. 10).

Aberturas: monocolpados, colpos longos e estreitos em *C. inserta* (22,0 x 2,0 μm), longos e largos em *C. ramosa* (17,3 x 6,0 μm) (Tab. 8; Fig. 3 L, S).

Estratificação da exina e ornamentação: a espessura da exina em *Cipoia inserta* é ca. 2 μm enquanto que *C. ramosa* possui exina mais fina ca. 1 μm (Tab. 8). Nas duas espécies a nexina é tão espessa quanto a sexina. Em *C. inserta*, a ornamentação da sexina é espinulada com grânulos diminutos (Fig. 3 M), enquanto em *C. ramosa* a superfície possui grânulos diminutos assemelhando-se em algumas regiões com espínulos e raras perfurações (Fig. 3 T).

3.1.5 *Diamantina* Novelo, C.T. Philbrick & Irgang (Fig. 4 A-F)

Diamantina lombardii Novelo, C.T. Philbrick & Irgang

Grãos de pólen organizados em díades ou tétrades formadas por grãos de pólen isopolares, pequenos, subprolato (Tab. 5, 9), âmbito subtriangular, área polar pequena (Tab. 5), 3-colpado, sexina espinulada.

Unidade de dispersão e tamanho: díades e tétrades (Tab. 5, 6) com predominância de díades (76%). Tétrades médias (29,7 μm), tetraédricas (Fig. 4 A-C) e acalimadas. Díades (Fig. 4 D, E) médias (33,0 μm). Os grãos de pólen das díades e tétrades são pequenos (20,2-21,0 μm). Para avaliar a estabilidade da unidade polínica, foram contados 100 grãos de pólen do material

acetolizado e não acetolizado. Constatou-se que no material acetolizado os grãos de pólen estavam organizados em mônades (20%), díades (51%) e tétrades (29%). No material não acetolizado foram encontrados 76% de díades e 24% de tetrade. Conclui-se que os grãos de pólen isolados encontrados nas lâminas da técnica de acetólise, são mônades formadoras de tétrades que se desprenderam, pois as tétrades são acalimadas (Tab. 10).

Aberturas: colpos longos (ca. 14,1 μm), estreitos (ca. 3,1 μm), com margem ornamentada medindo ca.1,0 μm (Fig. 4 D), com membrana apertural ornamentada por espínulos (Fig. 4 F, Tab. 8). Os colpos entre os grãos das díades e tétrades estão alinhados (Fig. 4 C, D).

Estratificação da exina e ornamentação: a exina tem a espessura de ca. 2,0 μm , com a nexina tão espessa quanto a sexina. O Teto tem relevo ondulado e a ornamentação da sexina é espinulada com perfurações (Fig. 4 F, Tab. 8).

3.1.6 *Jenmaniella* Engl. (Fig. 4 G-O)

Jenmaniella ceratophylla P. Royen (Fig. 4 G-K)

Jenmaniella fimbriata P. Royen (Fig. 4 L-O)

As espécies apresentam grãos de pólen em mônades, isopolares, pequenos a médios, subprolatos, (Tab. 4, 9), âmbito subtriangular (Fig. 4 G) a subcircular (Fig. 4 L), área polar muito pequena (Tab. 7), 3-colpados, sexina espinulada.

Unidade de dispersão e tamanho: mônades, de tamanho pequeno a médio em *J. fimbriata* (24,4-25,5 μm) ou apenas médio em *J. ceratophylla* (26,5 μm) (Tab. 4,9).

Aberturas: colpos muito longos, *J. ceratophylla* (ca. 22,0 μm) e *J. fimbriata* (ca. 18,0 μm), muito largos (ca. 7,0 μm) (Tab. 6). A membrana apertural é ornamentada com espínulos ou formações mamilóides conspícuas (Fig.4 I).

Estratificação da exina e ornamentação: A exina tem a espessura de ca. 1,0 μm , com a nexina tão espessa quanto a sexina (Tab. 8). A sexina é espinulada em *J. ceratophylla* (Fig. 4 H) e em *J. fimbriata* é espinulada com grânulos na região do mesocolpo (Fig. 4 N, O).

3.1.7 *Lophogyne* Tul. (Fig. 4 P-U)

Lophogyne lacunosa (Gardner) C. P. Bove & C.T Philbrick

Apresenta grãos de pólen organizados em mônades, díades ou tétrades, formadas por grãos de pólen isopolares, pequenos, subprolatos ou prolato-esferoidais (Tab. 4, 5, 6), âmbito subcircular, área polar muito pequena (Tab. 7), 3-colpados, sexina espinulada.

Unidade de dispersão e forma: mônades pequenas (20,2-22,5 μm) (Fig. 4 T), díades (43,4 μm) (Fig. 4 P) ou tétrades (39,8 μm) (Fig. 4 S), com predominância de díades. A forma variou de subprolata a prolato-esferoidal. Deve-se levar em consideração que na espécie há variação na unidade polínica, e a unidade utilizada para as medidas do material padrão e comparação foram dos grãos formadores das díades, pois esta unidade é a predominante do material não acetolizado. Para avaliar a estabilidade da unidade polínica, foram contados 100 grãos de pólen do material acetolizado e não acetolizado. Constatou-se que 48% dos grãos de pólen não acetolizados estavam organizados em díades, 32% em mônades e 20% em tétrades. No material acetolizado, 60% dos grãos de pólen estavam organizados em mônades, 30% em díades e 10% em tétrades (Tab. 10). Concluí-se que as mônades encontradas se desprenderam das díades ou tétrades após a acetólise (Tab. 10).

Aberturas: colpos muito longos (16,5 μm), largos (Tab. 8), com membrana apertural ornamentada com espínulos ou grânulos largos, isolados ou fundidos (Fig. 4 U). Os colpos dos grãos das díades estão alinhados (Fig. 4 P,U)

Estratificação da exina e ornamentação: a exina tem a espessura de ca. 1,0 μm , com a nexina tão espessa quanto a sexina (Tab. 8). A ornamentação da sexina é espinulada (Fig. 4 Q, R) com perfurações.

3.1.8 *Macarenia* P. Royen (Fig.5 A-D)

Macarenia clavigera P. Royen

Apresenta grãos de pólen em mônades, isopolares, pequenos, subprolatos (23,1 μm) (Tab. 4), âmbito subtriangular (Fig. 5 A), área polar pequena (Tab. 7), 3-colpados, sexina espinulada.

Aberturas: colpos longos (18,0 μm), estreitos (Tab. 8), com margem e membrana apertural ornamentada por espínulos de formato mamilóide (Fig. 5 D).

Estratificação da exina e ornamentação: A exina tem a espessura de ca. 1µm, com a nexina tão espessa quanto a sexina (Tab. 8). A ornamentação da sexina é espinulada, com espínulos algumas vezes fundidos (Fig. 5 B).

3.1.9 *Marathrum* Bonpl. (Fig. 5 E-T)

Marathrum aeruginosum P. Royen (Fig. 5 E-G)

Marathrum capillaceum (Pulle) P. Royen (Fig. 5 H-K)

Marathrum foeniculaceum Humb. & Bonpl. (Fig. 5 L-P)

Marathrum plumosum (Novelo & C.T.Philbrick) C.T.Philbrick & C.P.Bove (Fig. 5 Q-T)

As espécies apresentam grãos de pólen em mônades, isopolares, pequenos, oblato-esferoidais, subprolatos, ou prolatos (Tab. 4, 9), âmbito subcircular ou subtriangular, área polar pequena ou muito pequena (Tab. 7), 3-colpados, sexina espinulada.

Unidade de dispersão e forma: mônades, subprolata em *M. aeruginosum*, oblato-esferoidal em *M. capillaceum* e prolatos em *M. foeniculaceum* e *M. plumosum*. Área polar pequena em *M. aeruginosum*, *M. foeniculaceum* e *M. plumosum* e muito pequena em *M. capillaceum*. Âmbito subcircular em *M. aeruginosum* e *M. capillaceum* (Fig. 5 E, H) e subtriangular em *M. foeniculaceum* e *M. plumosum* (Fig. 5 L, Q).

Aberturas: colpos longos e estreitos em *M. aeruginosum* (14,6 µm), *M. foeniculaceum* (12,3 µm), longos e largos em *M. plumosum* (12,0 µm), e muito longos e muito largos em *M. capillaceum* (15,5 µm) (Tab. 8). Apresentam membrana apertural ornamentada com espínulos (Fig. 5 K, M, R).

Estratificação da exina e ornamentação: A exina tem a espessura de ca. 1,0 µm, com a nexina tão espessa quanto a sexina (Tab. 8). A ornamentação da sexina é espinulada com perfurações em *M. aeruginosum* (Fig. 5 G) e *M. foeniculaceum* (Fig. 5 M, P), espinulada com espínulos isolados ou fundidos em *M. capillaceum* e *M. plumosum* (Fig. 5 K,R,T).

3.1.10 *Monostylis* Tul. (Fig. 6 A-D)

Monostylis capillacea Tul.

Apresenta grãos de pólen em mônades, isopolares, pequenos (16,4-22,5 μm), subprolatos ou oblato-esferoidais (Tab. 1, 7), âmbito subtriangular (Fig. 6 A), área polar muito pequena (Tab. 5), 3-colpados, sexina espinulada.

Aberturas: colpos longos e estreitos (ca. 13,7x3,5 μm) (Tab. 6), apresenta margem de ca. 1 μm (Fig. 6 C) e membrana apertural ornamentada por espínulos conspícuos (Fig. 6 D).

Estratificação da exina e ornamentação: a exina tem a espessura de ca. 1 μm , com a nexina tão espessa quanto à sexina (Tab. 6). A ornamentação da sexina é espinulada com perfurações (Fig. 6 B, D).

3.1.11 *Mourera* Aubl. (Fig. 6 E-T)

Mourera elegans (Tul.) Baill. (Fig.6 E-H)

Mourera fluviatilis Aubl. (Fig.6 I-K)

Mourera monadelphica (Bong.) C. T. Philbrick & C. P. Bove (Fig. 6 L)

Mourera schwackeana Warm. (Fig. 6 M-P)

Mourera weddelliana Tul. (Fig. 6 Q-T)

As espécies apresentam grãos de pólen em mônades, isopolares, pequenos ou médios, prolatos (Tab. 1,7), âmbito circular ou subcircular, área polar pequena ou muito pequena (Tab. 5), 3-colpados, sexina espinulada.

Tamanho e forma: grãos de pólen pequenos em *M. elegans*, *M. fluviatilis*, *M. schwackeana* e *M. weddelliana* e médios em *M. monadelphica* (26,9 μm). Forma prolata em todas as espécies. Âmbito circular em *M. elegans* (Fig. 6 E) e subcircular em *M. fluviatilis*, *M. monadelphica*, *M. schwackeana* e *M. weddelliana* (Fig. 6 I, M, Q). Área polar pequena em *M. weddelliana* e muito pequena nas demais espécies (Tab. 5).

Aberturas: os colpos são longos e largos (Fig. 6 G, J) em *M. elegans* (ca.15,3x4,5 μm) e *M. fluviatilis* (ca. 16,9x5,5 μm) e longos e estreitos (Fig. 6 N) em *M. schwackeana* (16,6x3,2 μm) e muito longos e estreitos (Fig. 6 L, S) em *M. monadelphica* (20,0 x 3,0 μm) e *M. weddelliana* (19,5 x 3,8 μm) (Tab. 8). A membrana apertural é ornamentada com espínulos (Fig. 6 H, K, L, O, R); presença de margem ornamentada em *M. monadelphica*, *M. schwackeana* e *M. weddelliana* (Fig. 6 L, N, S).

Estratificação da exina e ornamentação: em *M. fluviatilis*, *M. monadelphina* e *M. schwackeana* a exina tem a espessura de ca. 1,0 µm e em *M. elegans* ca. 2,0 µm com a nexina tão espessa quanto a sexina. Em *M. weddelliana* a exina tem ca. 3,2 µm e a nexina é mais espessa que a sexina (Tab. 8). A ornamentação da sexina em *M. elegans* e *M. weddelliana* apresenta espínulos de base larga, individualizada e bem delimitada (Fig. 6 F, R, T) enquanto em *M. fluviatilis*, *M. monadelphina* e *M. schwackeana* os espínulos são menos conspícuos e sem base individualizada (Fig. 6 K, L, O, P). Presença de corpos de Ubisch em *M. weddelliana* (Fig. 6 T).

3.1.12 *Noveloa* C.T. Philbrick (Fig. 7 A-D)

Noveloa coulteriana (Tul.) C.T. Philbrick

Apresenta grãos de pólen em mônades, isopolares, pequenos (21,2-22,6 µm) prolatos (Tab. 4, 9), âmbito subcircular (Fig. 7 A), área polar muito pequena (Tab. 7), 3-colpados, sexina espinulada.

Aberturas: colpos muito longos e largos (12,5 x 5,0 µm) (Tab. 8), com margem ornamentada (Fig. 7 C) e membrana apertural com espínulos de formato mamilóide (Fig. 7 D).

Estratificação da exina e ornamentação: A exina tem a espessura de ca. 1 µm, com a nexina tão espessa quanto a sexina (Tab. 8). A sexina é espinulada (Fig. 7 B).

3.1.13 *Oserya* Tul. & Wedd. (Fig. 8 E-H)

Oserya perpusilla (Went) P. Royen

Apresenta grãos de pólen em mônades, isopolares, pequenos (20,7 µm), prolatos (Tab. 4), âmbito subcircular (Fig. 8 E), área polar pequena (Tab. 7), 3-colpados, sexina espinulada.

Aberturas: colpos longos e estreitos (16,0 x 3,3 µm) (Tab. 8), com margem ornamentada (Fig. 8 F) e membrana apertural com espínulos de formato mamilóide (Fig. 8 G).

Estratificação da exina e ornamentação: A exina tem a espessura de ca. 1,0 µm, com a nexina tão espessa quanto a sexina (Tab. 8). A ornamentação da sexina é espinulada (Fig. 8 H).

3.1.14 *Podostemum* Benth. & Hook. f. (Fig. 7 A -U)

Podostemum ceratophyllum Michx. (Fig. 7 A-B)

Podostemum comatum Hicken (Fig. 7 C-D)

Podostemum distichum (Cham.) Wedd. (Fig. 7 E-F)

Podostemum irgangii C.T. Philbrick & Novelo (Fig. 7 G-H)

Podostemum muelleri Warm. (Fig. 7 I-J)

Podostemum ovatum C.T. Philbrick & Novelo (Fig. 7 L-M)

Podostemum rutifolium Warm. (Fig. 7 N-O)

Podostemum saldanhanum (Warm.) C.T. Philbrick & Novelo (Fig. 7 P-Q)

Podostemum scaturiginum (Mart.) C.T. Philbrick & Novelo (Fig. 7 R-S)

Podostemum weddellianum (Tul.) C.T. Philbrick & Novelo (Fig. 7 T-U)

As espécies apresentam grãos de pólen em díades, pequenos ou médios (Tab. 5), isopolares, âmbito subtriangular a subcircular, tricolpados, colpos longos e largos (Tab. 8), com membrana ornamentada e sexina espinulada com espínulos curtos e largos. A visualização do plano das aberturas em vista polar foi de difícil visualização.

Unidade de dispersão e tamanho: díades acalimadas com grãos de pólen unidos por pontes de exina (Fig.7 J), pequenos (19.2-23.5µm) em *P. ceratophyllum*, *P. comatum*, *P. distichum*, *P. irgangii*, *P. muelleri*, *P. rutifolium* e *P. weddellianum* e, médios (26.0-32.3 µm) em *P. ovatum*, *P. saldanhanum* e *P. scaturiginum*.

Forma: variaram de suboblato em *P. weddellianum*, oblato-esferoidal em *P. comatum*, *P. rutifolium*, *P. saldanhanum*, *P. scaturiginum*, prolato-esferoidal em *P. ceratophyllum*, *P. distichum*, *P. irgangii*, *P. muelleri* e prolato em *P. ovatum*.

Aberturas: Os grãos de pólen formadores das díades são 3-colpados, os colpos entre os grãos das díades podem estar alinhados (Fig. 7 C, D e G) ou não (Fig. 7 F) ou, ainda, podem estar em posição diagonal aos pólos como em *P. scaturiginum* (Fig. 7 R-S). Os colpos são longos (ca. 10.0-18.0 µm), largos (ca. 4.0-8.0 µm), com membrana conspicuamente ornamentada por elementos mamilóides de ápice acuminado (Fig.7 B). A membrana dificulta a saída do conteúdo citoplasmático e a visualização da abertura quando analisada em microscopia de luz.

Estratificação da exina e ornamentação: A exina é delgada (ca. 0.7-1.5 µm) de difícil delimitação entre sexina e nexina (Tab. 8). A sexina é espinulada em todas as espécies (Fig. 7 H, L) Sob microscopia de luz em 1000x de aumento, os espínulos se assemelham a grânulos (Fig. 7 P-Q).

3.1.15 *Rhyncholacis* Tul. (Fig. 8 I-L)

Rhyncholacis linearis Tul.

Apresenta grãos de pólen em mônades, isopolares, médios (28,1 μm), perprolatos (Tab. 4), âmbito subtriangular (Fig. 8 I), área polar muito pequena (Tab. 7), 3-colpados, sexina espinulada.

Aberturas: colpos muito longos e estreitos (22,2x3,8 μm), (Tab. 8) com margem ornamentada (Fig. 8 J) e membrana apertural pouco ornamentada (Fig. 8 L).

Estratificação da exina e ornamentação: A exina tem a espessura de ca. 1 μm , com a nexina tão espessa quanto a sexina (Tab. 8) de difícil delimitação entre sexina e nexina. A ornamentação é espinulada, com ornamentação irregular em algumas regiões (Fig. 8 K), Algumas vezes são observados elementos alongados semelhantes a báculos na região da abertura (Fig. 8 L).

3.1.16 *Tristicha* Thouars (Fig. 8 M-P)

Tristicha trifaria (Bory ex Willd.) Spreng.

Apresenta grãos de pólen em mônades, apolares, pequenos, esferoidais, 10-porados e sexina espinulada.

Tamanho e aberturas: grãos de pólen pequenos (12,6-16,5 μm); 10-porados, com poros pequenos (4,0 x 3,4 μm), com opérculos ornamentados por espínulos de dimensões semelhantes a da superfície do grão de pólen (Fig. 8 N, O, P).

Estratificação da exina e ornamentação: espinulada, a exina tem espessura de 2,0 μm , com a nexina (1,5 μm) mais espessa que a sexina (0,5 μm) (Tab. 8; Fig. 8 M).

Medidas (μm): Diâmetro 1 = Faixa de Variação (12,5-17,5); $\bar{x} \pm s\bar{x}$ (16,5 \pm 0,3); I.C. 95% (15,9-17,1); n= 25 (C.P. Bove *et al.* 1163); Diâmetro 1= Faixa de Variação (12,5-16,0); \bar{x} (15,1); n= 10 (C.P. Bove 2303).

3.1.17 *Weddellina* Tul. (Fig. 8 Q-T)

Weddellina squamulosa Tul.

Apresenta grãos de pólen em mônades, isopolares, prolatos, pequenos (15,0-15,8 μm), âmbito subtriangular (Fig. 8 Q), área polar muito pequena (Tab. 4, 7, 9), 3-colporados, sexina rugulada.

Aberturas: 3-colporados, colpos longos e largos (15,0 x 5,3 μm), margem indistinta (Fig. 8 S), membrana apertural psilada (Fig. 8 T), endoabertura lolongada (2,1 x 1,8 μm) (Tab. 8).

Estratificação da exina e ornamentação: exina de ca.1,4 μm , com a sexina (0,9 μm) menos espessa que a nexina (0,5 μm) (Tab. 8). A ornamentação da sexina é rugulada, rúgulas conspícuas, com perfurações esparsas (Fig. 8 R).

3.2 Morfologia polínica de gênero de *Hypericaceae*

3.2.1 *Hypericum* L. (Fig 9. A-M)

Hypericum brasiliense Choisy (Fig. 9 A-F)

Hypericum floribundum Aiton (Fig. 9 G-J)

Hypericum meridionale L.B. Sm. (Fig. 9 K-M)

Apresentam grãos de pólen em mônades, médios (ca. 26,0-35,0 μm), prolatos, apolares ou isopolares, nesses últimos, a área polar é muito pequena (Tab. 11,12), o é âmbito circular a subtriangular, 3-colporados, 6-heterocolpados e sexina microrreticulada.

Polaridade, Forma e Aberturas: apenas em *H. brasiliensis* são encontrados 76% de grãos de pólen apolares e 24% de isopolares. Nos grãos de pólen isopolares de *H. brasiliensis* e das duas outras espécies a forma é prolata, o âmbito é circular apenas em *H. brasiliensis* (Fig. 9 A) e subtriangular em *H. floribundum* e *H. meridionale* (Fig. 9 G, K). Nos apolares de *H. brasiliensis* ocorrem heterocolpos (4 cólporos e 2 colpos) (Fig. 9 B, C, D), os grãos de pólen isopolares são 3-colporados, os cólporos são longos e estreitos, a endoabertura é lolongada (Tab. 12), com margem psilada, sem membrana apertural ornamentada (Fig. 9 L).

Estratificação da exina e ornamentação: A exina em *H. floribundum* e *H. meridionale* é ca. 2,0 μm , em *H. brasiliense* é um pouco mais espessa medindo ca. 3,0 μm (Tab. 12). A sexina é tão espessa quanto a nexina em *H. floribundum* e *H. meridionale* (1,0 μm), maior que a nexina em *H. brasiliense* (2,0 μm). A ornamentação da sexina é microrreticulada, heterobrocada, com perfurações, muros retos, simplescolumelados (Fig. 9 D, F, H).

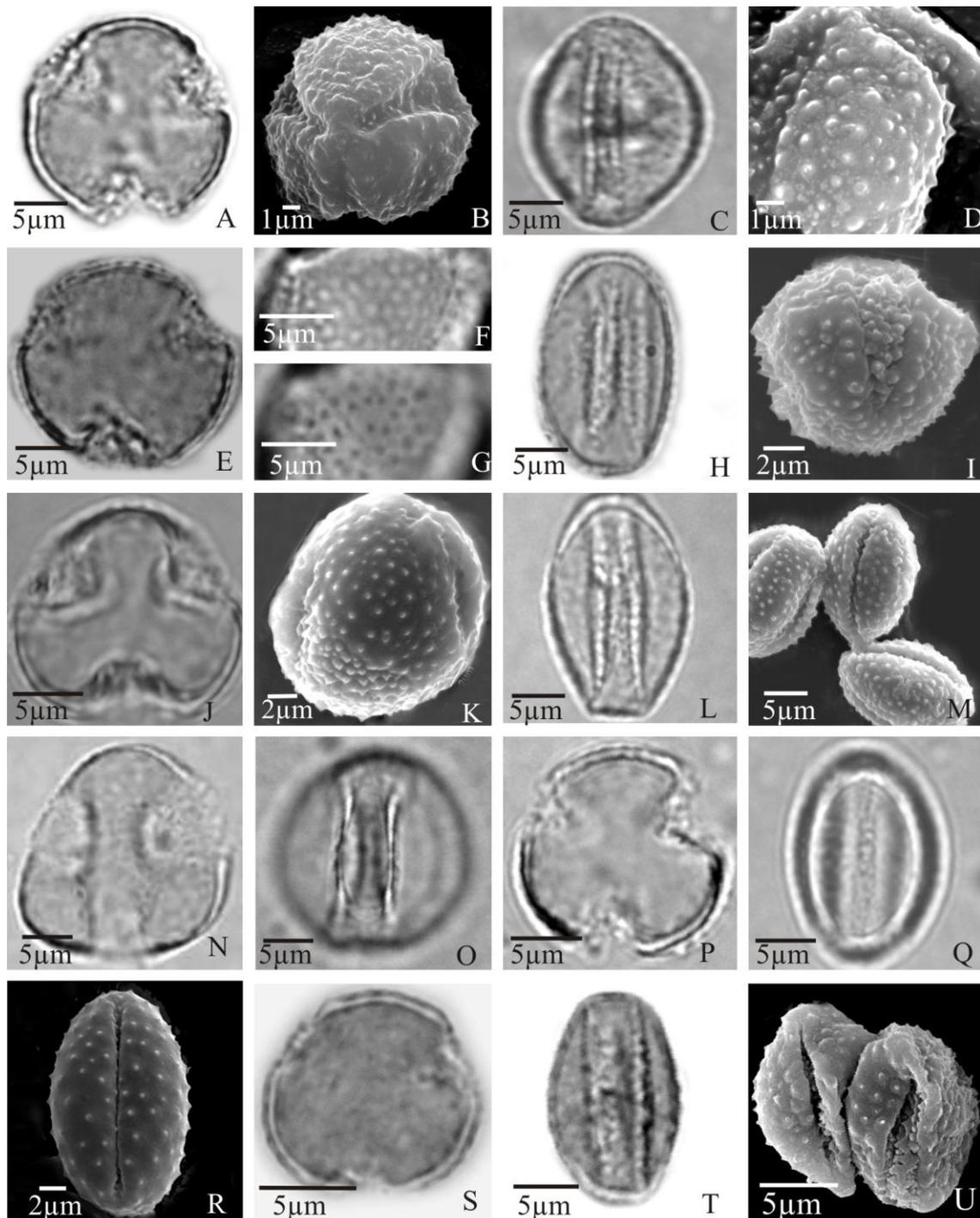


Figura 2. Fotomicrografias e eletromicrografias dos grãos de pólen de espécies de Podostemaceae: A-D. *Apinagia fimbriifolia* [C.P.Bove *et al.* 2144 (R)]- Vista polar: A. corte óptico, B. Apocolpo (MEV); Vista equatorial: C. Aspecto geral, D. Detalhe da superfície (MEV). E-I - *Apinagia fluitans* [C.P.Bove *et al.* 1896 (R)] - Vista polar: E. corte óptico, F-G. L.O.; Vista equatorial: H. Aspecto geral, I. Detalhe da superfície e abertura (MEV). J-M *Apinagia longifolia* [C.P.Bove 1950 (R)] - Vista polar: J. Apocolpo, K. Detalhe da superfície (MEV); vista equatorial: L. abertura, M. Aspecto geral (MEV). N-O *Apinagia nana* [C.T.Philbrick 6232 & S. Jairam-Doerga (R)]-Vista Polar: N. corte óptico; Vista equatorial: Aspecto geral, abertura. P-R. *Apinagia richardiana* [C.P.Bove 1971 (R)]-vista polar: P. corte óptico; Vista equatorial: Q. Aspecto geral, R. Abertura e detalhe da superfície (MEV). S-U. *Apinagia riedelli* [C.P.Bove *et al.* 1480 (R)]- vista polar: S. corte óptico; vista equatorial: T. Aspecto geral, U. Detalhe da abertura e superfície (MEV).

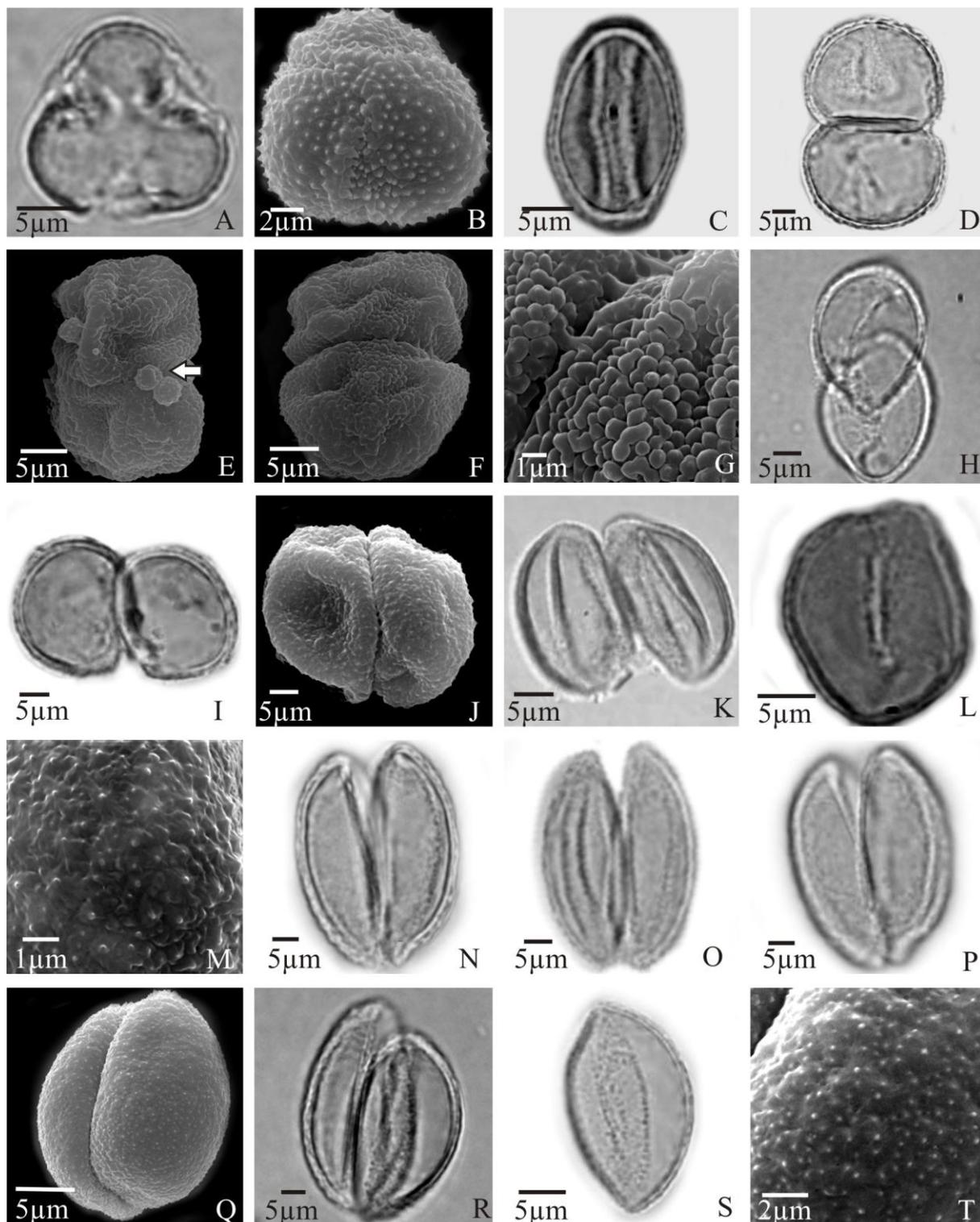


Figura 3. Fotomicrografias e eletromicrografias dos grãos de pólen de espécies de Podostemaceae: A-C. *Autana andersonii* [Philbrick *et al.* 5862 (R)] - Vista polar: A. corte óptico, B. Apocolpo e detalhe da ornamentação (MEV); Vista equatorial: C. Aspecto geral. D-G. *Ceratolacis pedunculatum* [C.T.Philbrick, Novelo 5651(R)]- Vista equatorial: D. Corte óptico, E. Aspecto geral (MEV), corpúsculo de Ubisch (seta), F. Abertura e superfície (MEV), G. Detalhe da membrana apertural (MEV). H-L. *Cipoia inserta* [C.P.Bove *et al.* 2205(R)]- H. Aspecto Geral, I. Corte óptico, J. Detalhe da díade (MEV), K. Aberturas, L. Grão de pólen formador da díade, M. Detalhe da superfície. N-T *Cipoia ramosa* [C.P.Bove *et al.* 1584 (R)]- N. Corte óptico, O. Aberturas, P. Aspecto geral, Q. Detalhe da díade (MEV), R. Corte óptico, S. Grão de pólen formador da díade, detalhe da abertura, T. Detalhe da superfície (MEV).

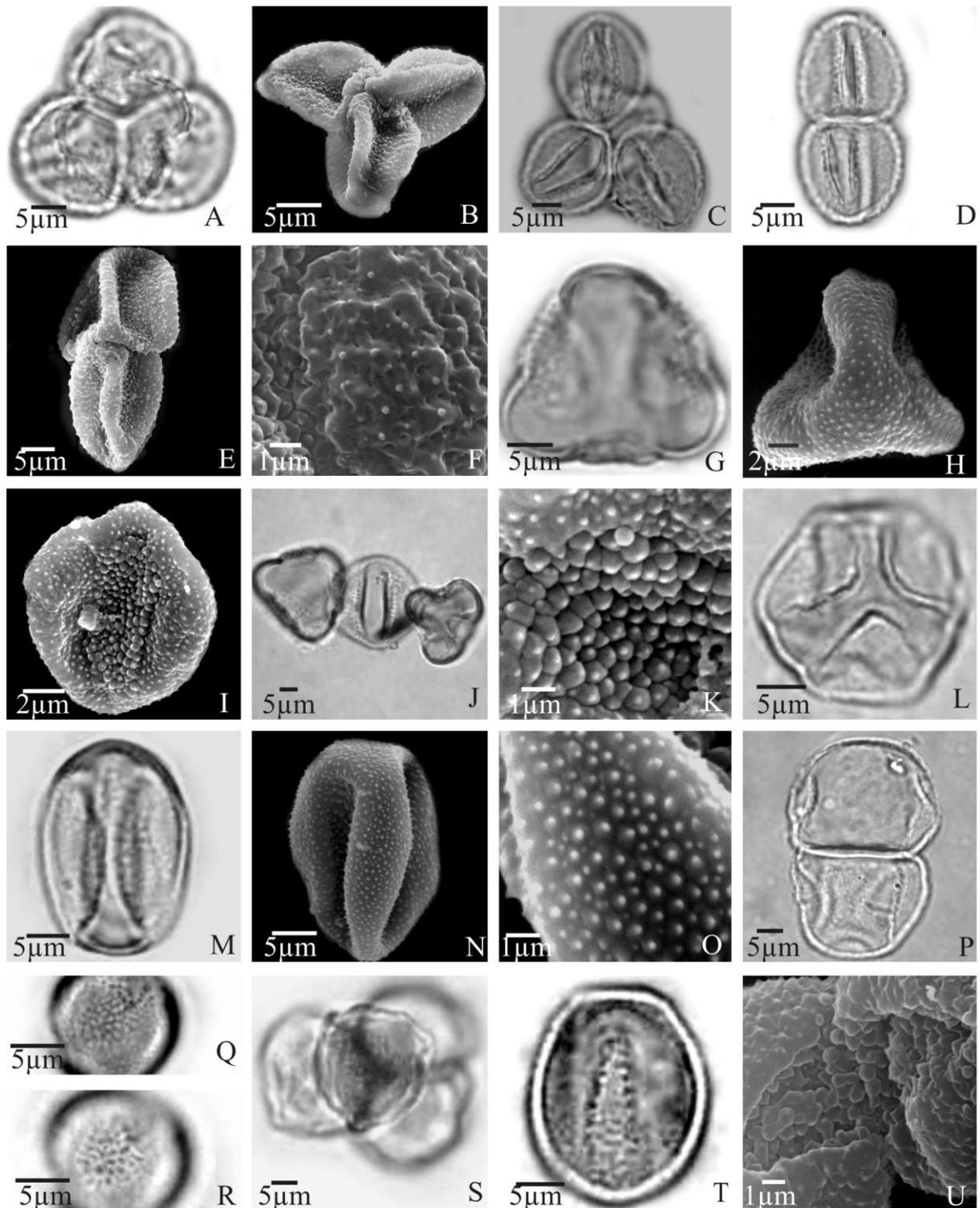


Figura 4. Fotomicrografias e eletromicrografias dos grãos de pólen de espécies de Podostemaceae: A-F. *Diamantina lombardii* [C.P.Bove *et al.* 2253] - Tétrade: A. Vista apical, B. Aspecto geral (MEV), C. Vista basal; Díade: D. Aberturas, E. Aspecto geral (MEV), F. Detalhe da superfície (MEV). G-K. *Jenmaniella ceratophylla* [C.P.Bove 1866 & C.T.Philbrick 6089 (R)]- Vista polar: G. Corte óptico, H. Apocolpo e superfície (MEV); Vista equatorial: I. Abertura (MEV), J. Aspecto geral, K. Detalhe da ornamentação da membrana apertural (MEV). L-O. *J. fimbriata* [Philbrick 6313 *et al.* (R)] - Vista polar: L. Apocolpo; vista equatorial: M. Aspecto geral, N. Aberturas (MEV), O. Detalhe da superfície (MEV). P-U. *Lophogyne lacunosa* [C.P.Bove 1339 (R)] - Díade: P. Aspecto geral, Q-R. L.O; Tétrade: S. Vista apical; Mônade: T. Aspecto geral; U. Região de contato entre as mônades, detalhe da superfície e abertura (MEV).

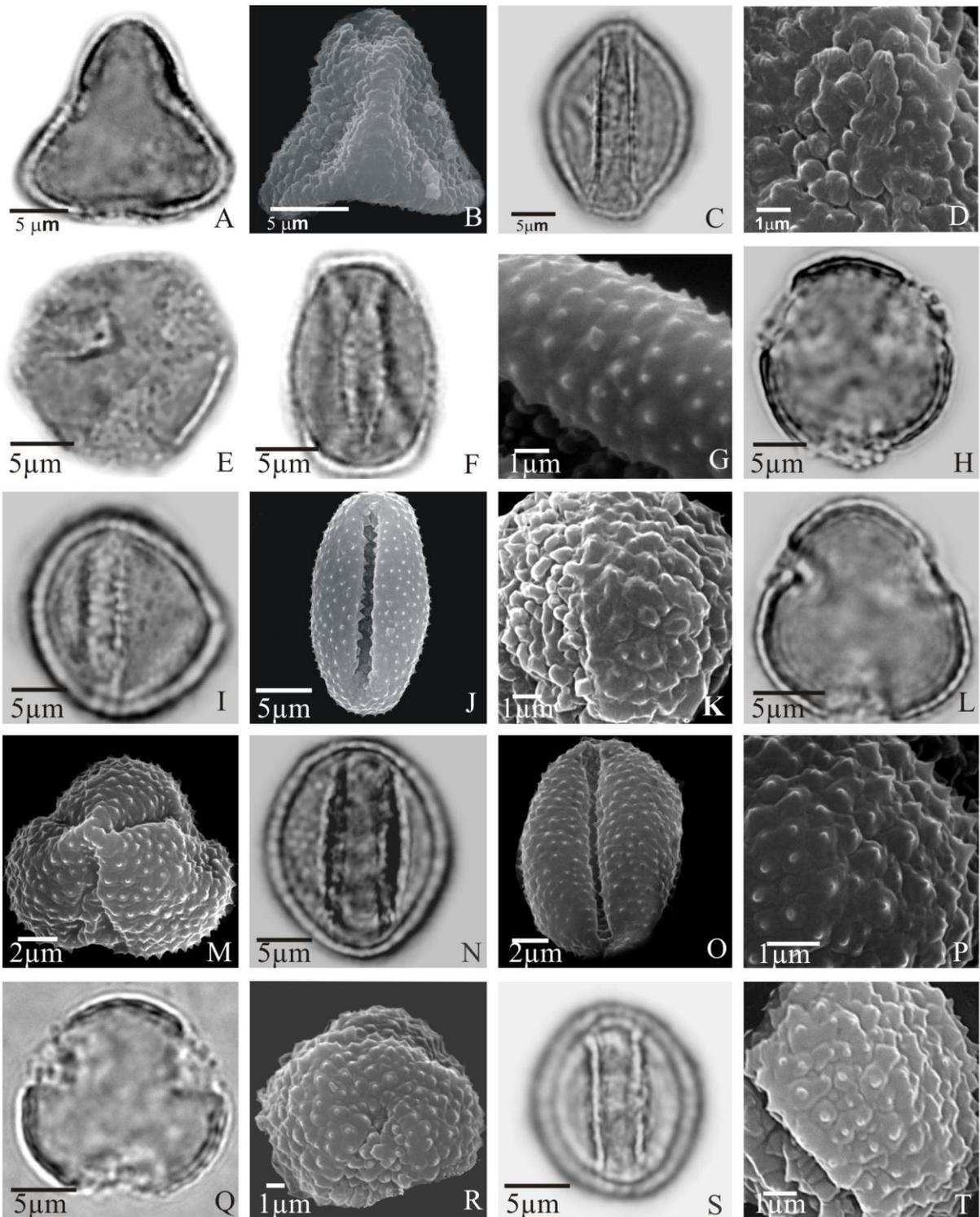


Figura 5. Fotomicrografias e eletromicrografias dos grãos de pólen de espécies de Podostemaceae: A-D. *Macarenia clavigera* [Philipson 2275 (BM)] - Vista polar: A. Corte óptico, B. Apocolpo (MEV); Vista equatorial: C. Aspecto geral, D. Detalhe da superfície (MEV). E-G. *Marathrum aeroginosum* [C.T.Philbrick 6231 & S. Jairam-Doerga (R)] - vista polar: E. Apocolpo; Vista equatorial: F. Abertura, G. Detalhe da superfície (MEV). H-K. *Marathrum capillaceum* [C.P.Bove 2153 et al. (R)] - Vista polar: H. Corte óptico; Vista equatorial: I. Aspecto geral, J. Abertura (MEV), K. Detalhe da superfície (MEV). L-P. *M. foeniculaceum* [C.P.Bove 1627 (R)] - vista polar: L. Corte óptico, M. Apocolpo (MEV); vista equatorial: N. Abertura, O. Aspecto geral (MEV), P. Detalhe da superfície (MEV). Q-T. *M. plumosum* [C.P.Bove 1629 & R. Collazo (R)] - Vista polar: Q. Corte óptico, R. Aspecto geral (MEV); Vista equatorial: S. Abertura, T. Detalhe da superfície (MEV).

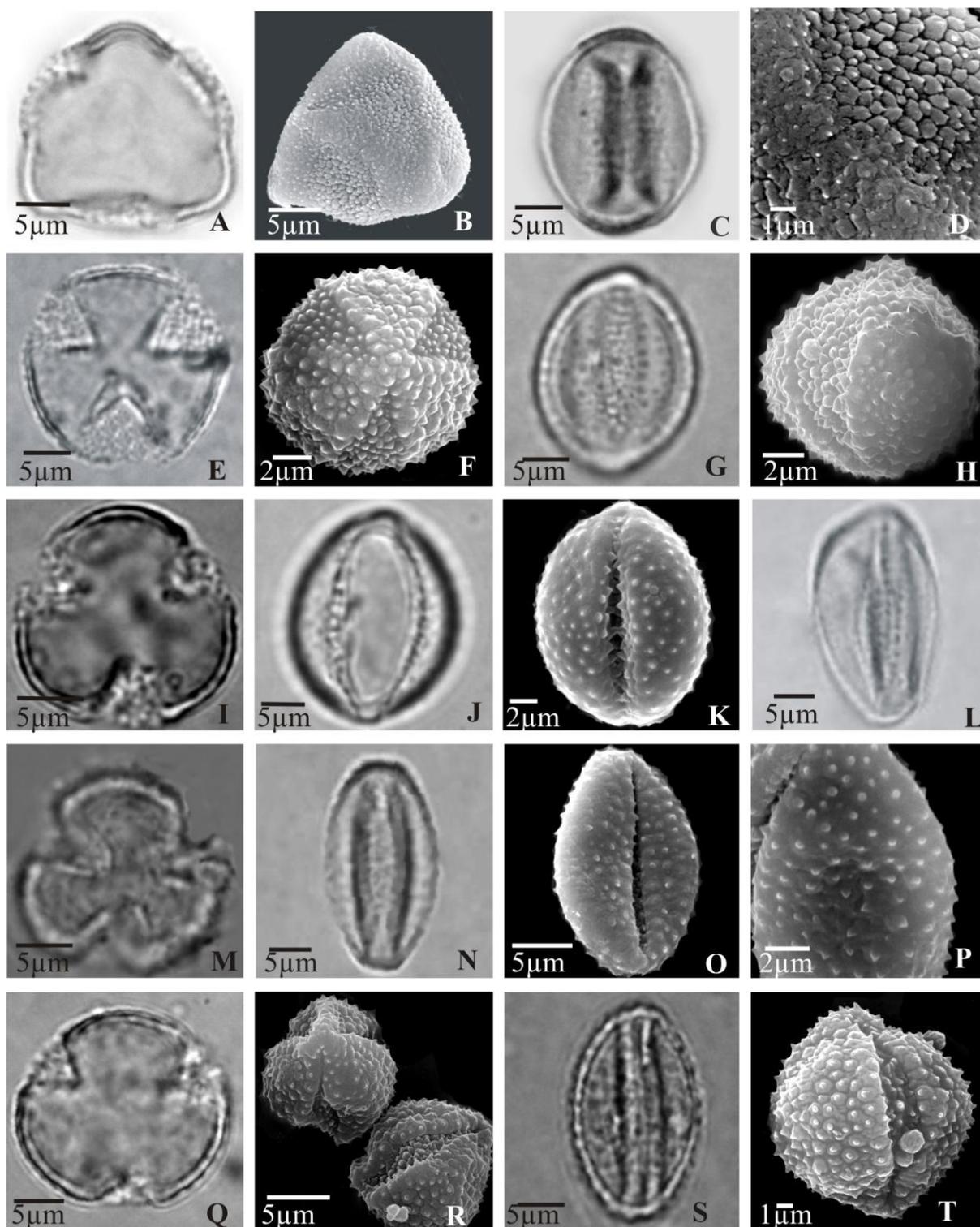


Figura 6. Fotomicrografias e eletromicrografias dos grãos de pólen de espécies de Podostemaceae: A-D. *Monostylis capillacea* [C.P.Bove 1479 *et al.* (R)] - Vista polar: A. Corte óptico, B. Apocolpo (MEV); Vista equatorial: C. Aspecto geral, D. Detalhe da superfície (MEV). E-H. *Mourera elegans* [C.T.Philbrick 5976 & S. tucci (R)]- Vista polar: E. Corte óptico, F. Apocolpo (MEV); Vista equatorial: G. Aspecto geral, H. Detalhe da superfície (MEV). I-K. *M. fluviatilis* [C.P.Bove 1955 *et al.* (R)] -Vista polar: I. Corte óptico; Vista equatorial: J. Abertura, K. Aspecto geral e superfície (MEV). L. *M. monadelpha* [S. Ducke s/n° (RB)] - L. Aspecto geral. M-P. *M. schwackeana* [A.G.Fialho s/n (R)] - vista polar: M. Apocolpo; vista equatorial: N. Abertura, O. Aspecto geral (MEV), P. Detalhe da superfície (MEV). Q-T. *M. weddelliana* [C.P.Bove 1738 *et al.*(R)] - Vista polar: Q. Corte óptico, R. Aspecto geral (MEV); Vista equatorial: S. Abertura, T. Detalhe da superfície (MEV).

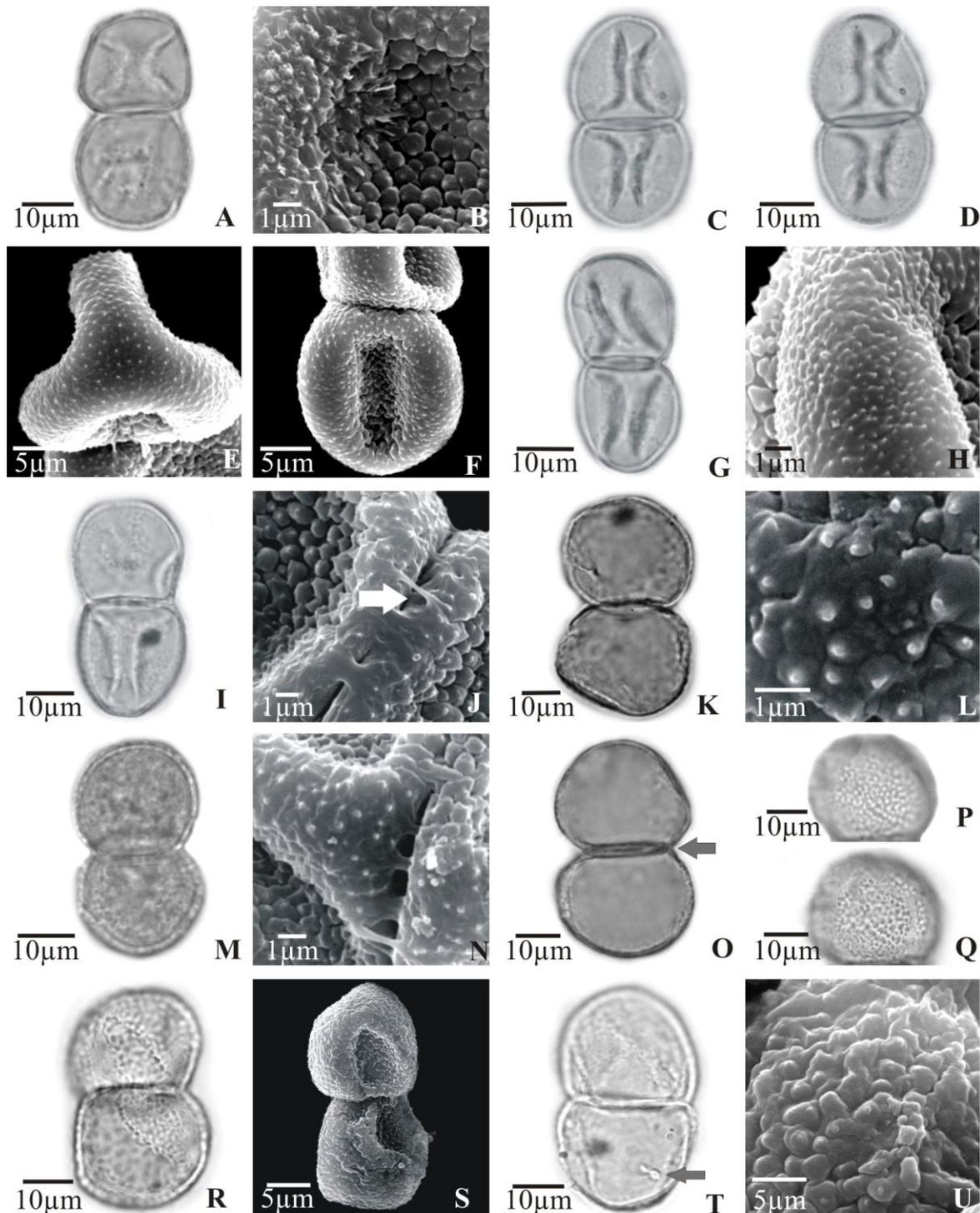


Figura 7. Fotomicrografias e eletromicrografias dos grãos de pólen de espécies de Podostemaceae: A-B. *Podostemum ceratophyllum* [C.T. Philbrick & Novelo 4639 (R)] - Vista equatorial: A. Corte óptico, B. Detalhe da superfície (MEV); C-D. *P. Comatum* [C.T. Philbrick, Novelo *et al.* 2128 (R)] - Vista equatorial: C, D: corte óptico. E-F. *P. Distichum* [C.T. Philbrick & Novelo 5699 (R)] - Vista polar: E. Detalhe do apocolpo (MEV); vista equatorial: F. Detalhe da abertura (MEV). G-H. *P. irgangii* [C.T. Philbrick & Novelo 5466a (R)] - Vista equatorial: G. Corte óptico, H. Detalhe da superfície e mesocolpo. I-J. *P. muelleri* [C.T. Philbrick, Novelo *et al.* 5038 (R)] - vista equatorial: I. Corte óptico, J. Detalhe da região de contato da díade (MEV), ponte de exina (seta). K-L. *P. ovatum* [C.P. Bove & R. Occhii 1056 (R)] - vista equatorial: K. Corte óptico, L. Detalhe da superfície (MEV). M-N *P. rutifolium* [A. Novelo & C.T. Philbrick 5513 (R)] - vista equatorial: M. corte óptico, N. Detalhe da região de contato da díade (MEV). O-Q. *P. saldanhanum* [C.P. Bove *et al.* 1043 (R)] - vista equatorial: O. corte óptico, P-Q. aparência granular em M.L (L.O). R-S. *P. scaturiginum* [C.T. Philbrick & Novelo 5776 (R)] - vista equatorial: R. Aberturas em diagonal, S. Detalhe das aberturas (MEV). T-U. *P. weddellianum* [C.P. Bove & A. Moreira 1051 (R)] - vista equatorial: T. Corte óptico, U. Detalhe da superfície (MEV)

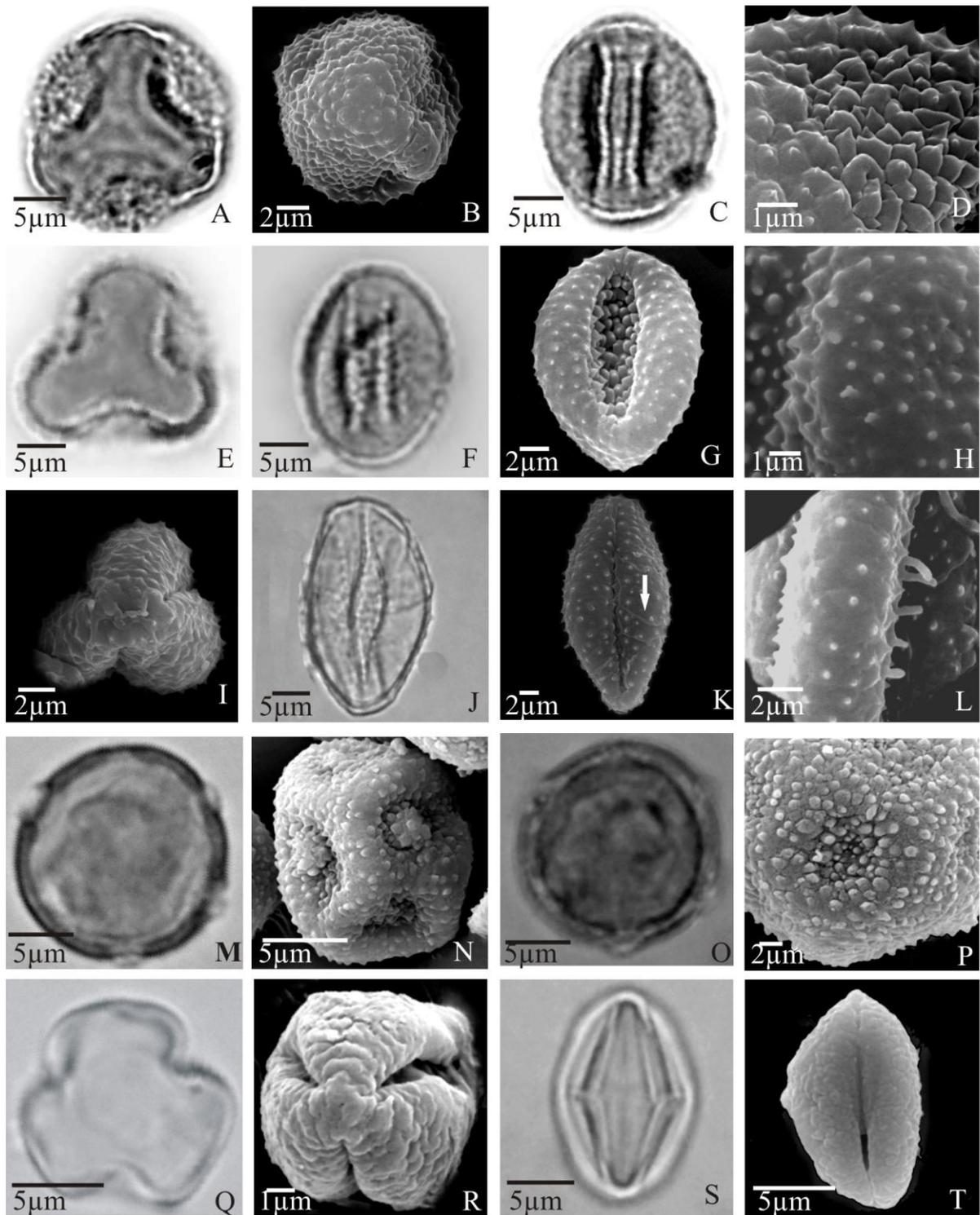


Figura 8. Fotomicrografias e eletromicrografias dos grãos de pólen de espécies de Podostemaceae: A-D. *Noveloa couteriana* [C.P.Bove 1628 *et al.* (R)] - Vista polar: A. Corte óptico, B. Aspecto geral (MEV); Vista equatorial: C. Abertura, D. Detalhe da superfície e membrana apertural (MEV). E-H. *Oserya perpusilla* [C.P.Bove 1956 (R)]- Vista polar: E. Apocolpo; Vista equatorial: F. Aspecto geral, G. Detalhe da abertura (MEV), H. Detalhe da superfície (MEV). I-L. *Ryncholacis linearis* [Lueltzelburg 22150 (R)] - Vista polar: I. Apocolpo (MEV); Vista equatorial: J. Abertura, K. Aspecto geral (MEV) seta processo na ornamentação, L. Detalhe da superfície (MEV). M-P. *Tristicha trifaria* [C.P.Bove 1163 *et al.* (R)] - M. Corte óptico, N. Aspecto geral (MEV), O. Abertura, P. Detalhe da superfície e abertura (MEV). Q-T. *Weddellina squamulosa* [C.P.Bove 1476 *et al.* (R)] - Vista polar: Q. Corte óptico, R. Apocolpo e detalhe da superfície (MEV); Vista equatorial: S. Abertura, T. Aspecto geral (MEV).

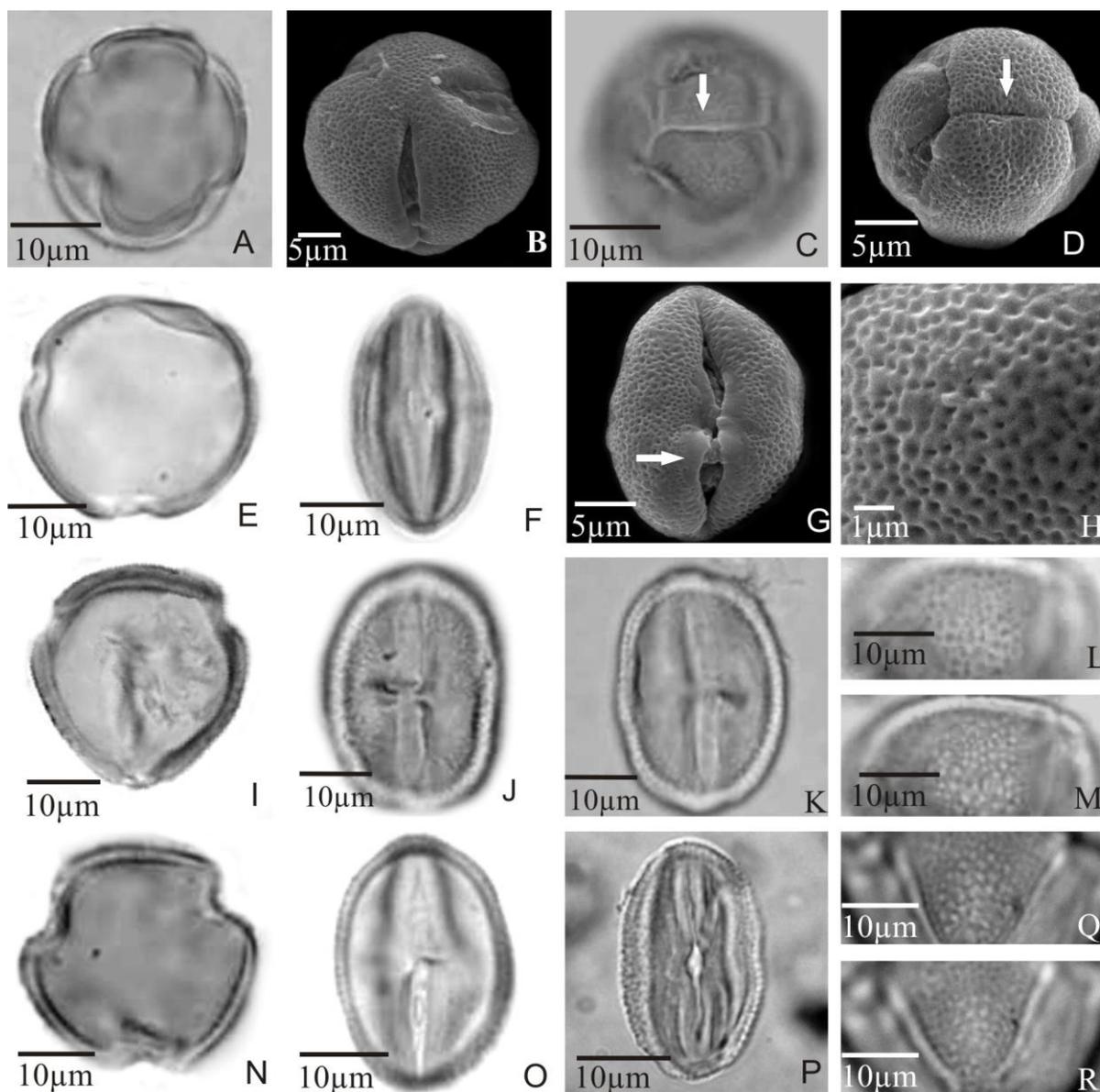


Figura 9. Fotomicrografias e eletromicrografias dos grãos de pólen de espécies de *Hypericum* (Hypericaceae) A-H. *Hypericum brasiliense* [H.S.Irwin 2751 (R)] - Grão de pólen apolar: A. Corte óptico, B. Aspecto geral (MEV), C. Abertura (Seta), D. Detalhe da superfície e abertura (seta)(MEV); Grão de pólen isopolar - vista polar: E. Corte óptico; Vista equatorial: F. Aspecto geral, G. Detalhe da abertura (MEV), H. Detalhe da superfície (MEV). I-M. *H. floribundum* [205256 (R)]- Vista polar: I. Corte óptico; Vista equatorial: J. Abertura, K. Aspecto geral, L-M. L.O. N-R. *H. Meridionale* [L.B. Smith (R)] - Vista polar: N. Corte óptico; Vista equatorial: O. Abertura, P. Aspecto geral, Q-R: L.O.

Tabela 4. Medidas (em μm) dos grãos de pólen em mônades, em vista equatorial, de espécies de Podostemaceae (n=25). s_x – desvio padrão da média; IC – intervalo de confiança; diâmetro polar (DP); diâmetro equatorial (DE); P/E – relação entre diâmetro polar e equatorial

Espécies	Diâmetro Polar (DP)			Diâmetro equatorial (DE)			P/E	Forma
	Faixa de Variação	$\bar{x} \pm s\bar{x}$	I.C. 95%	Faixa de Variação	$\bar{x} \pm s\bar{x}$	I.C. 95%		
<i>Apinagia fimbriifolia</i>	20,0-22,0	20,8 \pm 0,2	20,4-21,2	16,0-18,0	17,5 \pm 0,1	17,3-17,7	1,18	subprolata
<i>A. fluitans</i>	21,0-23,0	22,1 \pm 0,1	21,9-22,3	14,0-15,0	14,7 \pm 0,1	14,5-14,9	1,50	prolata
<i>A. longifolia</i>	21,0-23,0	22,0 \pm 0,1	21,8-22,2	11,0-12,0	11,7 \pm 0,1	11,5-11,9	1,88	prolata
<i>A. richardiana</i>	18,0-20,0	19,4 \pm 0,2	19,0-19,7	13,0-14,0	13,6 \pm 0,1	13,4-13,8	1,43	prolata
<i>A. riedelii</i>	15,0-18,0	17,2 \pm 0,2	16,8-17,6	12,5-15,0	12,7 \pm 0,1	12,5-12,9	1,35	prolata
<i>A. nana</i>	21,0-23,0	22,0 \pm 0,2	21,6-22,4	18,0-20,0	18,8 \pm 0,2	18,4-19,2	1,17	subprolata
<i>Autana andersonii</i>	21,0-22,0	21,3 \pm 0,1	21,1-21,5	15,0-17,0	15,8 \pm 0,1	15,6-16,0	1,34	prolata
<i>Jenmaniella ceratophylla</i>	26,0-27,0	26,5 \pm 0,1	26,3-26,7	19,0-22,0	21,0 \pm 0,2	20,6-21,4	1,26	subprolata
<i>J. fimbriata</i>	25,0-26,0	25,5 \pm 0,1	25,3-25,7	20,0-22,0	21,2 \pm 0,1	21,0-21,4	1,20	subprolata
<i>Lophogyne lacunosa</i>	22,0-24,0	22,5 \pm 0,2	22,1-22,9	20,0-23,0	21,6 \pm 0,1	21,4-21,8	1,04	prolato-esferoidal
<i>Macarenia clavigera</i>	22,0-25,0	23,1 \pm 0,2	22,7-23,5	17,5-19,0	18,0 \pm 0,1	17,8-18,2	1,28	subprolata

continuação

Espécies	Diâmetro Polar (DP)			Diâmetro equatorial (DE)			P/E	Forma
	Faixa de Variação	$\bar{x} \pm s\bar{x}$	I.C. 95%	Faixa de Variação	$\bar{x} \pm s\bar{x}$	I.C. 95%		
<i>Marathrum aeroginosum</i>	18,0-21,0	19,6±0,1	19,4-19,8	14,0-16,0	15,0±0,1	14,8-15,2	1,31	subprolata
<i>M. foeniculaceum</i>	19,0-22,5	20,2±0,1	20,0-20,4	15,0-16,0	15,1±0,1	14,9-15,3	1,34	prolata
<i>M. plumosum</i>	17,6-20,0	18,4±0,4	17,6-19,2	12,5-15,0	12,9±0,4	12,1-13,7	1,42	prolata
<i>Monostylis capillacea</i>	20,0-25,0	22,5±0,4	21,7-23,3	17,5-22,5	19,0±0,3	18,4-19,6	1,18	subprolata
<i>Mourera elegans</i>	20,0-22,5	22,1±0,2	21,7-22,5	15,0-17,5	15,7±0,2	15,3-16,1	1,41	prolata
<i>M. fluviatilis</i>	23,7-26,2	24,8±0,2	24,4-25,2	13,7-15,0	14,6±0,1	14,4-14,9	1,70	prolata
<i>M. monadelpha</i>	25,0-28,0	26,9±0,1	26,7-27,1	15,0-17,0	15,8±0,1	15,5-16,1	1,70	prolata
<i>M. schwackeana</i>	22,0-24,0	23,0±0,1	22,8-23,2	13,0-15,0	14,4±0,1	14,2-14,6	1,60	prolata
<i>M. weddelliana</i>	22,5-25,0	23,1±0,2	22,7-23,5	12,5-15,0	13,2±0,2	12,8-13,6	1,75	prolata
<i>Noveloa couteriana</i>	20,0-22,5	21,2±0,2	20,8-21,6	15,0-17,5	15,4±0,2	15,0-15,8	1,38	prolata
<i>Oserya perpusilla</i>	20,0-22,0	20,7±0,1	20,5-20,9	12,0-14,0	13,4±0,1	13,2-13,6	1,54	prolata
<i>Rhyncholacis linearis</i>	27,0-30,0	28,1±0,2	27,7-28,5	13,5-15,0	13,7±0,1	13,5-13,9	2,04	perprolata
<i>Weddellina squamulosa</i>	17,5-20,0	15,8±1,1	13,6-18,0	7,5-12,5	11,5±0,9	9,7-13,3	1,37	prolata

Tabela 5. medidas (em μm) das dimensões das díades e dos grãos de pólen formadores das díades, em vista equatorial de espécies de Podostemaceae. (n=25).
 Diâmetro 1 - diâmetro maior; diâmetro 2 – diâmetro menor; DP - diâmetro polar; DE - diâmetro equatorial; (\bar{x}) - média aritmética; s_x - desvio padrão da amostra; IC - intervalo de confiança. (*) Médias de D1 e D2 realizadas com 10 grãos de pólen.

Espécies	Diâmetro 1		Diâmetro 2		Diâmetro polar			Diâmetro equatorial			P/E	forma
	Faixa de variação	$\bar{x} \pm s_x$	Faixa de Variação	$\bar{x} \pm s_x$	Faixa de Variação	$\bar{x} \pm s_x$	IC 95%	Faixa de Variação	$\bar{x} \pm s_x$	IC 95%		
<i>Ceratolacis pedunculatum</i>	45,0-49,0	47,2 \pm 0,2	18,0-20,0	18,9 \pm 0,1	22,0-25,0	23,6 \pm 0,2	23,2-24,0	30,0-35,0	32,1 \pm 0,3	31,5-32,7	0,73	oblata
<i>Cipoia inserta</i>	35,0-42,0	39,7 \pm 0,3	13,0-15,0	14,2 \pm 0,1	19,0-21,0	20,1 \pm 0,1	19,9-20,3	24,0-26,0	25,3 \pm 0,1	25,1-25,5	0,79	suboblata
<i>Cipoia ramosa</i>	32,0-34,0	33,1*	16,0-18,0	16,5*	20,0-26,0	23,5 \pm 0,9	21,7-25,3	15,0-20,0	18,1 \pm 0,3	17,5-18,7	1,30	prolata
<i>Diamantina lombardii</i>	32,5-35,0	33,0 \pm 0,2	28,0-32,0	29,8 \pm 0,2	20,0-22,5	20,5 \pm 0,1	20,3-20,7	15,0-17,5	16,9 \pm 0,1	16,7-17,1	1,21	subprolata
<i>Lophogyne lacunosa</i>	42,0-44,0	43,4 \pm 0,2	21,0-26,0	23,6 \pm 0,2	22,0-24,0	22,5 \pm 0,1	22,3-22,7	20,0-23,0	21,6 \pm 0,1	21,4-21,8	1,04	prolato-esferoidal
<i>Podostemum ceratophyllum</i>	40,0-47,5	43,0 \pm 0,4	20,0-23,8	21,9 \pm 0,2	20,0-23,8	22,4 \pm 0,2	22,0-22,8	20,0-23,8	21,9 \pm 0,2	21,5-22,3	1,02	prolato-esferoidal
<i>P. comatum</i>	37,5-42,5	40,3 \pm 0,2	20,0-25,0	22,3 \pm 0,3	17,5-21,2	19,8 \pm 0,2	19,3-20,2	20,0-25,0	22,3 \pm 0,3	21,6-22,9	0,89	oblato-esferoidal

continuação

Espécies	Diâmetro 1		Diâmetro 2		Diâmetro polar			Diâmetro equatorial			forma	
	Faixa de variação	$\bar{x} \pm s_x$	Faixa de Variação	$\bar{x} \pm s_x$	Faixa de Variação	$\bar{x} \pm s_x$	IC 95%	Faixa de Variação	$\bar{x} \pm s_x$	IC 95%		P/E
<i>P. distichum</i>	37.5-45.0	42.1±0.5	17.5-22.5	21.1±0.3	17.5-25.0	21.5±0.3	20.9-22.1	17.5-22.5	21.1±0.3	20.5-21.7	1.01	Prolato- esferoidal
<i>P. irgangii</i>	37.5-46.2	39.7±0.4	17.5-22.5	19.6±0.2	17.5-22.5	20.0±0.2	19.5-20.4	17.5-22.5	19.6±0.2	19.1-20.0	1.02	Prolato- esferoidal
<i>P. muelleri</i>	43.8-47.5	46.3±0.3	20.0-25.0	22.7±0.2	21.5-23.8	23.5±0.2	22.9-23.9	20.0-25.0	22.7±0.2	22.3-23.1	1.03	Prolato- esferoidal
<i>P. ovatum</i>	57.5-60.0	58.3±0.4	20.0-25.0	22.5±0.4	27.5-30.0	29.3±0.4	28.4-30.1	20.0-25.0	22.5±0.4	21.7-23.3	1.30	subprolato
<i>P. rutifolium</i>	37.5-40.0	39.2±0.4	20.0-22.5	21.4±0.4	17.5-20.0	19.2±0.4	18.3-20.1	20.0-22.5	21.4±0.4	20.5-22.3	0.89	olbato- esferoidal
<i>P. saldanhanum</i>	45.0-55.0	50.3±0.4	25.0-30.0	28.3±0.3	20.0-30.0	26.0±0.4	25.1-26.9	25.0-30.0	28.3±0.3	27.6-28.9	0.91	olbato- esferoidal
<i>P. scaturiginum</i>	57.5-62.5	59.1±0.4	30.0-37.5	32.3±0.6	27.5-32.5	30.2±0.2	29.7-30.6	30.0-37.5	32.3±0.6	31.0-33.5	0.93	olbato- esferoidal
<i>P. weddellianum</i>	37.5-50.0	45.6±0.9	22.5-30.0	26.4±0.4	17.5-25.0	22.9±0.5	21.9-23.9	22.5-30.0	26.4±0.4	25.6-27.2	0.86	subolato

Tabela 6. Medidas (em μm) dos grãos de pólen de tétrades de espécies de Podostemaceae (n=25); (\bar{x}) - média aritmética; s_x – desvio padrão da média; IC - intervalo de confiança:

Espécies	Diâmetro 1		Diâmetro 2	
	Faixa de variação	$\bar{x} \pm s_x$	Faixa de Variação	$\bar{x} \pm s_x$
<i>Diamantina lombardii</i>	29,0-30,0	29,7 \pm 0,1	33,0-35,0	34,6 \pm 0,1
<i>Lophogyne lacunosa</i>	39,0-40,0	39,8 \pm 0,1	43,0-45,0	44,5 \pm 0,1

Tabela 7. Medidas (em μm) dos grãos de pólen em vista polar de espécies de Podostemaceae (n=10). DEVP = Diâmetro equatorial, LA = lado do apocolpo e IAP = índice da área polar:

ESPÉCIES	DEVP		LA		IAP	Área polar
	Faixa de Variação	\bar{x}	Faixa de Variação	\bar{x}		
<i>Apinagia fimbriifolia</i>	19,0-20,0	19,8	8,0-10,0	9,4	0,47	pequena
<i>A. fluitans</i>	18,0-20,0	18,5	4,0-5,0	4,1	0,22	muito pequena
<i>A. longifolia</i>	15,0-18,0	16,2	3,0-4,0	3,8	0,23	muito pequena
<i>A. nana</i>	21,0-23,0	22,1	6,0-8,0	6,8	0,31	pequena
<i>A. richardiana</i>	15,0-16,0	15,3	3,0-4,0	3,7	0,24	muito pequena
<i>A. riedelii</i>	10,0-12,5	10,5	2,5-5,0	2,7	0,26	pequena
<i>Autana andersonii</i>	18,0-20,0	19,4	5,0-6,0	5,7	0,29	pequena
<i>Diamantina lombardii</i>	20,0-21,0	20,2	5,0-6,0	5,3	0,26	pequena
<i>Jenmaniella cerathophylla</i>	22,0-23,0	22,9	5,0-6,0	5,1	0,22	muito pequena
<i>J. fimbriata</i>	22,0-24,0	22,8	5,0-6,0	5,2	0,23	muito pequena
<i>Lophogyne arculifera</i>	12,5-17,5	16,0	1,5-2,5	2,0	0,12	muito pequena
<i>Macarenia clavigera</i>	18,0-19,0	18,1	5,5-6,0	5,9	0,32	pequena
<i>Marathrum aeroginosum</i>	16,0-19,0	17,8	4,0-5,0	4,7	0,26	pequena
<i>M. cappillaceum</i>	19,0-21,0	19,8	4,0-5,0	4,5	0,23	muito pequena

<i>M. foeniculaceum</i>	16,0-17,0	16,3	4,0-6,0	5,7	0,35	pequena
<i>M. plumosum</i>	16,0-17,0	16,4	4,0-5,0	4,5	0,27	pequena
<i>Monostylis capillacea</i>	17,5-22,5	19,5	2,0-7,5	2,5	0,13	muito pequena
<i>Mourera elegans</i>	17,0-19,0	18,0	3,0-4,0	3,9	0,22	muito pequena
<i>M. fluviatilis</i>	17,0-18,0	17,1	3,0-4,0	3,1	0,18	muito pequena
<i>M. monadelpha</i>	20,0-22,0	21,0	3,0-5,0	4,0	0,19	muito pequena
<i>M. schwackeana</i>	17,0-23,0	19,1	4,0-5,0	4,2	0,22	muito pequena
<i>M. weddelliana</i>	20,0-25,0	21,9	5,0-6,0	5,9	0,27	pequena
<i>Noveloa couteriana</i>	20,0-21,0	20,6	4,0-5,0	4,7	0,23	muito pequena
<i>Oserya perpusilla</i>	17,0-20,0	19,0	4,0-5,0	4,7	0,25	pequena
<i>Rhyncholacis linearis</i>	15,0-20,0	17,2	2,0-3,5	2,7	0,16	muito pequena
<i>Weddellina squamulosa</i>	12,5-13,7	11,1	2,0-3,0	2,1	0,19	muito pequena

Tabela 8. Medidas (em μm) das aberturas e das camadas da exina dos grãos de pólen de espécies de Podostemaceae (n=10).

Espécies	colpo		Camadas da exina		
	comprimento	largura	exina	nexina	sexina
<i>Apinagia fimbriifolia</i>	17,5	4,9	1,0	0,5	0,5
<i>A. fluitans</i>	16,0	3,0	1,0	0,5	0,5
<i>A. longifolia</i>	15,3	3,0	1,0	0,5	0,5
<i>A. nana</i>	16,1	5,3	1,0	0,5	0,5
<i>A. richardiana</i>	14,7	3,3	1,0	0,5	0,5
<i>A. riedelii</i>	17,3	2,0	1,0	0,5	0,5
<i>Autana andersonii</i>	15,0	4,0	1,0	0,5	0,5
<i>Ceratolacis pedunculatum</i>	12,3	6,0	2,0	1,0	1,0

<i>Cipoia inserta</i>	22,0	2,0	1,9	0,9	1,0
<i>C. ramosa</i>	17,3	6,0	1,0	0,5	0,5
<i>Diamantina lombardii</i>	14,1	3,1	2,0	1,0	1,0
<i>Jenmaniella ceratophylla</i>	22,0	7,0	1,0	0,5	0,5
<i>J. fimbriata</i>	18,0	7,0	1,0	0,5	0,5
<i>Lophogyne lacunosa</i>	16,5	4,0	1,0	0,5	0,5
<i>Macarenia clavigera</i>	18,0	3,0	1,0	0,5	0,5
<i>Marathrum aeruginosum</i>	14,6	3,7	1,0	0,5	0,5
<i>M. cappillaceum</i>	15,5	8,2	1,0	0,5	0,5
<i>M. foeniculaceum</i>	12,3	3,0	1,0	0,5	0,5
<i>M. plumosum</i>	12,0	4,0	1,0	0,5	0,5
<i>M. cappillaceum</i>	15,5	8,2	1,0	0,5	0,5
<i>M. foeniculaceum</i>	12,3	3,0	1,0	0,5	0,5
<i>M. plumosum</i>	12,0	4,0	1,0	0,5	0,5
<i>Monostylis capillacea</i>	13,7	3,5	1,0	0,5	0,5
<i>Monostylis capillacea</i>	13,7	3,5	1,0	0,5	0,5
<i>Mourera elegans</i>	15,3	4,5	2,1	1,0	1,1
<i>M. fluviatilis</i>	16,9	5,5	1,0	0,5	0,5
<i>M. monadelpha</i>	20,0	3,0	1,0	0,5	0,5
<i>M. schuvakiana</i>	16,6	3,2	1,0	0,5	0,5
<i>M. weddelliana</i>	19,5	3,8	3,2	2,2	1,0
<i>Noveloa couteriana</i>	12,5	5,0	1,0	0,5	0,5
<i>Oserya perpusilla</i>	16,0	3,3	1,0	0,5	0,5
<i>P. ceratophyllum</i>	12,0	6,0	0,7	0,2	0,5
<i>P. comatum</i>	14,0	6,0	1,0	0,5	0,5
<i>P. distichum</i>	17,0	7,0	0,9	0,5	0,4

<i>P. irgangii</i>	11.6	4.7	1.0	0,5	0,5
<i>P. muelleri</i>	16.0	8.0	1.0	0,5	0,5
<i>P. ovatum</i>	18.0	5.0	1.5	0,5	1,0
<i>P. rutifolium</i>	10.0	7.0	1.0	0,5	0,5
<i>P. saldanhanum</i>	18.0	4.0	1.2	0,5	0,7
<i>P. scaturiginum</i>	16.0	5.0	1.0	0,5	0,5
<i>P. weddellianum</i>	16.0	4.0	1.0	0,5	0,5
<i>Rhyncholacis linearis</i>	22,2	3,8	1,0	0,5	0,5
<i>Weddellina squamulosa</i>	15,0	5,3	1,4	0,9	0,5

Tabela 9. Medidas (em μm) dos grãos de pólen, em vista equatorial, do material de comparação de espécies de Podostemaceae (n = 10).

Espécies	DP		DE		P/E	Forma
	Faixa de variação	x	Faixa de variação	x		
<i>Apinagia fimbriifolia</i>						
<i>C.P.Bove et al. 1741</i>	20,0-22,5	21,0	17,5-18,7	17,6	1,19	subprolata
<i>C.P.Bove et al. 2234</i>	20,0- 22,5	22,2	16,5-18,0	17,1	1,30	subprolata
<i>A. longifolia</i>						
<i>C.P.Bove et al. 1952</i>	21,7-22,0	21,7	11,0-12,0	11,7	1,85	prolata
<i>C.P.Bove et al. 1954</i>	21,0-23,0	22,2	11,0-13,0	12,1	1,83	prolata
<i>A.nana</i>						
<i>C.T.Philbrick 6203</i>	21,0-24,0	22,3	18,0-19,0	18,6	1,20	subprolata
<i>C.T.Philbrick 6222</i>	21,0-21,4	22,4	18,0-20,0	19,2	1,17	subprolata
<i>A. richardiana</i>						
<i>C.P.Bove 1945</i>	17,5-20,0	19,0	11,2-12,5	12,1	1,57	prolata
<i>M. Sobral Leite 511</i>	20,0-22,5	21,2	12,5-15,0	14,7	1,44	prolata
<i>A. riedelii</i>						
<i>C.P. Bove et al. 1035</i>	15,0-16,0	15,9	10,0-12,0	10,4	1,53	prolata
<i>C.P. Bove et al. 1166</i>	13,0-14,0	13,6	8,0-11,0	8,2	1,66	prolata
<i>Autana andersonii</i>						
<i>C.T.Philbrick 5875</i>	21,0-22,0	21,4	15,0-17,0	16,0	1,34	prolata
<i>C.T.Philbrick 5867</i>	21,0-22,0	21,3	15,0-17,0	15,9	1,34	prolata

<i>Ceratolacis pedunculatum</i>							
<i>C.P.Bove et al. 2199</i>	22,0-24,0	22,9	30,0-33,0	31,3	0,73	oblata	
<i>Cipoia inserta</i>							
<i>C.P.Bove et al. 2032</i>	19,0-21,0	20,3	24,0-26,0	25,2	0,80	suboblata	
<i>C.P.Bove et al. 2202</i>	19,5-22,0	21,0	24,5-25,5	25,0	0,84	suboblata	
<i>C. ramosa</i>							
<i>C.P.Bove et al. 2251</i>	20,0-25,0	23,2	15,0-20,0	18,3	1,26	subprolata	
<i>Diamantina lombardii</i>							
<i>Mace et al. 927</i>	20,0-22,5	21,0	15,0-17,5	16,9	1,21	subprolata	
<i>Jenmaniella fimbriata</i>							
<i>C.T. Philbrick 6229</i>	23,0-25,0	24,4	18,0-19,0	18,5	1,32	subprolata	
<i>Lophogyne lacunosa</i>							
<i>C.P. Bove et al. 1129</i>	17,5-25,0	20,2	14,0-17,0	15,8	1,28	subprolata	
<i>C.P. Bove et al. 1339</i>	19,0-24,0	22,3	17,0-19,0	18,0	1,14	subprolata	
<i>Marathrum aeroginosum</i>							
<i>C.T.Philbrick 6221</i>	18,0-20,0	19,4	14,0-16,0	15,0	1,29	subprolata	
<i>C.T.Philbrick 6309</i>	18,0-21,0	19,9	15,0-16,0	15,2	1,31	subprolata	
<i>M. cappillaceum</i>							
<i>C.P.Bove et al. 2218</i>	18,0-19,0	18,7	20,0-21,0	20,6	0,91	oblato- esferoidal	
<i>C.P.Bove et al. 2075</i>	18,0-19,0	18,4	20,0-22,0	21,0	0,88	oblato- esferoidal	
<i>M. foeniculaceum</i>							

<i>C.P. Bove et al. 1630</i>	19,0-20,0	19,9	14,0-15,0	14,9	1,33	prolata
<i>Monostylis capillacea</i>						
<i>C.P. Bove et al. 1486</i>	18,0-21,0	20,2	16,0-18,0	17,3	1,17	subprolata
<i>N.A. Rosa & N.R. Santos 2030</i>	15,0-17,0	16,4	17,0-20,0	18,0	0,91	oblato-esferoidal
<i>Mourera elegans</i>						
<i>C.P. Bove et al. 1718</i>	20,0-22,5	21,7	15,0-17,5	16,2	1,34	prolata
<i>M. fluviatilis</i>						
<i>C.P. Bove et al. 2293</i>	23,0-26,0	25,0	12,0-16,0	14,3	1,75	prolata
<i>C.P. Bove et al. 2285</i>	22,0-27,0	25,1	14,0-16,0	14,9	1,68	prolata
<i>M. weddelliana</i>						
<i>C.P. Bove et al. 2297</i>	22,0-24,0	22,6	13,0-15,0	14,0	1,61	prolata
<i>Noveloa couteriana</i>						
<i>C.P. Bove et al. 1634</i>	22,5-23,0	22,6	15,0-17,5	16,7	1,35	prolata
<i>Weddellina squamulosa</i>						
<i>C.P. Bove et al. 1492</i>	14,0-16,0	15,0	5,0-6,0	5,2	2,88	perprolata

Tabela 10. Proporção (%) em unidade dos grãos de pólen de espécies que apresentaram mônades, díades e tétrades de espécies de Podostemaceae (material não acetolizado e acetolizado).

Espécies	Material não acetolizado			Material acetolizado		
	Mônades	Díades	Tétrades	Mônades	Díades	Tétrades
<i>Ceratolacis pedunculatum</i>	-	100	-	-	100	-
<i>Cipoia inserta</i>	-	100	-	15	85	-
<i>Cipoia ramosa</i>	-	100	-	82	18	-
<i>Diamantina lombardii</i>	-	76	24	20	51	29
<i>Lophogyne lacunosa</i>	32	48	20	60	30	10

Tabela. 11 - Medidas (em μm) dos grãos de pólen, em vista equatorial, de espécies de *Hypericum* (n = 10). x-média aritmética; P/E – relação entre diâmetro polar e equatorial; CC- comprimento do colpo; LC-Largura do colpo; CE- comprimento da endoabertura; LE- Largura da endoabertura:

Espécies	Aberturas				DP	DE				P/E	Forma
	CC	LC	CE	LE	Faixa de variação	x	Faixa de variação	x			
<i>H. brasilienses</i>	21,5	4,0	3,0	1,0	25,0-27,0	26,0	18,0-20,0	19,0	1,37	prolata	
<i>H. formosum</i>	25	2,5	4,0	2,0	28,0-30,0	29,0	19,0-20,0	19,5	1,33	prolata	
<i>H. meridionale</i>	22,0	3,0	6,0	3,0	34,0-36,0	35,0	25,0-27,0	26,0	1,35	prolata	

Tabela. 12 - Medidas (em μm) dos grãos de pólen, em vista polar, de espécies de *Hypericum* (n = 10). x-média aritmética; Diâmetro equatorial (DEVP); lado do apocolpo (LA) e índice da área polar (IAP), MP- muito pequena:

Espécies	Camadas da exina			DEVP	LA			IAP	
	Exina	Nexina	sexina	Faixa de Variação	x	Faixa de Variação	x		
<i>H. brasilienses</i>	3,0	2,0	1,0	25,0-30,0	27,0	4,0-5,0	4,5	0,16	MP
<i>H. formosum</i>	2,0	1,0	1,0	19,0-22,0	20,0	3,0-5,0	4,0	0,20	MP
<i>H. meridionale</i>	2,0	1,0	1,0	20,0-22,0	21,0	4,0-6,0	5,0	0,23	MP

3.4 Análise multivariada

Na análise de componente principal (PCA) foram utilizados caracteres mensuráveis obtidos a partir de microscopia de luz. Os resultados para mostram 96,3% de variância cumulativa da análise (tab.11). O primeiro componente principal mostra 58,3% de variância, com os índices do diâmetro equatorial mais significativo. O segundo componente principal mostra 28,9% de variância e os maiores índices significativos são os de comprimento do colpo. O terceiro componente principal mostra 9,1% de variância, principalmente através dos índices de diâmetro polar e largura do colpo. Os índices dos valores para a variação da exina e do IAP não foram significativos, pois não influenciaram nas parcelas dos outros componentes principais (Tab. 13). No gráfico bidimensional de PCA (Fig. 10), que representa os eixos do primeiro e segundo componentes principais, os gêneros que apresentaram valores negativos (“scores”) no eixo de maior variância são: *Apinagia*, *Autana*, *Diamantina*, *Macarenia*, *Marathrum* (exceto *M. capillaceum*), *Mourera*, *Noveloa*, *Oserya*, *Rhyncholacis*, *Tristicha* e *Weddellina*; os com valores positivos são: *Ceratolacis*, *Cipoia*, *Jenmaniella*, *Lophogyne*, *Marathrum* (apenas *M. capillaceum*) *Monostylis* e *Podostemum*.

Na análise hierárquica de cluster utilizando caracteres quali-quantitativos (Tab. 3), os táxons estudados foram distribuídos em quatro grandes clusters (Fig.11). No dendrograma, dois grandes agrupamentos foram formados. No primeiro estão os clusters 1,2 e 3 onde a maioria dos representantes possuem grãos de pólen em mônades. No segundo está o cluster 4 onde todos os representantes possuem grãos de pólen em díades. *Tristicha trifaria* apesar de apresentar grãos de pólen em mônades, está externa aos clusters, pois esta espécie agrupa características polínicas exclusivas como aberturas poradas e grãos de pólen polares.

O Cluster 1 compreende espécies com grãos de pólen exclusivamente com ornamentação espinulada e com perfurações. É formado por *Lophogyne lacunosa*, *Marathrum aeroginosum*, *Marathrum foeniculaceum* e *Monostylis capillacea*, estas três últimas possuem colpo estreito. *Marathrum foeniculaceum* e *Monostylis capillacea* apresentam maior similaridade entre si, além do tipo de ornamentação e largura do colpo, também apresentam âmbito subtriangular. *Lophogyne lacunosa* e *Marathrum aeroginosum* apesar de possuírem grãos de pólen com âmbito subcircular como os dos clusters 3 e 4, no conjunto de características são mais similares às espécies do Cluster 1, assim agrupadas.

O cluster 2 é formado por espécies com grãos de pólen em mônades, de âmbito subtriangular, área polar muito pequena (exceto *Jenmaniella ceratophylla*) e ornamentação espinulada. Pertencem a este cluster *Apinagia nana*, *Autana andersonii*, *Diamantina lombardii*, *J.*

ceratophylla, *Macarenia clavigera*, *Marathrum plumosum* e *Rhyncholacis linearis* e todas as espécies de *Castelnavia*. Os grãos de pólen formadores das díades e tétrades de *Diamantina lombardii* apresentam similaridade com as mônades deste agrupamento quanto ao tipo de ornamentação espinulada e à área polar pequena. *Jenmaniella ceratophylla* é a única do cluster 2 que apresenta área polar muito pequena, no entanto é similar às outras espécies nos demais aspectos. O pólen de *Rhyncholacis linearis*, apesar de possuir âmbito subtriangular, difere quanto ao tamanho (médio) e apresenta área polar muito pequena. *Apinagia nana* e *M. plumosum* são as espécies de maior similaridade neste cluster. As espécies de *Castelnavia* apresentam maior similaridade com *Macarenia clavigera*, diferenciando apenas na presença de margem. *Weddellina squamulosa* ficou posicionada externamente ao cluster, pois seus grãos de pólen são colporados e com ornamentação rugulada, porém de âmbito subtriangular similar ao dos representantes deste cluster.

No cluster 3, representado pelo o maior número de espécies, os grãos de pólen são todos em mônades, de âmbito subcircular, exceto *Mourera elegans* (com âmbito circular). *Apinagia fimbriifolia* e *Jenmaniella fimbriata* são as únicas com ornamentação espinulada e grânulos neste cluster. O âmbito é a única característica que diferencia *M. elegans* de *M. fluviatilis*. Os grãos de pólen de *Apinagia riedelli* e *M. weddelliana* são similares, se diferenciando pela presença de margem nesta última. As demais espécies de *Apinagia* são similares a *Marathrum capilaceum*, diferenciando apenas na largura do colpo. *Mourera monadelpha*, *M. schwackeana*, *Noveloa coulteriana* e *Oserya perpusilla*, além das características principais que definem o cluster, são similares quanto à presença de margem ornamentada. O tamanho médio dos grãos de pólen em *M. monadelpha* é o que a diferencia das demais. Entre as espécies com margem ornamentada, *Mourera schwackeana* e *Oserya perpusilla* são as que possuem maior similaridade, pois não apresentaram diferenças nos caracteres analisados.

O cluster 4 agrupa os gêneros *Ceratolacis*, *Cipoia* e *Podostemum*, cujos grãos de pólen são exclusivamente em díades. São divididos em dois pequenos grupos, um com âmbito circular, onde *Ceratolacis* difere das demais espécies por possuir ornamentação rugulada e com outro com âmbito subcircular, onde *Cipoia* se diferencia das demais por possuir apenas uma abertura. *C. inserta* se diferencia de *C. ramosa* pela presença de margem. *Podostemum* foi o gênero de maior similaridade entre as espécies, diferenciando pelo tamanho pequeno com âmbito subcircular e médio com âmbito circular.

Tabela 13. Variância cumulativa e valores dos vetores da análise de componente principal (PCA) utilizando caracteres palinológicos de 40 táxons de Podostemaceae:

Eixo do Componente Principal	1	2	3
Variância Cumulativa (%)	58,3	28,9	9,1
Caracteres		Eixos	
comprimento da abertura	-0,065	0,775	0,6199
largura da abertura	0,1322	-0,01141	-0,1325
exina	0,01763	-0,0219	0,01156
IAP	-0,01872	-0,01665	-0,011885
Diâmetro Polar	0,3576	0,0648	-0,6964
Diâmetro equatorial	0,9211	-0,1766	0,3302
P/E	-0,03717	0,03891	-0,06276

Figura 10. Gráfico bidimensional representando as espécies de Podostemaceae em PCA. Nome das espécies abreviadas com primeiras duas/três letras do gênero e primeiras três/ quatro letras dos epítetos específicos. * = Díades, + = Mônades, Δ = Tétrades.

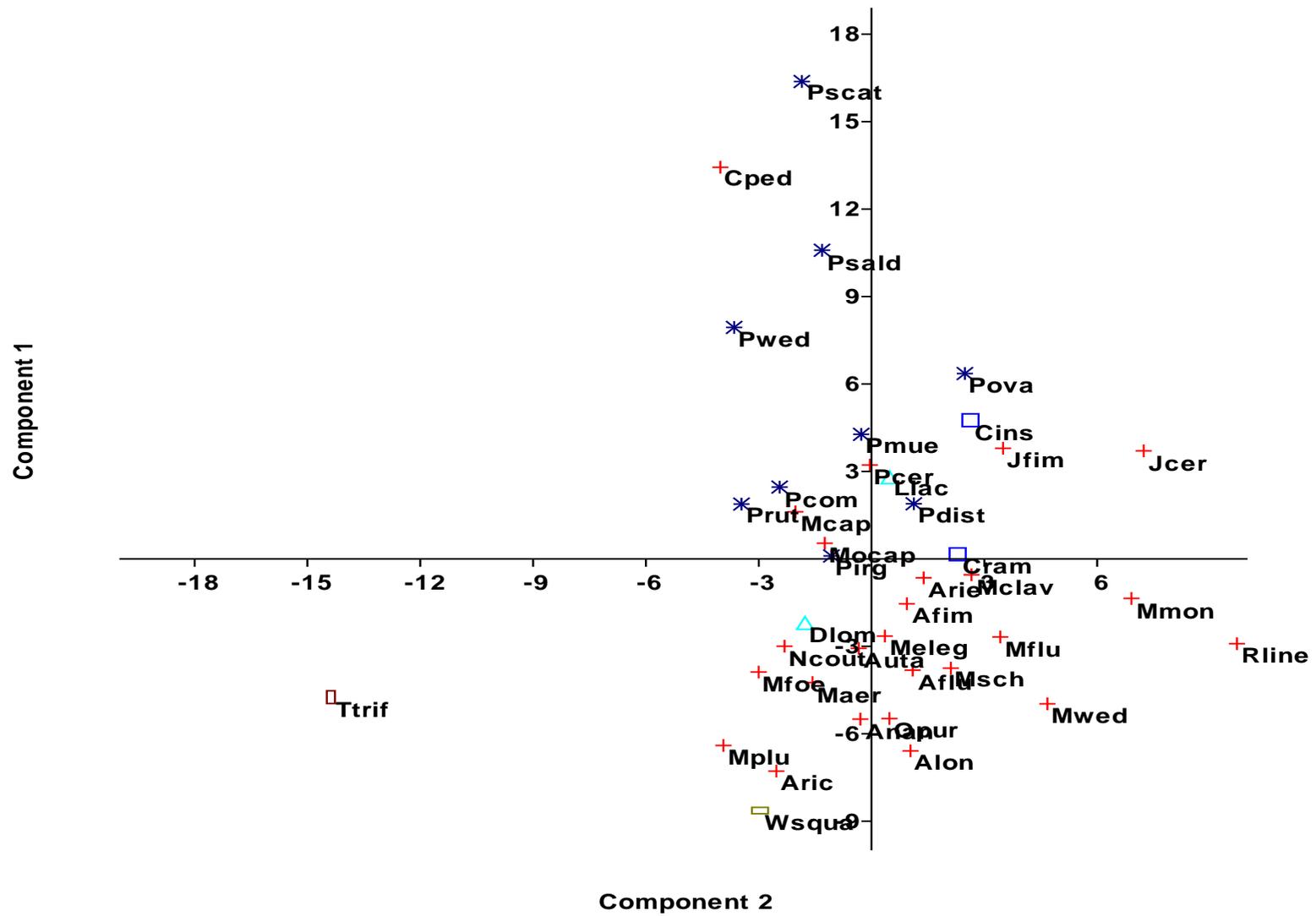
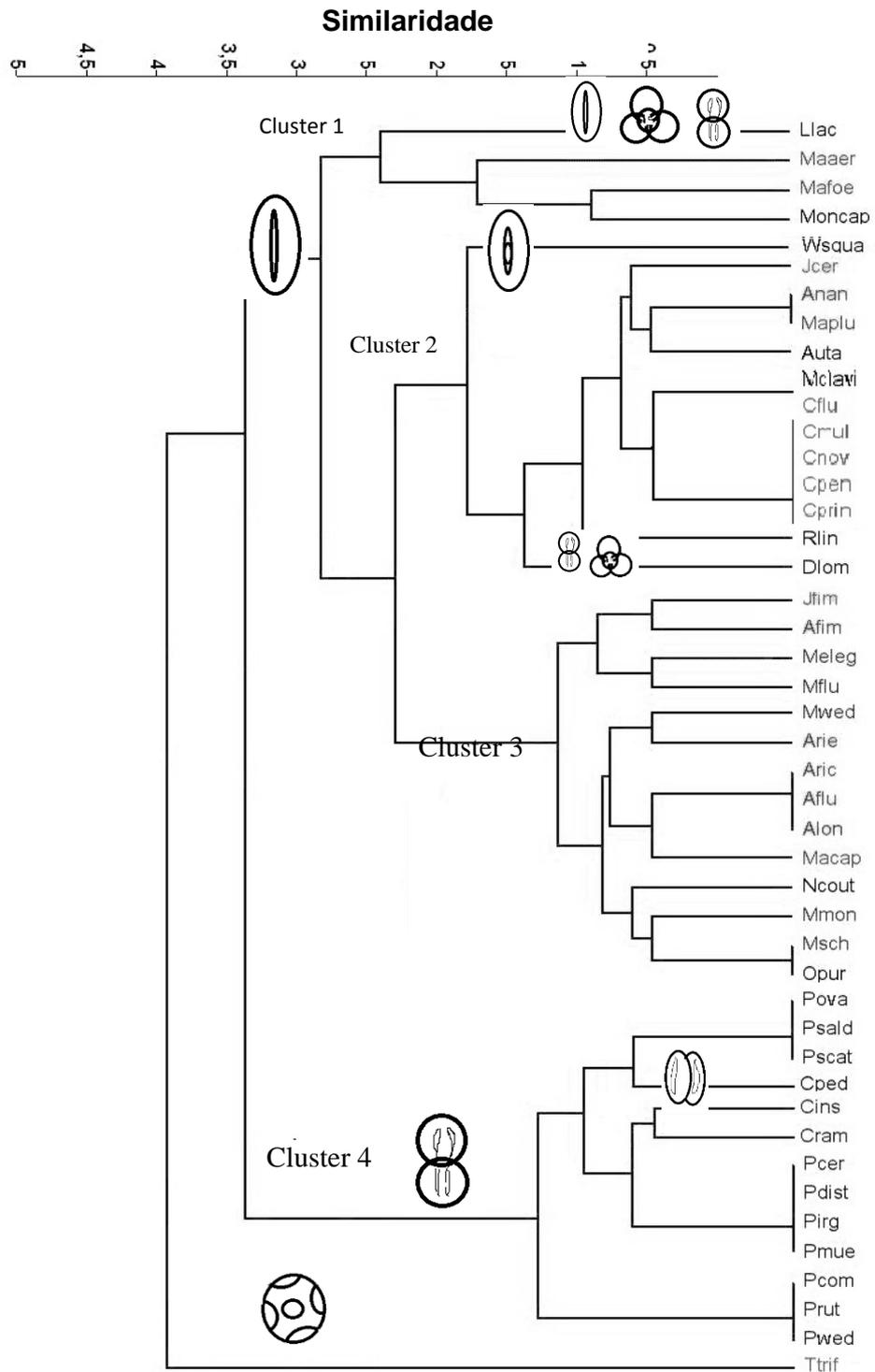


Figura 11. Dendrograma combinado de dados quantitativos e qualitativos (intervalo de confiança a 95%) por análise hierárquica de aglomeração (AHC). Nomes de espécies abreviadas com primeiras duas/três letras do gênero e primeiras três / quatro letras dos epítetos específicos.:



3.5 Evolução polínica dos gêneros neotropicais de Podostemaceae

Dos dados palinológicos obtidos nos tópicos 3.3 e 3.4, as variáveis polínicas foram plotadas na árvore de consenso da filogenia (Fig. 12). As espécies de Podostemaceae Neotropicais, *Macarenia clavigera* e *Marathrum cappilaceum*, foram incluídas na árvore de consenso de acordo com a similaridade polínica baseadas na análise multivariada de PCA e Cluster. Os caracteres otimizados no cladograma da filogenia de Podostemaceae e Hypericaceae são apresentados nas figuras 12-20 mostrando o traçado mais parcimonioso da evolução dos caracteres polínicos. A consistência do traçado evolutivo dos caracteres dos grãos de pólen referentes ao tamanho (Fig. 13), ao tipo de abertura (Fig. 14), à costa (Fig. 15), ao IAP (Fig. 16), à margem (Fig. 17), à ornamentação (Fig. 18), à polaridade (Fig. 19), à unidade polínica (Fig. 20) e ao âmbito (Fig. 21), e suas inferências nos grupos estão presentes na discussão.

Hypericaceae segundo os autores, é caracterizada por grãos de pólen em mônades, tricolpados ou tricolporados, presença de costa, variação na orientação da endoabertura, com ornamentação reticulada. A tribo Hypericeae apresenta grãos de pólen zonocolporados com endoabertura alongada. Em Cratoxyleae e Vismeeae a endoabertura é lalongada, nesta última a membrana apertural apresenta grânulos.

Tabela 14. Matriz de dados para caracteres polínicos em Podostemaceae e grupo externo. Tam. = tamanho, Polar. = polaridade, U.P.= unidade polínica, Orn. =ornamentação, Abert.= abertura, Amb = Âmbito, Endoab.= endoabertura (0 – ausente, 1- presente)

Espécie	Tam.	Polar.	U.P.	IAP	Orn.	Abert.	Amb	Margem	Costa
<i>Apinagia fimbriifolia</i>	0	0	0	1	1	0	1	0	0
<i>Apinagia fluitans</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Apinagia longifolia</i>	0	0	0	0	0	0	3	0	0
<i>Apinagia nana</i>	0	0	0	1	0	0	1	0	0
<i>Apinagia richardiana</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Apinagia riedelii</i>	0	0	0	1	0	0	1	0	0
<i>Autana andersonii</i>	0	0	0	1	0	0	3	1	0
<i>Castelnavia fluitans</i>	0	0	0	1	0	0	3	1	0
<i>Castelnavia monandra</i>	0	0	0	1	0	0	1	1	1
<i>Castelnavia mulpartita</i>	0	0	0	1	0	0	3	1	0
<i>Castelnavia noveloi</i>	0	0	0	1	0	0	3	1	0

continuação

Espécie	Tam.	Polar.	U.P.	IAP	Orn.	Abert.	Amb	Margem	Costa
<i>Castelnavia pendulosa</i>	0	0	0	1	0	0	3	1	0
<i>Castelnavia princeps</i>	0	0	0	1	0	0	3	1	1
<i>Ceratolacis pedunculatum</i>	0	0	1	1	2	0	0	0	0
<i>Cipoia inserta</i>	0	0	1	?	1	0	0	0	0
<i>Cipoia ramosa</i>	0	0	1	?	1	0	0	0	0
<i>Diamantina lombardii</i>	0	0	2	1	4	0	3	1	0
<i>Jenmaniella ceratophylla</i>	0	0	0	0	0	0	3	0	0
<i>Jenmaniella fimbriata</i>	0	0	0	0	1	0	1	0	0
<i>Lophogyne lacunosa</i>	0	0	2	0	4	0	1	0	0
<i>Macarenia clavigera</i>	0	0	0	1	0	0	3	1	0
<i>Marathrum aeroginosum</i>	0	0	0	1	4	0	1	1	0
<i>Marathrum capillaceum</i>	0	0	0	0	0	0	1	1	0
<i>Marathrum foeniculaceum</i>	0	0	0	1	4	0	3	1	0
<i>Marathrum plumosum</i>	0	0	0	1	0	0	3	1	0
<i>Monostylis capillacea</i>	0	0	0	0	4	0	3	1	0
<i>Mourera elegans</i>	0	0	0	0	0	0	0	0	0
<i>Mourera fluviatilis</i>	0	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Mourera monadelpha</i>	0	0	0	0	0	0	1	1	0
<i>Mourera schwackeana</i>	0	0	0	0	0	0	1	1	0
<i>Mourera weddelliana</i>	0	0	0	1	0	0	1	1	0
<i>Noveloa couteriana</i>	0	0	0	0	0	0	1	1	0
<i>Oserya perpusilla</i>	0	0	0	0	0	0	1	1	0
<i>Podostemum ceratophyllum</i>	0	0	1	1	0	0	2	0	0
<i>Podostemum comatum</i>	0	0	1	1	0	0	3	0	0
<i>Podostemum distichum</i>	0	0	1	1	0	0	2	0	0
<i>Podostemum irgangii</i>	0	0	1	1	0	0	2	0	0
<i>Podostemum muelerii</i>	0	0	1	1	0	0	2	0	0
<i>Podostemum ovatum</i>	1	0	1	1	0	0	0	0	0
<i>Podostemum rutfolium</i>	0	0	1	1	0	0	3	0	0
<i>Podostemum saldanhanum</i>	1	0	1	1	0	0	0	0	0

continuação

Espécie	Tam.	Polar.	U.P.	IAP	Orn.	Abert.	Amb	Margem	Costa
<i>Podostemum scaturiginum</i>	1	0	1	1	0	0	0	0	0
<i>Podostemum weddellianum</i>	0	0	1	1	0	0	3	0	0
<i>Rhyncholacis linearis</i>	1	0	0	0	0	0	1	0	0
<i>Tristicha trifaria</i>	0	2	0	0	0	2	0	0	0
<i>Weddellina squamulosa</i>	0	0	0	0	2	1	3	0	0
<i>Hypericum brasiliensis</i>	1	2	0	0	3	1	0	0	0
<i>Hypericum carpaticum</i>	1	0	0	1	3	1	3	0	1
<i>Hypericum formosum</i>	1	0	0	1	3	1	3	0	0
<i>Hypericum meredionale</i>	1	0	0	1	3	1	3	1	0
<i>Cratoxylon floribundum</i>	1	0	0	1	3	2	?	?	?
<i>Vismia mexicana</i>	1	0	0	1	3	2	?	?	?

Figura 12. Árvore de consenso dos gêneros neotropicais de Podostemaceae. Filogenias propostas por Philbrick & Novelo (2004), Moline *et al.* (2006), Tippetry *et al.* (2011), Philbrick *et al.* (2011) e Koi *et al.* (2012).

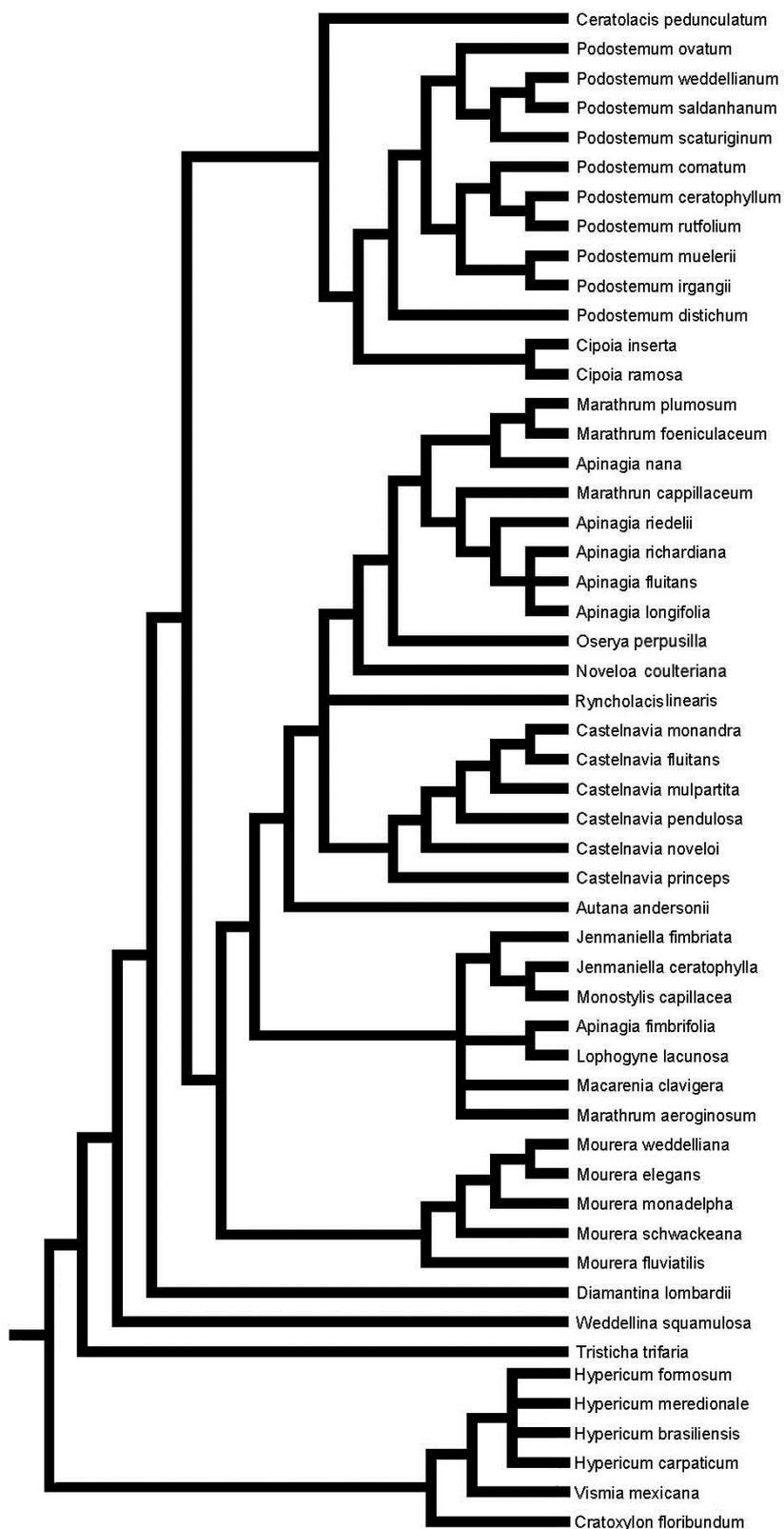


Figura 13. Filogenia de Podostemaceae e Hypericaceae mostrando o traçado mais parcimonioso da evolução do tamanho dos grãos de pólen. Filogenias propostas por Philbrick & Novelo (2004), Moline *et al.* (2006), Tippery *et al.* (2011), Philbrick *et al.* (2011) e Koi *et al.* (2012).

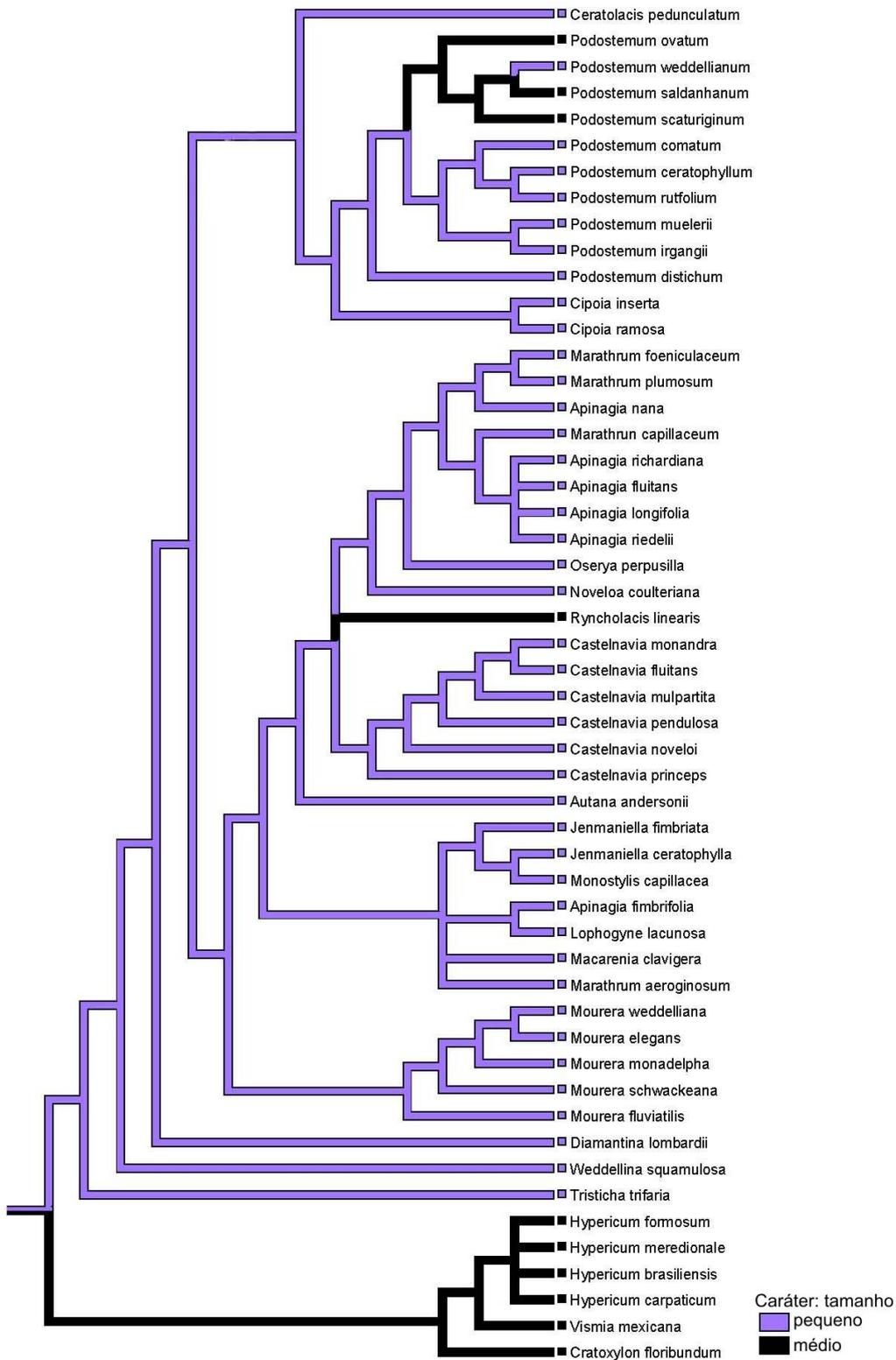


Figura 14. Filogenia de Podostemaceae e Hypericaceae mostrando o traçado mais parcimonioso da evolução do tipo de abertura dos grãos de pólen dos gêneros neotropicais de Podostemaceae. Filogenias propostas por Philbrick & Novelo (2004), Moline *et al.* (2006), Tippery *et al.* (2011), Philbrick *et al.* (2011) e Koi *et al.* (2012).

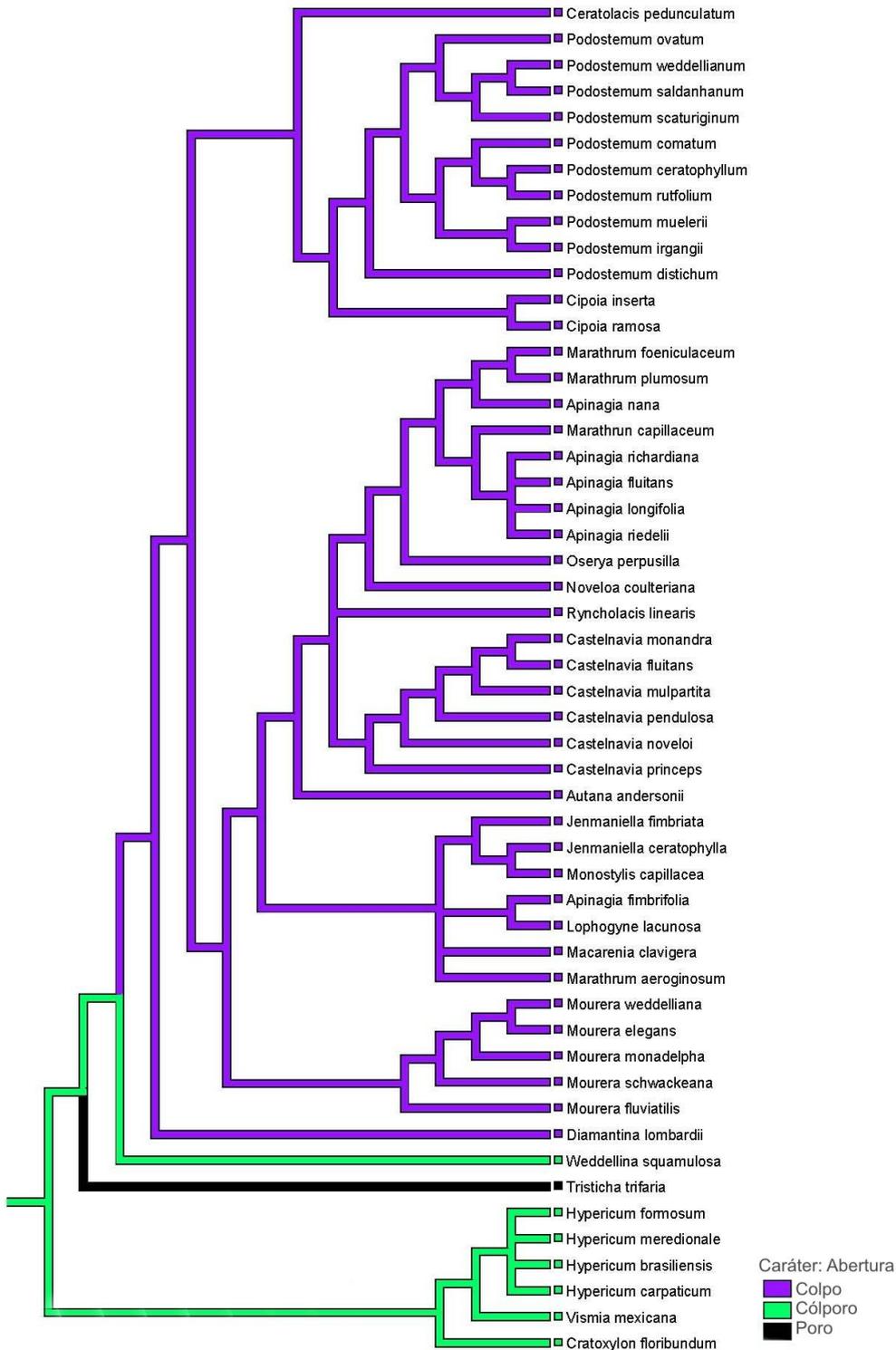


Figura 15. Filogenia de Podostemaceae e Hypericaceae mostrando o traçado mais parcimonioso da evolução da costa dos grãos de pólen dos gêneros neotropicais de Podostemaceae. Filogenias propostas por Philbrick & Novelo (2004), Moline *et al.* (2006), Tippery *et al.* (2011a), Philbrick *et al.* (2011) e Koi *et al.* (2012).

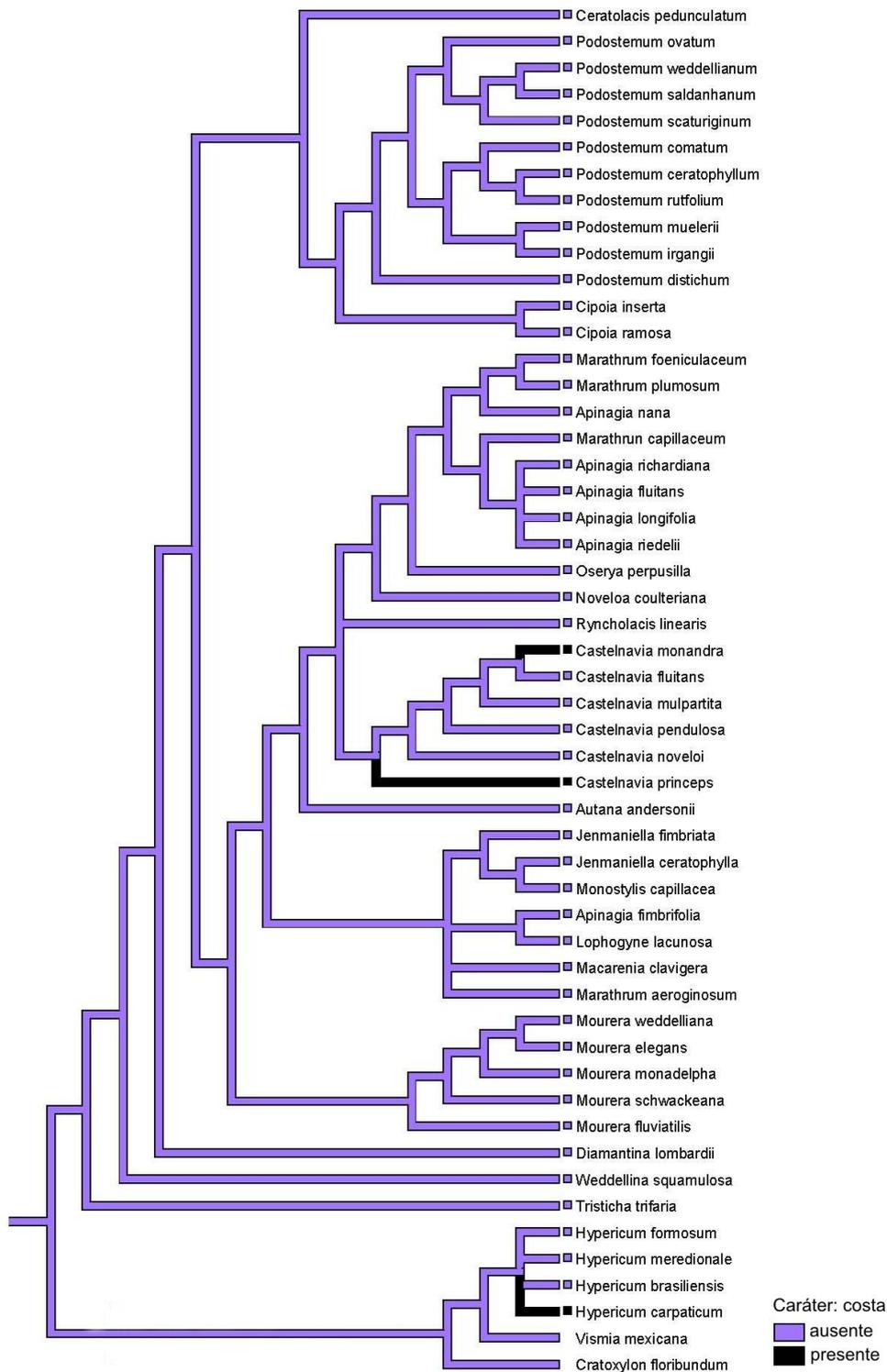


Figura 16. Filogenia de Podostemaceae e Hypericaceae mostrando o traçado mais parcimonioso da evolução da área polar (IAP) dos grãos de pólen dos gêneros neotropicais de Podostemaceae. Filogenias propostas por Philbrick & Novelo (2004), Moline *et al.* (2006), Tippery *et al.* (2011a), Philbrick *et al.* (2011) e Koi *et al.* (2012).

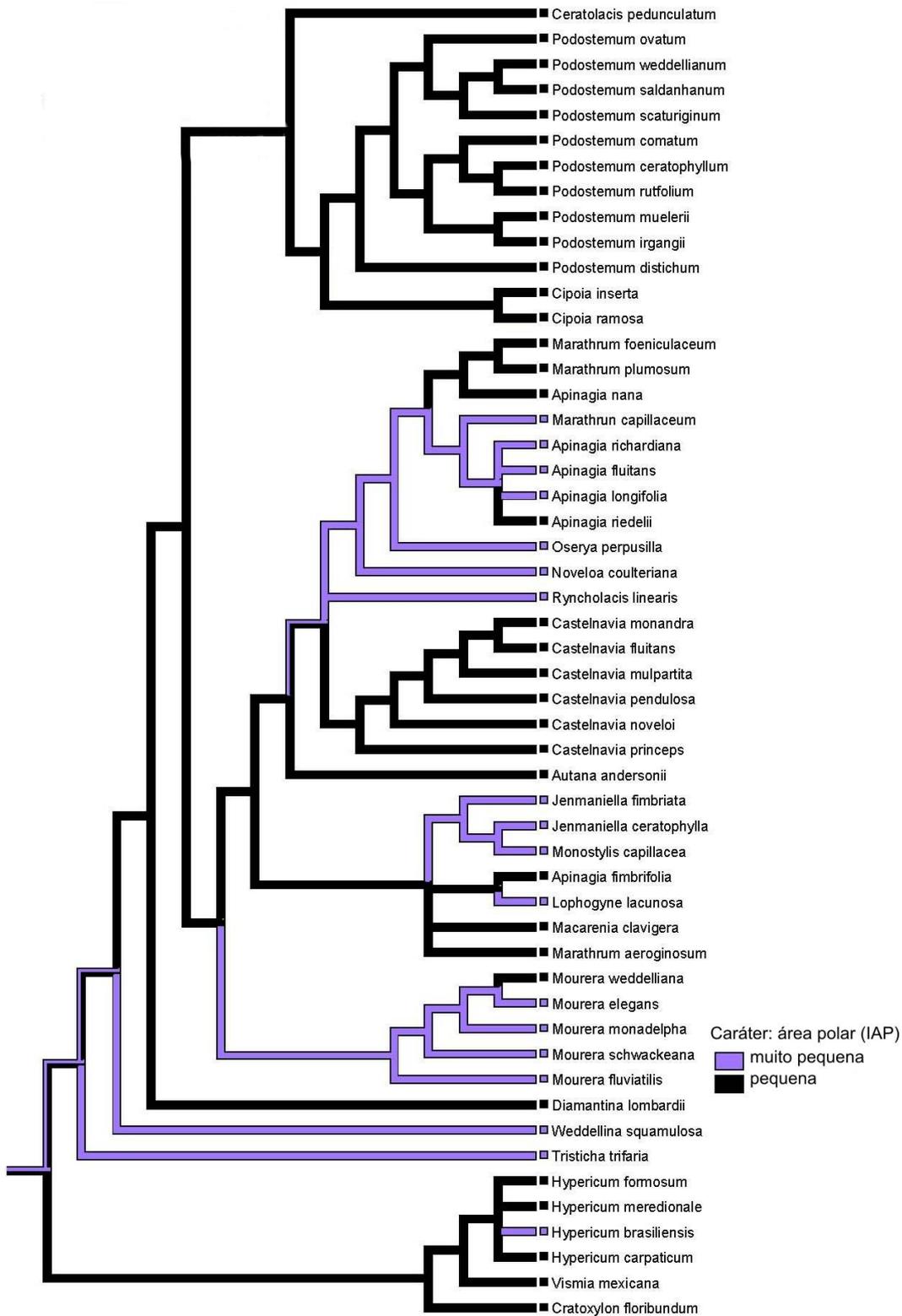


Figura 17. Filogenia de Podostemaceae e Hypericaceae mostrando o traçado mais parcimonioso da evolução da margem dos grãos de pólen dos gêneros neotropicais de Podostemaceae. Filogenias propostas por Philbrick & Novelo (2004), Moline *et al.* (2006), Tippery *et al.* (2011a), Philbrick *et al.* (2011) e Koi *et al.* (2012).

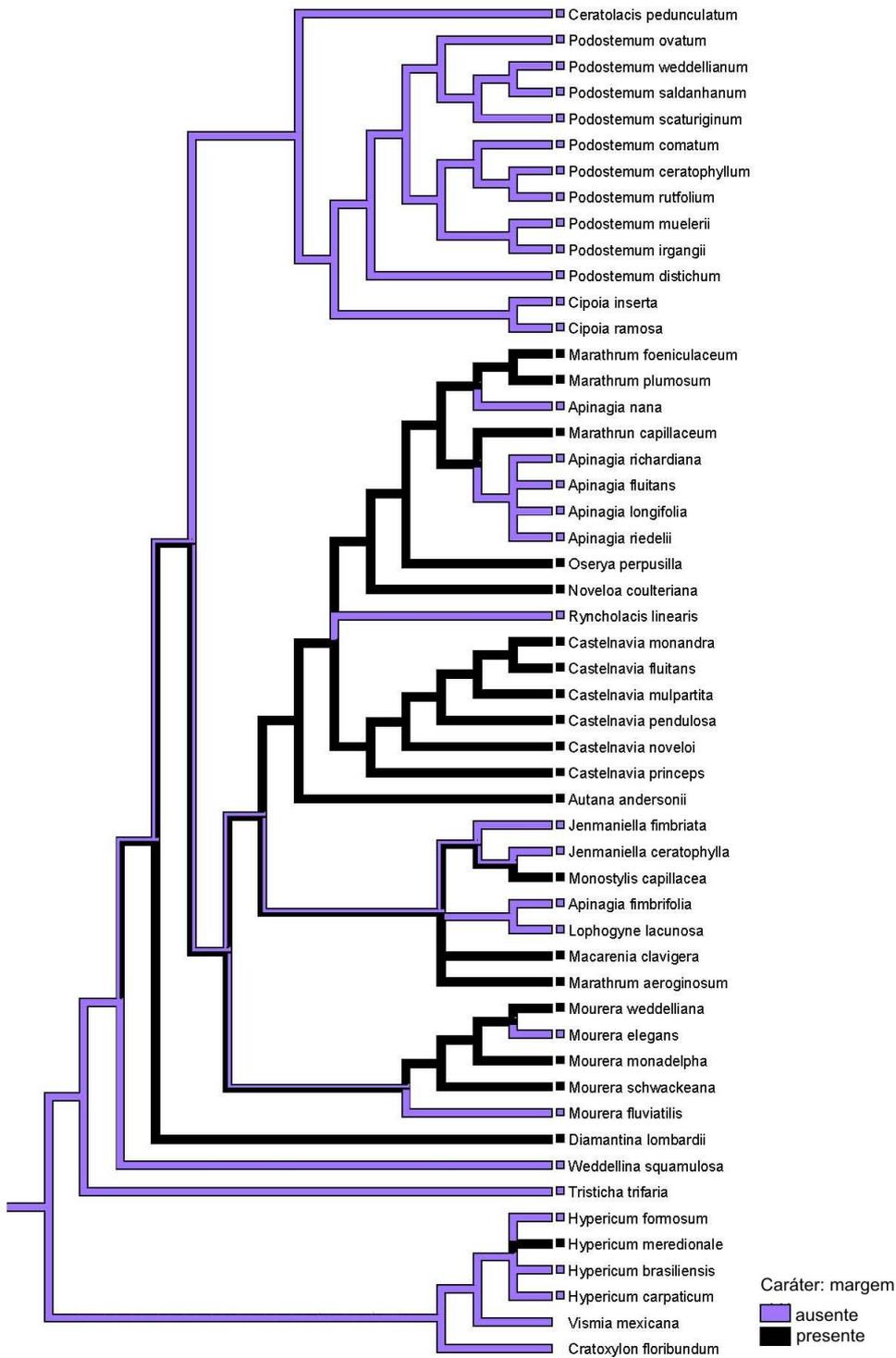


Figura 18. Filogenia de Podostemaceae e Hypericaceae mostrando o traçado mais parcimonioso da evolução da ornamentação dos grãos de pólen dos gêneros neotropicais de Podostemaceae. Filogenias propostas por Philbrick & Novelo (2004), Moline *et al.* (2006), Tippery *et al.* (2011a), Philbrick *et al.* (2011) e Koi *et al.* (2012).



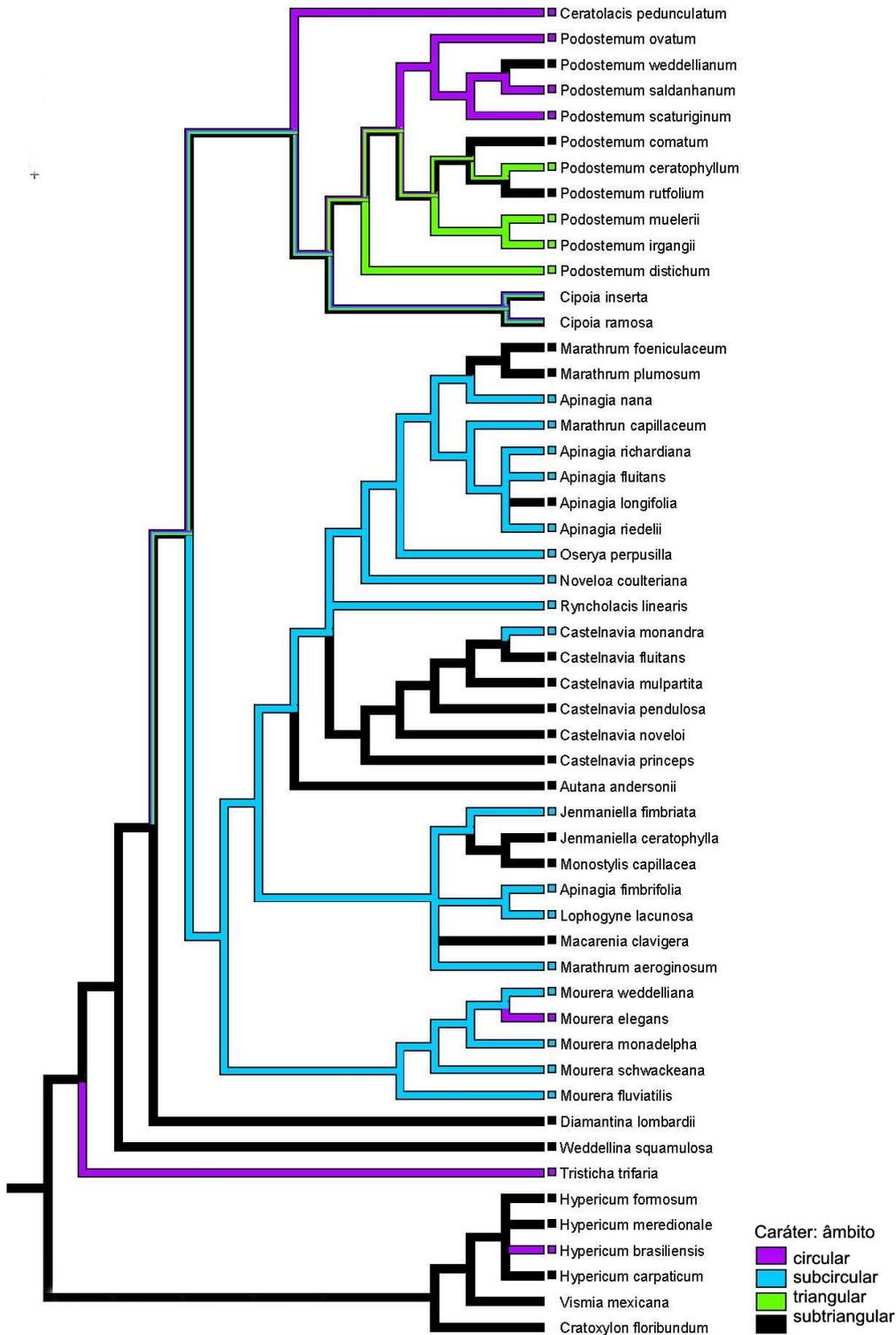
Figura 19. Filogenia de Podostemaceae e Hypericaceae mostrando o traçado mais parcimonioso da evolução da polaridade dos grãos de pólen dos gêneros neotropicais de Podostemaceae. Filogenias propostas por Philbrick & Novelo (2004), Moline *et al.* (2006), Tippery *et al.* (2011a), Philbrick *et al.* (2011) e Koi *et al.* (2012).



Figura 20. Filogenia de Podostemaceae e Hypericaceae mostrando o traçado mais parcimonioso da evolução da unidade de dispersão dos grãos de pólen dos gêneros neotropias de Podostemaceae. Filogenias propostas por Philbrick & Novelo (2004), Moline *et al.* (2006), Tippery *et al.* (2011a), Philbrick *et al.* (2011) e Koi *et al.* (2012).



Figura 21. Filogenia de Podostemaceae e Hypericaceae mostrando o traçado mais parcimonioso da evolução do tipo de âmbito dos grãos de pólen dos gêneros neotropicais de Podostemaceae. Filogenias propostas por Philbrick & Novelo (2004), Moline *et al.* (2006), Tippery *et al.* (2011a), Philbrick *et al.* (2011) e Koi *et al.* (2012).



4. DISCUSSÃO

4.1 Morfologia polínica e aspectos filogenéticos

Os grãos de pólen dos gêneros neotropicais aqui representados são capazes de delimitar as três subfamílias, confirmando a delimitação observada diversos autores, tais como, Erdtman (1952), Bezuidenhout (1964), Nair (1965), Vartak & Kumbhojkar (1984) e O'Neill *et al.* (1997). Os atributos palinológicos Podostemoideae está no presente estudo representada por 38 táxons subordinados a 15 gêneros (apenas *Wettsteiniola* Suess. não foi estudada devido à raridade de material), cujos grãos de pólen são 3-colpados, em mônades, díades e/ou tétrades. Weddellinoideae, subfamília monotípica representada por *Weddellina squamulosa* possui grãos de pólen em mônades, 3-colporados e Tristichoideae, representada por *Tristicha trifaria* (única espécie desta subfamília encontrada nos neotrópicos), apresenta grãos de pólen em mônades, pantoporados. Ruhfel *et al.* (2011) reconheceram na filogenia do clado das clusióides o monofiletismo das subfamílias proposta por Engler (1930), assim como observadas por Kita & Kato (2001) e Moline *et al.* (2007), entre outros. Os grãos de pólen dos representantes das três subfamílias aqui estudados também apoiam essa classificação.

A análise polínica das espécies de Podostemaceae Neotropicais mostra uma estabilidade morfológica e morfométrica, com grãos de pólen relativamente pequenos (15,1 – 28,1 μm). *Tristicha* foi o gênero que apresentou menores dimensões (15,1 μm) e o tamanho médio foi registrado em *Rhyncholacis* e para os grãos formadores de díades em *Podostemum*. No trabalho de Cook & Rutishauser (2007) os grãos de pólen foram descritos para Podostemaceae como relativamente pequenos, tipicamente esféricos a elipsóides. Concorda-se com os autores, pois as medidas dos grãos de pólen permeiam a faixa de variação de pequeno a médio e entre as formas esferoidais a prolatas. Grãos de pólen esferoidais também foram descritos por Vartak & Kumbhojkar (1984) quando estudaram seis espécies de Podostemaceae das Antilhas. Foram aqui observadas pequenas variações na forma dos grãos de pólen em gêneros de Podostemoideae, como em *Apinagia*, *Cipoia*, *Lophogyne* e *Podostemum*, mas, a variação da forma na mesma espécie ocorreu de modo pontual entre os gêneros.

Cook & Rutishauser (2007) descreveram a sexina de Podostemaceae como microequinada, tectado-granular e nexina lamelar e/ou granular em regiões não aperturais. A membrana ornamentada nos colpos possui espínulos maiores que a ornamentação das demais regiões da superfície do pólen. Esta diferença na ornamentação na membrana foi também observada por Passarelli *et al.* (2002) que a considerou como sendo grosseiramente granular.

Concorda-se com esta definição, pois muitas vezes os espínulos podem apresentar bases largas que os tornam semelhantes a grânulos, mas o ápice se mantém. Esse tipo de característica é comum nos grãos de pólen em Podostemaceae que apresentam membrana apertural ornamentada porém, foram considerados aqui como processos mamilóides quando o espínulo apresenta base alargada, individualizada e ápice acuminado. No presente estudo a ornamentação da membrana apertural foi descrita como sendo do tipo mamilóide nos gêneros *Apinagia* (Fig. 2 I), *Autana* (fig 3 B), *Marathrum* (Fig. 5 T) e *Mourera* (Fig. 6 F, T). Os demais gêneros apresentaram o padrão espinulado com espínulos sem base diferenciada, muitas vezes semelhantes a grânulos como em *Diamantina* (Fig. 4 F), *Cipoia* (Fig. 3 T) e *Jenmaniella* (Fig. 4 I). No entanto a base mais larga dos espínulos, tipicamente mamilóide foi observada apenas na membrana apertural destes táxons.

Em Podostemoideae, os grãos de pólen (díades bem como mônades) são tricolpados, e a exina espinulada (microequinada) é relatada por diversos autores (O'Neill *et al.*, 1997, Lobreau-Callen *et al.*, 1998, Cook & Rutishauser 2007, Passarelli *et al.*, 2010 Haiad Sá *et al.* 2010, Abreu *et al.* 2012). O padrão espinulado aqui observado é semelhante na maioria dos gêneros da subfamília. Grãos de pólen espinulados foram descritos em Podostemoideae neotropical, como por exemplo, em *Mourera* e *Marathrum* (Novelo & Philbrick, 1993; O'Neill *et al.*, 1997). Considera-se então que o tipo de ornamentação dos grãos de pólen não agrega valor diagnóstico para um gênero isolado, mas sim para toda a subfamília.

Os caracteres palinológicos de Weddelinoideae aqui analisados não apresentaram variações, e além do tipo de abertura (colporada) que a difere das outras subfamílias, também o tipo de ornamentação rugulada é diferenciada. Van Royen (1953) descreveu os grãos de pólen de *Weddellina squamulosa* como elipsoidais e tricolporados. Observou-se a forma prolata, assim como a descrita por Erdtman (1952). Esse tipo de ornamentação foi registrada apenas em *Ceratolacis* (Podostemoideae) que apresenta rúgulas inclusive na membrana apertural. No entanto em *Weddellina* a membrana apertural é psilada. Esse tipo de ornamentação também foi descrito por Van Royen (1953), Rutishauser (1997) e Lobreau-Callen *et al.* (1998). A endoabertura foi considerada pelos autores como circular ou elíptica, no presente estudo os exemplares analisados apresentaram apenas a forma lolongada. No único representante neotropical de Tristichoideae, *Tristicha trifaria* apresenta o padrão pantoporado e a forma esferoidal é semelhante aos dos outros representantes da subfamília, como *Indotristicha* e *Dalzellia* analisados por Lobreau-Callen *et al.* (1998) e Rutishauser (1997). O tipo de ornamentação é espinulado como em Podostemoideae, porém difere dos espínulos da membrana apertural, pois estes são menores do que os da região não apertural (Fig. 8-P).

Na análise multivariada, a variância cumulativa mostra que o primeiro componente principal (58,3%) é o mais significativo quando comparado com os outros dois componentes (28,9 e 9,1%, respectivamente). Isto mostra que os índices do diâmetro equatorial, o comprimento do colpo e os índices de diâmetro polar e da largura do colpo, são significativos. No gráfico bidimensional de PCA (Fig. 10) o eixo negativo está representado essencialmente por espécies cujos grãos de pólen são mônades, com exceção de *Diamantina lombardii* (díades e tétrades) e *Cipoia ramosa* (díades). Enquanto que o eixo positivo está representado, em sua maioria, por espécies cujos grãos de pólen são díades ou tétrades, com exceção de *Jenmaniella ceratophylla*, *J. fimbriata*, *Marathrum cappillaceum*, *Monostylis capillacea* e *Mourera monadelfa* que apresentam grãos de pólen em mônades. A disposição das espécies no gráfico de PCA indica que a variação morfométrica das mônades, assim como a das díades e tétrades, é similar quanto às variáveis significativas do primeiro e segundo componentes principais. Nos estudos de Erdtman (1952), Bezuidenhout (1964), Nair (1965) e O'Neill *et al.* (1997), o tipo de unidade de dispersão dos grãos de pólen foi utilizado para o reconhecimento das subfamílias. O resultado aqui obtidos na análise em PCA indicam que as dimensões dos diâmetros, das aberturas, do IAP e da exina mostraram ser características também capazes de promover as distinções entre os grupos. Na análise de cluster (AHC), o tipo de unidade de dispersão dos grãos de pólen foi importante para os agrupamentos. No entanto, cada cluster não possui apenas uma característica que os definem, mas sim uma combinação de similaridade entre os grupos.

De acordo com Tippery *et al.* (2011), foram identificados, no estudo filogenético, 11 clados dos quais os gêneros exclusivamente neotropicais, como *Apinagia* Tul. e *Marathrum* Bonpl. não são monofiléticos. O clado formado pela maioria das espécies de *Apinagia* é fortemente suportado, entretanto *A. nana* e *Apinagia fimbriifolia* se distanciaram das demais espécies do gênero. *A. nana* é grupo irmão do clado formado pela maioria das espécies de *Marathrum*. Em um outro clado com forte suporte mas de integridade morfológica incerta formado por espécies de *Jenmaniella*, *Lophogyne*, *Marathrum*, *Monostylis* e *Apinagia fimbriifolia*, apresentou uma localização distante das demais na filogenia por estar agrupada neste clado. No presente estudo, a similaridade entre os grãos de pólen do gênero reflete a filogenia, pois *A. nana* é palinologicamente similar a *Marathrum plumosum*, enquanto que *A. fimbriifolia* mostrou maior similaridade com *Jenmaniella fimbriifolia*; as espécies de *Lophogyne*, *Marathrum* e *Monostylis* ocuparam o mesmo cluster, indicando maior similaridade entre os grãos de pólen, como por exemplo, o padrão espinulado com perfurações, exclusivo desse grupo. *Apinagia* e *Jenmaniella* ocuparam juntos o cluster 2 e 3 (Fig. 11) em que os agrupamentos indicam similaridade entre esses gêneros.

No gênero *Apinagia*, foram estudadas seis espécies e a comparação entre os espécimes (Tabs. 4, 7 e 9) mostrou uma estabilidade morfométrica dos caracteres polínicos. Apenas *A. nana* apresentou variação na forma com grãos de pólen prolatos a subprolatos, enquanto que as outras espécies apresentaram a forma prolata. Passarelli *et al.* (2002) registram para o gênero grãos de pólen esferoidais para *A. riedelli*, aqui observados como prolatos. Erdtman (1952) descreveu os grãos de pólen de *A. longifolia* como subprolatos e prolatos em *A. richardiana*. A variação na forma e a não concordância em partes com os autores é aceitável, pois na análise multivariada (PCA e Cluster) a forma não mostrou ser um caráter significativo para a distinção entre as espécies. Quanto à ornamentação, Lobreau-Callen *et al.* (1998) e Passarelli *et al.* (2002) descreveram o padrão microequinado em *Apinagia*, com registros de perfurações e processos irregulares. No entanto os processos irregulares na ornamentação observados por Passarelli *et al.* (2002) são semelhantes aos aqui observados em *Rhyncholacis linearis* (Fig. 8K). Não foi observado no presente estudo outras características que venham a ser significativas para a similaridade polínica entre os dois gêneros. Apesar das análises palinológicas apresentarem uma estabilidade morfométrica, as características polínicas indicaram maior similaridade de *Apinagia* com espécies de *Marathrum* e *Mourera*. Na análise de cluster, espécies de *Apinagia* estão agrupadas com diferentes gêneros, mas principalmente com os citados acima (Fig. 11). No entanto, para esse tipo de análise, somente a similaridade entre os dados qualitativos não foram suficientes para diferenciá-las estatisticamente. Foi necessária então, uma interpretação combinada dos dois gráficos, pois apesar do alto grau de similaridade, os dados morfométricos foram fundamentais para a distinção palinológica das espécies. Mesmo com curtos intervalos entre as mensurações devem-se considerar os espaços distintos ocupados nos gráficos de dispersão de acordo com índices significativos para cada componente principal (Fig. 10).

Em *Marathrum* foram estudadas quatro espécies, das quais na análise de cluster (AHC) ficaram distribuídas nos clusters 1, 2 e 3 (Fig. 11). Isto evidencia que a palinologia do grupo corrobora com a filogenia proposta, pois o gênero não é monofilético. O'Neill *et al.* (1997), descreveram padrões de ornamentação semelhantes aos de *Apinagia* em *Marathrum* (incluindo *Vanroyenella*) e *Oserya*. Nos cinco táxons do Novo Mundo estudados por O'Neill *et al.* (1997): *Marathrum rubrum*, *M. plumosum* = *Vanroyenella plumosa*, *Noveloa coulteriana* = *Oserya couteriana*, *Podostemum ceratophyllum*, *Tristicha trifaria*, o padrão espinulado (microequinado) foi relatado. Também foram observados elementos mamilóides considerados como sendo “almofadados” na base e com ápice pontiagudo presentes na região não apertural. Esta variação foi descrita pelos autores para diferenciar o tipo de ornamentação microequinada de *Marathrum* e *Oserya* das apresentadas por *Tristicha* e *Podostemum*. Concorda-se com os resultados dos autores,

pois nas análises aqui realizadas, espécies de *Marathrum*, *Noveloa*, *Oserya* apresentam similaridade polínica, como registrado no cluster 3 do dendrograma (Fig. 11).

Oserya (*sensu* Royen 1954) para se tornar monofilético foi desmembrado em *Noveloa* e *Oserya*, que ocupam distribuição geográfica distinta. A primeira é composta de espécies mexicanas (América do Norte) e a segunda de espécies da América do Sul. Diferenças entre os grãos de pólen dos dois gêneros foram aqui observadas na largura do colpo. O'Neill *et al.* (1997) registram para *Noveloa couteriana* (= *Oserya coulteriana*) grãos de pólen pentacolpados, característica não observada nos espécimes aqui analisados.

O gênero monotípico *Autana* (*A. andersonii*), recentemente descrito por Philbrick *et al.* (2011), foi fortemente apoiado como o grupo irmão dos clados de *Marathrum* e *Castelnavia*. As análises polínicas de *A. andersonii* corroboram as relações filogenéticas pois, há similaridade nos grãos de pólen entre os gêneros relacionados, como o âmbito subtriangular, a área polar pequena, a presença de margem espessa semelhante a *Castelnavia* e colpos largos como os de *Marathrum*. Os grãos de pólen de *Autana* apresentaram maior similaridade polínica com *Macarenia clavigera* no cluster 2 (Fig. 11), diferenciando apenas na presença de margem. Esta característica foi observada nos grãos de pólen dos gêneros *Castelnavia*, *Diamantina*, *Marathrum*, *Monostilys*, *Mourera*, *Noveloa*, *Oserya*, e *Rhyncholacis*, não conferindo, portanto, um valor filogenético a este caráter. Detalhes sobre a presença de margem ornamentada em *Castelnavia* são relatados por Abreu *et al.* (2012). Para Philbrick *et al.* (2011), *Rhyncholacis* está relacionado ao clado de *Castelnavia* e são gêneros monofiléticos. Em nossas análises os dois gêneros estão agrupados no cluster 2 (Fig.11). *Castelnavia* foi o grupo de maior similaridade entre as espécies, corroborando o monofilétismo do gênero.

No gênero *Ceratolacis*, os grãos de pólen são em díades semelhantes às presentes em *Podostemum*, mas difere no tipo de ornamentação (rugulada). Grãos de pólen em díades também foram observados por Philbrick *et al.* (2004) em *Ceratolacis pedunculatum*. No trabalho aqui realizado, os gêneros que possuem díades são: *Ceratolacis*, *Cipoia*, *Diamantina* e *Lophogyne*, os dois últimos gêneros, apresentam também, grãos de pólen em tétrades. Segundo Rutshauser (1997), os grãos de pólen de Podostemoideae incluindo todos os gêneros de Podostemoideae asiáticos, estão dispostos em díades. Este tipo de unidade de dispersão é característico de espécies representantes do clado do Velho Mundo, entretanto, estes gêneros neotropicais em todas as análises filogenéticas de Podostemaceae (Tippery *et al.* 2011, Philbrick *et al.* 2011 e Koi *et al.* 2012) são considerados uma exceção por pertencerem ao clado do Velho Mundo. O estudo polínico aqui realizado corrobora a topologia apresentada nas filogenias (Fig. 12), pois na análise de cluster (AHC), *Ceratolacis*, *Podostemum* e *Cipoia*, formam um grupo onde todos os

representantes possuem exclusivamente grãos de pólen em díades. Nos três gêneros as díades são acalimadas, no entanto características marcantes os diferenciam. Pode-se destacar o tipo de ornamentação, pois *Ceratolacis* apresenta a sexina rugulada, *Cipoia* tem o padrão espinulado semelhante a grânulo, algumas vezes com perfurações. *Podostemum* também apresenta ornamentação espinulada, mas seus espínulos são do tipo mamilóide e as unidades formadoras das díades são unidas por pontes de sexina. A filogenia deste grupo indica que *Cipoia*, *Ceratolacis* e *Podostemum* estão relacionados às espécies do clado das Paleotropicais. Se considerar a unidade polínica, a relação deste gênero no grupo também é sustentada.

Interessantes peculiaridades de *Cipoia* foram observadas como a presença de díades unidas pela região do equador e com apenas uma única abertura em cada grão de pólen formador da díade. Esta morfologia é característica de grãos de pólen em monocotiledôneas (Walker & Doyle 1975; Zavada 1983). No entanto, observa-se que neste gênero, as aberturas estão posicionadas na região equatorial, e assim como nos demais grãos de pólen em Podostemoideae apresentam âmbito circular, diferentes das monocotiledôneas em que a abertura está posicionada na região polar do grão de pólen. A composição desta díade é desconhecida em outros representantes de todas as angiospermas, sendo aqui relatada pela primeira vez.

Com o objetivo de traçar uma linha evolutiva dos estados dos caracteres polínicos em Podostemaceae, à luz da filogenia, os aspectos da evolução polínica são discutidos a seguir baseados na árvore de consenso (Fig.12).

4.2 Evolução polínica dos gêneros neotropicais de Podostemaceae

4.2.1 Tamanho

Grãos de pólen pequenos estão representados pela maioria dos gêneros em Podostemaceae, sendo médios apenas em *Ryncholacis* e nas unidades formadoras das díades de *Podostemum* (em *P. ovatum*, *P. saldanhanum* e *P. scaturiginum*). Hypericaceae, grupo externo, é caracterizada por possuir grãos de pólen de tamanho médio. De acordo com Furness (2012) grãos de pólen pequenos a médios ocorrem em diversos gêneros do clado das clusióides, como por exemplo em Bonnetiaceae, Calophyllaceae, e Clusiaceae. Como representado na figura 13, os grãos de pólen pequenos são uma sinapomorfia da família Podostemaceae, derivado de grãos de pólen de tamanho médio (a presença de tamanho médio em Hypericaceae infere que esse estado de caráter é plesiomórfico). A redução no tamanho dos grãos de pólen pode ser atribuído a adaptações às pressões do ambiente aquático.

4.2.2 Abertura e costa

Em Podostemaceae o tipo de abertura caracteriza as subfamílias (Ruhfel *et al.* 2011). Lobreau-Callen *et al.* (1998) sugeriram que grãos de pólen pantoporados da subfamília Tristichoideae seria um caráter apomórfico derivado de grãos de pólen tricolporados em *Weddellina*, assim como também teria dado origem aos grãos de pólen tricolpados de Podostemoideae. Concorde-se, em parte, com os autores que aberturas em poro de Tristichoideae tenham sido derivadas de grãos de pólen colporados, entretanto não provenientes de Weddellinoideae, mas do ancestral comum (Hypericaceae + Podostemaceae), tendo Weddellinoideae permanecido com o estado plesiomórfico deste caráter. Grãos de pólen colpados e porados são derivados dos cólporos. O estado de caráter porado caracteriza uma apomorfia em Tristichoideae e o colpado uma sinapomorfia em Podostemoideae (Fig. 14).

Segundo Furness (2012), as aberturas tricolporadas são plesiomórficas no clado das clusióides e caracterizam também as aberturas de Bonnetiaceae e Calophyllaceae e Hypericaceae. De acordo com a autora Weddellinoideae está mais estreitamente relacionada com Hypericaceae do que com Tristichoideae, pois apresentam aberturas tricolporadas. No presente estudo considera-se a semelhança dos grãos de pólen de Weddellinoideae com Hypericaceae apenas quanto à presença de endoabertura. Sendo este um caráter plesiomórfico não pode, conceitualmente demonstrar relações de parentesco, apenas que *Weddellina* foi o único gênero que manteve este caráter do ancestral.

Com relação às variações no número das aberturas dos grãos de pólen das angiospermas, algumas hipóteses sobre a morfologia polínica tem sido exploradas, entre elas está a de que a evolução conduziu para o aumento no número de aberturas para melhorar a probabilidade de germinação (Dajoz *et al.*, 1991; Furness & Rudall, 2004). Em Podostemaceae observa-se que os grãos pantoporados foram derivados de grãos tricolporados, devido ao aumento no número de abertura, mas esta apomorfia ocorreu apenas em Tristichoideae, enquanto que as outras subfamílias permaneceram com três aberturas. Segundo Furness & Rudall (2004), para facilitar a chegada do grão de pólen no estigma ocorreu a mudança da posição da abertura do eixo polar para o eixo equatorial. E, que esta estratégia teve maior sucesso nas eudicotiledôneas do que nas angiospermas basais.

No gênero *Cipoia* observou-se uma redução no número de aberturas de tricolpado para monocolpado nos grãos formadores da díade. Não há registros para esse tipo polínico de díade, acredita-se que a redução deve ter ocorrido pela pressão do ambiente aquático.

Dos gêneros neotropicais, *Castelnavia* é o único que apresenta grãos de pólen com costa em apenas duas de suas espécies (Abreu *et al.* 2012). Considera-se que a costa surgiu de forma independente nos grãos de pólen desses representantes (Fig. 15). Este estado de carácter foi relatado pontualmente em grãos de pólen de diferentes famílias de angiosperma, inclusive nas que pertencem ao clado das clusióides, como em Bonnetiaceae, Clusiaceae e Hypericaceae (Seetharam 1985), como aqui evidenciado em *H. carpaticum*, porém não mostrou ser um caráter que infere relações filogenéticas.

4.2.3 Área Polar (IAP) e âmbito

Grãos de pólen com área polar pequena presente em *Apinagia*, *Autana*, *Castelnavia*, *Diamantina Macarenia* e *Marathrum*. Ocorre também no clado dos gêneros neotropicais relacionado às Paleotropicais, com grãos de pólen exclusivamente em díades, como *Ceratolacis* e *Podostemum*. O gênero *Cipoia*, por ser monocarpado, não possui área polar, e sua representação como de área polar pequena (Fig. 16) é uma artificialidade criada pelo programa que gerou o cladograma. Este estado de carácter é uma condição plesiomórfica em Podostemaceae, pois está presente também em representantes de Hypericaceae. Grãos de pólen com área polar muito pequena representa uma sinapomorfia para Weddellinoideae e Tristichoideae. Em Podostemoideae surgiu independentemente no clado *Mourera* (com reversão em *M. weddelliana*), em *Apinagia fluitans* + *A. longifolia* + *A. richardiana*, em *Lophogyne*, em *Jenmaniella* + *Monostylis*, em *Rhyncholacis* + *Oserya* + *Noveloa*, e em *Marathrum cappilaceum*. Os menores índices de área polar (IAP) foram apresentados por estes dois últimos gêneros. A diminuição da área polar indica que o aumento no tamanho dos colpos é uma tendência evolutiva em Podostemaceae.

O âmbito subtriangular dos grãos de pólen em Podostemaceae é o estado plesiomórfico do carácter. Os grãos de pólen de âmbito subcircular caracterizam uma sinapomorfia e foram derivados dos subtriangulares. Enquanto que os âmbitos circulares e triangulares são apomórficos e surgiram independente em Podostemoideae e Tristichoideae.

4.2.4 Ornamentação e margem

Grãos de pólen com ornamentação espinulada é uma sinapomorfia em Podostemaceae, já o tipo rugulado de *Weddellina* e *Ceratolacis* é uma autapomorfia que surgiu de forma independente (Fig.18). A presença de grânulos associados aos espínulos é uma apomorfia presente

em *Apinagia fimbriifolia*, *Jenmaniella fimbriata* e no gênero *Cipoia*. Para O'Neill *et al.* (1997) e Osborn *et al.* (2000) a ornamentação tipicamente granular pode ser uma adaptação para o hábito aquático. Concorde-se com os autores pois algumas vezes os gêneros podem apresentar grânulos associados aos espínulos, ou perfurações entre os espínulos, muitos são de difícil visualização, podendo ser identificados apenas nos detalhes das superfícies em MEV, como por exemplo em *Apinagia fimbriifolia* (Fig. 2 D). A presença de margem é uma sinapomorfia de Podostemoideae, com reversão no clado “paleotropical” (*Ceratolacis*, *Cipoia* e *Podostemum*), em todas as espécies de *Apinagia* (mesmo as não relacionadas entre si), *Jenmaniella*, *Lophogyne*, duas espécies de *Mourera* e *Rhyncholacis*. (Fig. 17).

4.2.5 Polaridade e Unidade de dispersão

Grãos de pólen apolares representam uma autapomorfia em Tristichoideae derivados de grãos isopolares (Fig. 19). Quanto à unidade de dispersão, grãos de pólen em díades é uma sinapomorfia do clado “paleotropical” (*Ceratolacis*, *Cipoia* e *Podostemum*), que surgiu independentemente em *Diamantina*, grupo basal de Podostemoideae, sendo que neste táxon os grãos de pólen se apresentam tanto em díades quanto em tétrades. *Lophogyne* é o único gênero que apresenta os grãos em mônades, díades e tétrades (Fig. 20). Grãos de pólen em díade são raríssimos nas angiospermas, conhecidos apenas em Podostemaceae e Scheuchzeriaceae (Walker & Doyle, 1975), ocasionalmente as díades também foram reportadas em algumas famílias como Ericaceae (como Pyrolaceae em Erdtman, 1952) e em *Mimosa* L. (Leguminosae - Mimosoideae) (Lima *et al.*, 2008). A diversidade na unidade de dispersão, aqui relatada para algumas espécies, pode ser artificialmente obtida através do tratamento acetolítico, como no gênero *Cipoia* e *Diamantina* cujas mônades foram resultado deste tratamento.

5. CONCLUSÃO

Em Podostemaceae a diversidade dos atributos palinológicos aqui apontados são apresentados numa abordagem holística dos gêneros neotropicais. Além de inéditos para a maioria dos táxons, a integração destes dados polínicos com as hipóteses filogenéticas recentemente publicadas, possibilitaram traçar a evolução destes caracteres dentro da família, assim como propor novas sinapomorfias para os clados.

A caracterização da morfologia polínica dos gêneros neotropicais de Podostemaceae permitiu analisar a similaridade entre as espécies. Destas foi possível caracterizá-las quanto ao tamanho, à polaridade, às diferentes unidades polínicas de dispersão, aos índices da área polar (IAP), ao tipo de ornamentação, aos tipos de aberturas e à quantidade das mesmas, aos tipos de âmbitos e à presença ou ausência de margem ornamentada.

Dos caracteres polínicos analisados, o tipo de abertura (poro, colpo e cólporo) permite distinguir as subfamílias. No entanto, para distinguir os gêneros é necessário um conjunto de atributos polínicos. As espécies são de difícil delimitação, pois são similares em muitos aspectos como ornamentação, âmbito, comprimento e largura do colpo, e as dimensões dos diâmetros se sobrepõem.

Os gêneros neotropicais de Podostemaceae se caracterizaram por apresentar grãos de pólen em mônades, díades ou tétrades, pequenos ou médios, isopolares ou apolares, área polar pequena ou muito pequena, aberturas em cólporo, colpo ou poro, ornamentação espinulada podendo estar associada com grânulos ou perfurações, ou rugulada. Dos gêneros aqui estudados, foram descritos em microscopia de luz e eletrônica de varredura e ilustrados pela primeira vez os grãos de pólen dos gêneros *Autana*, *Cipoia*, *Jenmaniella*, *Lophogyne* e *Macarenia*.

Das variações morfológicas aqui apresentadas a mais intrigante foi o tipo de díades de *Cipoia*, com apenas uma abertura em cada grão de pólen formador da díade. Seria interessante uma investigação comparativa da ontogenia neste gênero com as dos demais gêneros que apresentam a díade formada por grão unidos pelos polos, para traçar homologias entre diversos caracteres. Assim, uma melhor compreensão de como as díades se mantiveram com apenas uma única abertura em cada grão de pólen.

A morfologia polínica corroborou o não monofiletismo dos gêneros *Apinagia* e *Marathrum*, como também reforça o desmembramento de *Oserya*, proposto pela filogenia, em *Noveloa*. A inclusão do gênero *Cipoia* e das espécies *Macarenia clavigera* e *Marathrum capillaceum* no clado Podostemoideae, na filogenia de consenso aqui apresentada, está respaldada na morfologia polínica.

foi a Ainda há muito o que compreender sobre os caminhos evolutivos desta família estritamente aquática e tão diferenciada tanto das angiospermas como das demais plantas aquáticas. O aprofundamento das questões aqui apontadas com a inclusão dos gêneros paleotropicals da família é o caminho a ser percorrido para a elucidação destes questionamentos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abreu, V.H.R., Bove, C.P., Philbrick, C.T., Mendonça, C.B.F., Gonçalves-Esteves, Pollen morphology of the aquatic Brazilian endemic genus *Castelnavia* Tul. & Wedd. (Podostemaceae). *Plant Systematic Evolution*. 298:1455-1461. 2012.
- Ameka, K.G.; Clerk, G.C.; Pfeifer, E. & Rutishauser, R. Developmental morphology of *Ledermanniella bowlingii* (Podostemaceae) from Ghana. *Plant Systematics and Evolution*. 237: 165–183. 2003.
- Angiosperm Phylogeny Group. An ordinal classification for the families of flowering plants. *Annals Missouri Botanical Garden*. 88: 163-212. 1998.
- Angiosperm Phylogeny Group. An ordinal classification for the families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 141:399-436. 2003.
- Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*. 161: 105-121. 2009.
- Barth, O.M. & Melhem, T.S. *Glossário Ilustrado de Palinologia*. Campinas: Ed. Unicamp. 75p. 1988.
- Bezuidenhout, A. 1964. *Pollen of the African Podostemaceae*. *Pollen Spores* 6: 463-478.
- Bove, C.P. & Philbrick, C.T. Neotropical Podostemaceae, Neotropikey. <http://www.kew.org/science/tropamerica/neotropikey/families/Podostemaceae.htm>. acesso em 11/10/2010). 2010.
- Cook, C.D.K. & Rutishauser, R. .Podostemaceae. In: *The Families and Genera of Vascular Plants*. ed. K. Kubitzki . Berlin: Springer Verlag. 9: 304 – 344. 2007.
- Cronquist, A. 1988. *The Evolution and Classification of Flowering Plants* . 2a. Ed.Londres: Thomas Nelson and Sons.
- Dajoz, I.; Till-Bottraud, I., & Gouyon, P.H. Pollen aperture polymorphism and gametophyte performance in *Viola diversifolia*. *Evolution*. 47: 1080–1093. 1993.
- Engler, A. 1930. *Reihe Podostemales. Die natürlichen Pflanzenfamilien*. Wilhelm, Engelmann. 2:1-68.
- Engler, A. 1964. *Reihe Podostemales*. In: A. Engler and K. Prantl (Editors), *Die natürlichen Pflanzenfamilien*. Duncker and Humblot, Berlin, 483-484.
- Erdtman, G. 1952. *Pollen morphology and plant taxonomy*. Angiosperms an introduction to palynology, 2 ed., Stockholm Almquist & Wikseus, 189-190.
- Faegri, G. & Iversen, J. Textbook of modern pollen analysis. 2ed. Copenhagen: *Scandinavian*

- University Books*. 1966.
- Furness, C.A. & Rudall, P. Pollen aperture evolution - a crucial factor for eudicot success? *Trends in Plant Science* 9: 154-158. 2004.
- Furness, C.A. Pollen evolution in the clusioid clade (Malpighiales). *Int. J. Plant Sci.* 173, 1055-1082. 2012.
- Gustafsson MHG, V Bittrich, PF Stevens Phylogeny of Clusiaceae based on rbcL sequences. *Int. J. Plant. Sci.* 163:1045–1054. 2002.
- Sá-Haiad B., C.A. Torres, V.H.R. de Abreu, M.R. Gonçalves, C.B.F. Mendonça, L.D.R. de Santiago-Fernandes, C.P. Bove, V. Gonçalves-Esteves. Floral structure and palynology of *Podostemum weddellianum* (Podostemaceae: Malpighiales). *Plant Syst. Evol.* 290:141–149. 2010.
- Henderson, P.A. 2003. *Practical methods in Ecology*. Blackwell, Oxford.
- Kita, Y. & kato, M., Intrafamilial phylogeny of the aquatic angiosperm Podostemaceae inferred from the nucleotide sequence of the matK gene. *Pl. Biol.* 3;156-163. 2001.
- Koi, S.; Kita, Y.; Hirayama Y.; Rutishauser, R.; Huber, K. A.; Kato, M. Molecular phylogenetic analysis of Podostemaceae: implications for taxonomy of major groups. *Bot. J. Linn. Soc.* 169, 461-492. 2012.
- Lima, L.C.L.; Silva, F.H.M. & Santos, F.A.R. Palinologia de espécies de *Mimosa* L. (Leguminosae - Mimosoideae) do Semi-Árido brasileiro. *Acta Botanica Brasilica*.22: 794-805. 2008.
- Lobreau-Callen, D.; Le Thomas, A. & Suarez Cervera, M. Ultrastructural characters of the pollen of some Podostemales. Affinities with advanced Rosidae [in French]. *Comptes Rendues de l'Academie des Sciences, Sér. III*, 321: 335-345. 1998.
- Maddison, W. P. and D.R. Maddison. 2011. *Mesquite: a modular system for evolutionary analysis*. Version 2.75.
- Mártonfi P. New species of the genus *Hypericum* sect. *Hypericum* (Guttiferae) from Slovakia. *Folia Geobotanica*. 36: 371-384. 2001.
- Mártonfi, P.; Janíková, M. & Zezula, I. Palynological analysis of seven *Hypericum* taxa. *Biologia, Bratislava* 57: 455-460. 2002.
- Mcgarigal, K.; Cushman, S. & Stafford, S. 2000. *Multivariate statistic for wildlife and ecology research*. Springer Science and Business Media, New York.
- Melhem, T.S., Cruz-Barros, M.A.V., Corrêa, A.M.S., Makino-Watanabe, H., Silvestre-Capelato, M.S. & Esteves, V.L.G. Morfologia polínica em plantas de Campos do Jordão (São Paulo, Brasil). *Boletim do Instituto de Botânica*. 16: 1-104. 2003.

- Mildenhall D.C. Hypericum pollen determines the presence of burglars at the scene of a crime: an example of forensic palynology. *Forensic Sci Int.* 22;163(3):231-5. 2006.
- Moline, P.M.; D. Les; Philbrick, C.T.; Novelo, A.; Pfeifer, R.E. & Rutishauser, R., Comparative morphology and molecular systematics of *Podostemum* (including *Crenias*) — American riverweeds (Podostemaceae). *Bot. Jahrb. Syst.* 126: 427-476. 2006.
- Moline, P. M.; Thiv, M.; Ameka, G. K.; Ghogue, J.P.; Pfeifer, E. & Rutishauser, R. Comparative morphology and molecular systematics of African Podostemaceae–Podostemoideae, with emphasis on *Dicraeanthus* and *Ledermanniella* from Cameroon. *International Journal of Plant Sciences* 168: 159 – 180. 2007.
- Nair, P.K.K. Pollen Morphology of Indian Podostemaceae. *National Botanic Gardens.* 381-382. 1965.
- Novelo A. & C.T. Philbrick. A new species of *Marathrum* (Podostemaceae) from Jalisco, Mexico. *Novon* 3:456–458. 1993.
- O'Neill, S.; Osborn, J.; Philbrick, C.T. & Novelo. A. Comparative pollen morphology of five New World genera of Podostemaceae. *Aquatic Bot.* 57: 133-150. 1997.
- Osborn, J.; S. O'Neill & G. El-Ghazaly. Pollen morphology and ultrastructure of *Marathrum schiedeianum* (Podostemaceae). *Grana* 39: 221-225. 2000.
- Passarelli, L.M.; Girarde, S. & Tur, N.M.. Palynology of South American Podostemaceae. I. *Apinagia* Tul. *Grana* 41: 10-15. 2002.
- Passarelli, L.M.; Tur, N. M. & Girarde, S. Morfología del polen de especies neotropicales de *Podostemum* (Podostemaceae). *Revista de Biología Tropical*, 58: 81-88. 2010.
- Philbrick, C.T. Podostemaceae. *Flora Ilustrada de Entre Rios. Coleção Científica Instituto Nacional Tecnologia Agropecuária.* 6: 43–54. 1987.
- Philbrick, C.T.; Bove, C.P. Endemism in neotropical Podostemaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden.* 97: 425–456. 2010.
- Philbrick, C. T. & Novelo A. Monograph of *Podostemum*. *Syst. Bot. Monogr.* 70: 1-106. 2004.
- Philbrick, C. T.; Malecki, J.; Tiperry, N.P. & Stevens, H.I. A new genus of Podostemaceae from Venezuela. *Novon* 21:475–480. 2011.
- Punt, W.; Blackmore, S.; Nilsson, S. & Le Thomas, A. Glossary of pollen and spore terminology. *Review of Paleobotany and Palynology.* 143: 1-81. 2007.
- Royen, P. 1951. *The Podostemaceae of the New World.* Part 1. Mededeelingen van het Botanisch Museum en Herbarium van de Rijks Universiteit te Utrecht 107: 1-150.
- Royen, P. 1953. *The Podostemaceae of the world II.* Acta Bot. Neerl. 2:1-20.

- Rufhel, B.R.; Bittrich, V.; Bove, C.P.; Gustafsson, M.H.G.; Philbrick, C.T.; Rutishauser, R.; Xi, Z. & Davis, C.C. Phylogeny of clusoid clade (Malpighiales): Evidence from the plastids and mitochondrial genomes. *American Journal of Botany* 98: 306-325. 2011.
- Rutishauser, R. Structural and developmental diversity in Podostemaceae (river-weeds). *Aquatic Botany*. 57:29–70. 1997.
- Sá-Haiad, B.; Torres, C. A.; Abreu, V. H. R.; Gonçalves, M. R.; Mendonça, C. B. F.; Santiago-Fernandes, L. D. R.; Bove, C. P. & Gonçalves-Esteves, V. Floral structure and palynology of *Podostemum weddellianum* (Podostemaceae: Malpighiales). *Plant Systematics and Evolution* 290: 141-149. 2010.
- Salgado-Labouriau, M. L. 1973. *Contribuição à palinologia dos cerrados*. Academia Brasileira de Ciências. Rio de Janeiro.
- Salgado-Labouriau, M.L.; Vanzolini, P.E. & Melhem, T.S. Variation of polar axes and equatorial diameters in pollen grains of two species of Cassia, *Grana Palynologica*. 6: 66-176. 1965.
- Sculthorpe, C.D. *The biology of aquatic vascular plants*. Edward Arnold, London. 1967.
- Seetharam, Y.N. Clusiaceae: palynology and systematics. Inst Fr. Pondichéry. *Trav. Sec. Sci. Tech.* 21:1–81. 1985.
- Sobral-Leite, M.; Siqueira-Filho, J.A.; Erbar, C. & Machado, I.C. Anthecology and reproductive system of *Mourera fluviatilis* (Podostemaceae): pollination by bees and xenogamy in a predominantly anemophilous and autogamous family? *Aquatic Botany*. 95: 77–87. 2011.
- Souza, V.C. & Lorenzi, 2008. H. *Botânica Sistemática*. Nova Odessa, Instituto Plantarum. 353-354.
- Stevens, P. F. 2007. *Clusiaceae-Guttiferae, Hypericaceae*. In K. Kubitzki [ed.], The families and genera of vascular plants, Flowering plants. Eudicots. Springer, Berlin, Germany. 9:48 – 66; 194 – 201.
- Takhtajan, A. 1969. *Flowering plants. Origin and dispersal*. Oliver & Boyd, Edinburgh.
- Tippery, N.P.; Philbrick, C.T.; Bove, C.P. & Les, D.H. Systematics and Phylogeny of Neotropical Riverweeds (Podostemaceae: Podostemoideae). *Systematic Botany* 36(1): pp. 1–14. 2011.
- Tulasne, L.R. 1852. *Monographia Podostemacearum*. Archives du Muséum d’Histoire Naturelle 6: 1 – 208.
- Vartak, V.D. & Kumbhojkar, M.S. Palynological study of the family Podostemaceae from Western India. *Biovigyanam*. 10: 89-92. 1984.
- Walker, J.W. & Doyle, J.A. The bases of Angiosperm Phylogeny: Palynology. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 62: 664-723. 1975.

- Warming, E., Familien Podostemaceae V. Kgl. Danske Vidensk. Selsk., *Nat. Math. Afd.* 9: 105-154. 1899.
- Wodehouse, R.P. 1935. *Pollen Grains*. Their Structure, Identification and Signification in Science and Medicine. New York, McGraw-Hill Book Company, 574p.
- Wurdack, K.J. & Davis, C.C. Malpighiales phylogenetics: gaining ground on one of the most recalcitrant clades in the angiosperm tree of life. *American Journal of Botany*. 90: 1151–1570. 2009.
- Zavada, M. Comparative morphology of monocot pollen and evolutionary trends of apertures and wall structure. *Bot. Rev.*, 49:331-379. 1983.

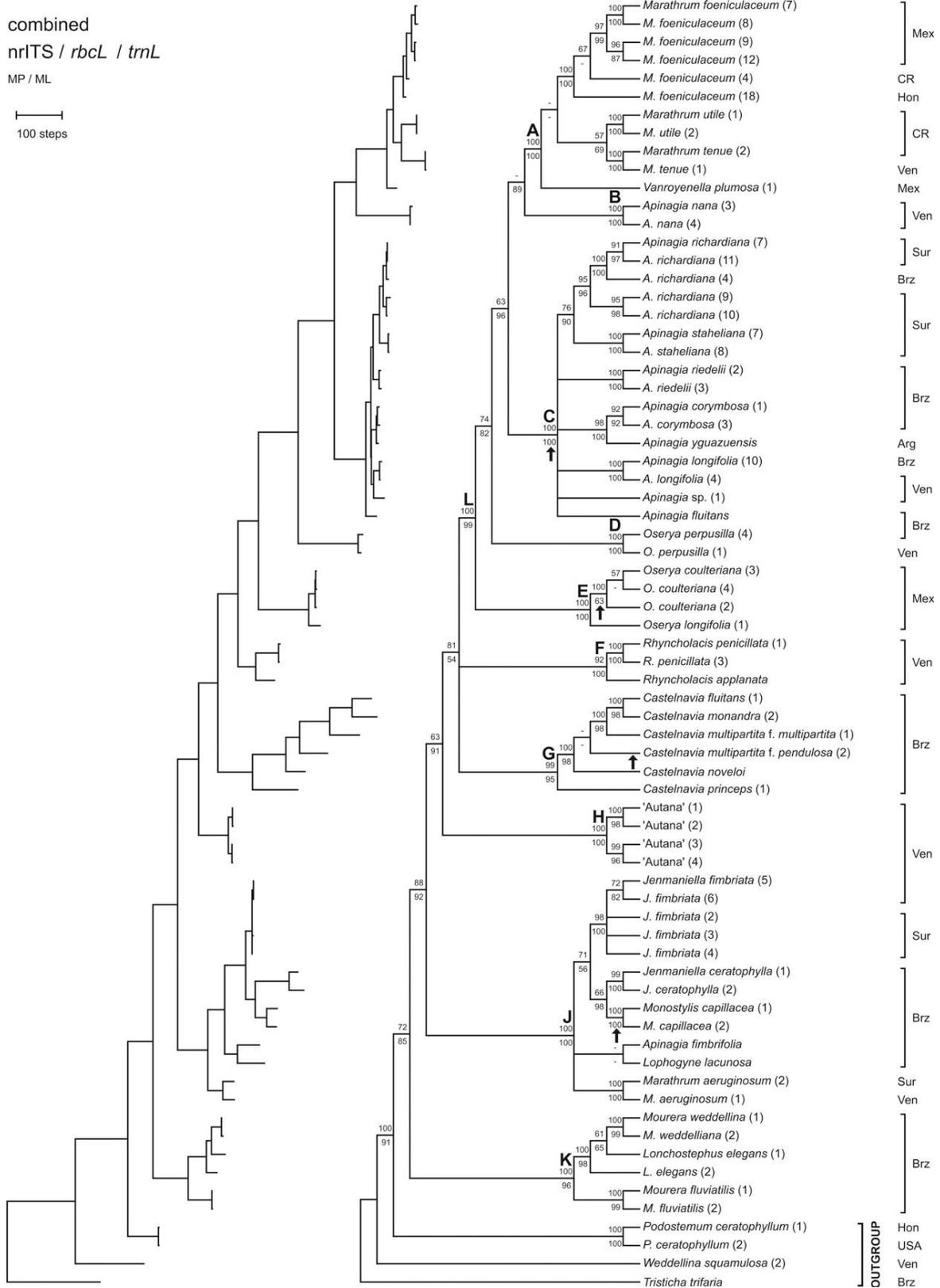
6. ANEXOS

6.1. ANEXO 1. Filogenia de Tippery *et al.* (2011)

combined
nrITS / *rbcL* / *trnL*

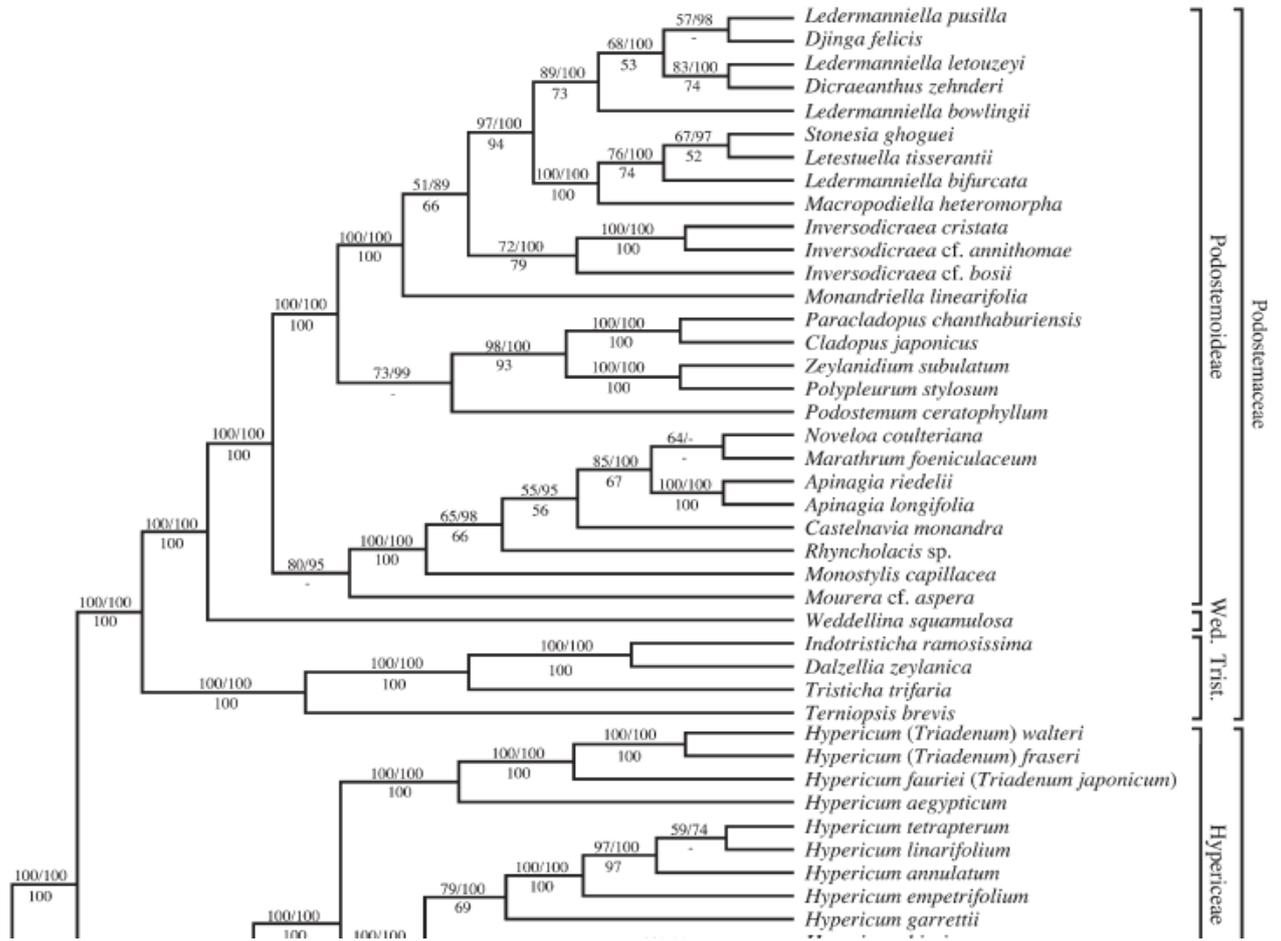
MP / ML

100 steps



6.2. ANEXO 2. Filogenia de Ruhfel *et al.* (2011).

RUHFEL ET AL. — CLUSIOID PHYLOGENY



6.4. ANEXO 4. Listagem de Material examinado

Material examinado de Podostemaceae:

1. *Apinagia fimbriifolia* P. Royen – BRASIL: Tocantins, Parque Estadual do Jalapão, Prainha do Rio Novo, 0°15'38,5"S, 46°33'2,2"W, 296m, *C.P. Bove 2234, Paula & C.T. Philbrick, Brad Ruhfel*, 15/VI/2010 (R); Tocantins, Estrada de ponte alta Tocantins para Mateiros, Rio novo, Prainha, 10°15'38,4"S; 46°53'202"W. *C.P. Bove 2144*et al.*, 26/VII/2009; Tocantins, Pindorama do Tocantins, 21km, Norte do Pindorama e 35Km ao sul. Ponte alta do Tocantins, Rio das Balsas, 11°1'3,5"S, 47°29'6,6"W, *C.P. Bove 1741, C.T. Philbrick 6004, S. Tucci*, 27/VII/2006 (R).

2. *Apinagia fluitans* P. Royen – BRASIL: Mato Grosso, rio Aripuanã. Cachoeiras dos Dardanelos, 10°09'51"S, 59°27'13"W, 155, *C.P. Bove et al. 1896 & C.T. Philbrick 6120*, 23/IX/2007 (R).

3. *A. longifolia* (Tul.) P. Royen – BRASIL: Roraima, Município de Caravaraí, Corredeiras do bem-querer, Rio Branco. Coordenadas: 01°35'45,1"S; 61°00'8,6"W, *C.P. Bove 1950**, *C.T. Philbrick, B. Ruhfel & C. Fort*. 8/X/2008 (R); Roraima, Mun. Caracaraí. Rio Branco, 01°57'8,4"N; 60°55'34,0"W. *C.P. Bove 1952, C.T. Philbrick, B. Ruhfel & C. Fort*, 09/X/2008 (R); Roraima, Município de Amajari. Cachoeira do céu azul, 03°50'4,9"N, 61°28'15,2"W, *C.P. Bove 1954, C.T. Philbrick, B. Ruhfel & C. Fort*, 10/X/2008 (R).

4. *A. nana* Went. - SURINAME: Sipaliwini, village of Djumu, Suriname River, *C. T. Philbrick 6203** & *S. Jairam-Doerga*, 26/X/2007 (R); Sipaliwini, In the region of an ecotourist lodge, Suriname River *C. T. Philbrick 6222 & S. Jairam-Doerga*, 28/X/2007 (R); Sipaliwini, village of Gunsee, Suriname River, *C.T. Philbrick 6232 & S. Jairam-Doerga*, 30/X/2007(R).

5. *A. richardiana* (Tul.) P. Royen – BRASIL: Roraima, BR210, Caroebe, rio Caroebe, 00°52'28,1"N, 59°39'49,7"O, 130m, *C.P. Bove 1971**, *C.T. Philbrick, B. Ruhfel & C. Fort*, 13/X/2008 (R); Roraima, cerca de 7 km da estrada de terra próxima a ponte sobre o rio Jauaperé, *C.P. Bove 1945, C.T. Philbrick, B. Ruhfel & C. Fort* 07/X/08 (R); Pernambuco, Mun. de Maraiá, Engenho Florestal, Rua Piragi, 08°48'2,8"S, 35°49'25,6"O, 243m, *M Sobral Leite 511*. 14/X/2007 (R).

6. *A. riedelii* (Bongard) Tul. – BRASIL: Rio Grande do Sul, Lajeado, Rio Lajeado, 9°50'9"S, 48°17'38"W, 227m, C.P.Bove 1480* *et al.*, 7/VI/2005 (R); Mato Grosso, BR-163, 10 km ao Norte de Nobres, Cachoeira do Tombador, Rio Arinos, C. P. Bove 1164 *et al.*, 25/VII/2003 (R); Mato Grosso, Nobres, Rio Nobres, 14°41'52,9"S, 56°21'58,4"O, C. P. Bove 1166 *et al.*, 25/VII/2003 (R).

7. *Autana andersonii* C. Philbrick – VENEZUELA: Amazonas, Autana River, 04°45'57"N, 67°27'23"W, C.T.Philbrick 5862* *et al.*, 25/I/2006 (R); Amazonas, Cataniapo River, 05°36'12"N, 67°35'37"W, C.T.Philbrick *et al.* 5875 9/I/2006; Amazonas, Cuao River, 05°02'39"N, 67°33'37"W, C.T.Philbrick 5867 *et al.*, 7/I/2006 (R).

8. *Ceratolacis pedunculatum* C. Philbrick, Novelo & Irgang – BRASIL: Minas Gerais, Rio Paraopeba, BR 420, Estrada do Pompéu. 519°10'25"S, 44°42'03,8" W, 664m, C.T.Philbrick 5651*, Novelo, 09/VII/2001(R); Mina Gerais, BR 262, Estrada Martinho Campos, Pompéu, ca. 16km de pompéu, rio Pará, 19°16'37"S; 45°7'51,9" W, 509m, C.P.Bove 2199 *et al.*

9. *Cipoia inserta* C. Philbrick, Novelo & Irgang – BRASIL: Góias, Estrada Alto Parcúso, S. Jorge km 9, Cachoeira São Bento, rio dos Couros, C.P.Bove 2205* *et al.*, 11VI/2010 (R); Góias, Chapada dos Veadeiros, rio das Cobras.Coord. 14°9'42,60"S, 47°37'50,40"O, 43m, C.P.Bove *et al.* 2032, 03/VI/09 (R).

10. *Cipoia ramosa* C.P. Bove, C.T. Philbrick & A. Novelo - BRASIL: Minas Gerais, Lassance, Estrada Joaquim Felício/Jataí, a 41km de Joaquim Felício rio Corrento (Serra do Cabral), C.P.Bove 1584* *et al.*, 26/VII/2005 (R); Minas Gerais, Lassance, Estrada de Joaquim Felício/Jataí, Serra do Cabral, C.P.Bove *et al.* 2251, 21/VI/2010 (R).

11. *Diamantina lombardii* Novelo, C. Philbrick & Irgang – BRASIL: Minas Gerais, Serra do Cabral, cahoeira do rio Corrente ou da Lama Preta. C.P.Bove *et al.* 2253*, 21/VI/2010 (R); Minas Gerais, Rio Preto, Parque Estadual do rio Preto, São Gonçalo do rio Preto, Mace 927, Freitas, Santos & Raggi, 12/VII/2004 (R).

12. *Jenmaniella ceratophylla* P. Royen - BRASIL: Pará, Jacareacanga, rio São Benedito, 9°03'11,5"S, 56°65'7,3"W, 165m, C.P.Bove 1866 & C.T.Philbrick 6089, 18/IX/ 2007 (R).

13. *Jenmaniella fimbriata* P. Royen – VENEZUELA: Ventuari River, Amazonas, W 67 1' 18.2" N 4 00' 12.8" 120m, *Philbrick 6313**, Perrez, Fort & Gonzalez, 6/III/2009 (R); SURINAME: Suriname River, Sipaliwini, W 55 25' 24.2" N 4 15' 45.4" 50m, *C.T.Philbrick 6229* & *S. Jairam-Doerga*, 29/X/2007 (R).

14. *Lophogyne lacunosa* (Gardner) C. P. Bove & C.T Philbrick – BRASIL: Rio de Janeiro, Macaé, Alto de Sana, Fazenda Sacipan, rio Sana ao lado da pousada Vale Encantado, *C. P. Bove 1129 et al.*, 05/VII/2003 (R); Rio de Janeiro, Macaé, alto do Sana, Fazendo Sacipan, *C.P. Bove 1131**, 06/VII/2003 (R); Rio de Janeiro, Silva Jardim, aldeia Velha, pousada Vale do paraíso, *C.P.Bove 1339*, 17/VI/2004(R).

15. *Macarenia clavigera* P. Royen - Colombia: Serra da macarena, *Philipson 2275* (BM).

16. *Marathrum aeruginosum* P. Royen – SURINAME: Sipaliwini, Suriname River, W 55 25' 1.7", N 4 17' 59.4", 60m, *C.T.Philbrick 6231** & *S. Jairam-Doerga*, 29/X/2007(R); Sipaliwini, W 55 26' 5.4" N 4 08' 50.8" 70m, *C.T.Philbrick 6221* & *S. Jairam-Doerga*, 28/X/2007 (R); Venezuela: Amazonas, Orinoco River, Raudale de Santa Barbara, W 67 5' 54.3" N 3 57' 34.6", 90m, *C.T.Philbrick 6309*, *Perrez, Fort & Gonzalez*, 6/III/2009 (R).

17. *Marathrum capillaceum* (Pulle) P. Royen – BRASIL: Goiás, Teresina de Goiás, rio da Pedras, cachoeira Poço Encantado, 13°52'26,3" S, 47°15'43,7" W, 758m, *C.P.Bove 2153* et al.*, 28/VIII/09(R); Goiás, Teresina de Goias, rio das pedras, cachoeira Poço Encantado, 13°52'92" S; 47°15'52,02" W, *C.P.Bove 2075 et al.*, 06/X/2007(R); Goias, Teresina de Goias, cachoeira de poço encantado. *C.P.Bove 2218*, *Paula & C.T.Philbrick*, *Brad Ruhfel*, 13/IV/2010 (R).

18. *Marathrum foeniculaceum* Humb. & Bonpl. MÉXICO: Cabo Cerrientes, Prov. Jalisco, puerto Vallarta, rio las Huntas, 10km ao sul do El Tritto, rumo a Chamela, *CPBove 1630 et al.*, 19/XI/2005 (R); Prov. Jalisco, Puerto Vallarta. Rio las Horcones, *C.P.Bove 1627**, 18/XI/2005 (R).

- 19.** *Marathrum plumosum* (Novelo & C.T.Philbrick) C.T.Philbrick & C.P.Bove - MÉXICO: Prov Jalisco, Puerto vallarta, rio Horconos, 27 km de Puerto Vallarta na estrada para Chamela (município Cabo Corrientes). *C.P.Bove 1629 & R. Collazo*, 18-XI-05 (R).
- 20.** *Monostylis capillacea* Tul. BRASIL: Tocantins, Lajeado, Ca 55km de Palmas, *C.P.Bove 1479* et al.* 07/VI/2005 (R); Tocantins, Lajeado, Palmas, Rio Taquaruçu, *C.P.Bove et al.* 1486, 08/VI/2005 (R); Mato Grosso, Rio Juruena, *N.A. Rosa & N.R. Santos 2030*, 28/V/1977 (R).
- 21.** *Mourera elegans* (Tul.) Baill. BRASIL: Pará, São João do Araguaia, cerca de 45 min, rio abaixo, Ronca (Rio Araguaia), 5°18'28,5"S, 48°55'34,2"W, *C.P.Bove 1713**, *Philbrick 5976 e S.Tucci.* 22/VII/2006 (R). Pará, São João do Araguaia, 5°18'28,3"S;48°56'13,4"W, 90m alt, *C.P.Bove 1718, Philbrick 5981, S. Tucci*, 22/VII/2006 (R).
- 22.** *Mourera fluviatilis* Aubl. - BRASIL: Roraima, Amajari, rio Amajari, cachoeira do céu azul, 03°50'4,9"N, 61°28'15,2", 115m alt. *C.P.Bove 1955* et al.*, 10/X/08 (R); Piauí, Barras, PI-110, ca. 10Km em direção a Batalha. Rio Lorgá, 4°12'20,4"S, 42°14'23"W 69 m, *C.P.Bove 2293 et al.*, 13/VI/2011 (R); Piauí, Esperantina, cachoeira do urubu, 3°54'51,2"S;42°6'46,4"W 43m. *C.P. Bove 2285 et al.*; 09/VI/2011 (R)
- 23.** *Mourera monadelpha* (Bong.) C. T. Philbrick & C. P. Bove – (*Tulasneantha monadelpha* (Bong.) P.Royen – BRASIL: Pará, Cachoeira Boburé, Rio Tapajós. S. Ducke s/n°, 29-VII-1923 (RB), Det. C. T. Philbrick & A. Novelo R. (em 17-VIII-2004).
- 24.** *Mourera schwackeana* Warm. – BRASIL: Maranhão, Rio Parnaíba, Zelândia no lado maranhense, A.G.Fialho (Lirô) S/N 02/VIII/2011 (R).
- 25.** *Mourera weddelliana* Tul. BRASIL: Tocantins, Pindorama de Tocantins, 21km ao norte de Pindorama e 35 ao sul da Ponte Alta de Tocantins, rio das Balsas, 11°1'3,5"S,47°29'6,6"W 320m alt., *C.P.Bove 1738**, *C.T.Philbrick 6001 & S.tucci.* 27/VII/2006 (R); Tocantins, Pindorama do Tocantins, 21 km ao norte de Pindorama e 35 km ao sul da ponte alta do Tocantins, Rio das Balsas, *C.P.Bove 2297 et al.* 20/VII/2011(R).
- 26.** *Noveloa coulteriana* (Tul.) C.T. Philbrick – MÉXICO: Província de Jabisco, Puerto Varllarta, Rio Horcones, 27 km ao sul de Puerto Vallarta na estrada para Chamela, *C.P.Bove*

1628*. & Callazo, 18/XI/2005 (R); Prov. Jabisco, Puerto Vallarta, Rio Horcones, 27 km ao sul de Puerto Vallarta na estrada para Chamela, C.P.Bove 1634, 22/XI/2005 (R).

27. *Oserya perpusilla* (Went) P. Royen - BRASIL: Roraima, Amajari, Uraricoera rio Jauarí (afluente do Uraricoera), 3°45'28,2"N, 60°59'50,2"W, C.P.Bove 1956 *et al.*, 10/X/08 (R).

28. *Podostemum ceratophyllum* Michx.- ESTADOS UNIDOS: New York, Sullivan, C.T. Philbrick 4639* & Alexandro Novelo, 03/VII/1995 (R); Flora Tennesseensis, David H. Webb 4226, 24/VIII/1981 (R); Connecticut Windham, C.T. Philbrick & A. Novelo 4634, 30/VII/1995 (R).

29. *Podostemum comatum* Hicken – MÉXICO: Parque Nacional Iguazú, C.T. Philbrick & A. Novelo *et al.* 2128* 10/I/1996, (R); BRASIL: Rio Grande do Sul, C.T. Philbrick & A. Novelo 5027 15/I/1998, (R);

30. *Podostemum distichum* (Cham.) Wedd. – BRASIL: Minas Gerais, Pocinhos do Rio Verde, cerca de 5-7 km de Caldas, C. T. Philbrick & A. Novelo 5699*, 18/VII/2001 (R); Rio Grande do Sul, Rio Fão, Perto da Cidade de Pouso Novo, C.T. Philbrick & A. Novelo 5086, 19/I/1998, (R); Santa Catarina, Rio Chapecozinho, C. T. Philbrick & A. Novelo 5435, 12/I/1999 (R).

31. *Podostemum irgangii* C.T. Philbrick & Novelo – BRASIL. Santa Catarina: Rio Chapecó, 13/I/1999, C.T. Philbrick & A. Novelo 5466A* (R); Altitude 667 m, S 26° 33 227, W 52° 19 537, C.T. Philbrick *et al.* 5464, 13/I/1999 (R).

32. *Podostemum muelleri* Warm. – BRASIL: Rio Grande do Sul, próximo da Cidade de Ernesto Alves, C.T. Philbrick & A. Novelo 5038* 17/I/1998, (R); Rio Grande do Sul: Turvo river, town of Lara, 256m, S27° 16 393, W 54° 00 527, C.T.Philbrick *et al.* 5238, 05/I/1999 (R).

33. *Podostemum ovatum* C.T. Philbrick & Novelo – BRASIL: Rio de Janeiro, Guapimirim, Subsede do Parque Nacional da Serra dos órgãos, C.P.Bove & Rochi 1056* (R); Parati: Rios Parati Mirim, 28/VI/2003, C.P.Bove, W. Costa e B.B Costa *et al.* 1124 (R).

34. *Podostemum rutifolium* Warm. – BRASIL: Santa Catarina, Rio Itajaí, C.T. Philbrick, A. Novelo & Irgang. 5513*, 15/I/1999 (R). Rio Grande do Sul, Uruguay River, salto do yucumá National Park, T.Philbrick, A. Novelo & B. Irgang 05/I/1999 (R)
35. *Podostemum saldanhanum* (Warm.) C.T. Philbrick & Novelo – BRASIL. Rio de Janeiro: Nova Friburgo, Lumiar, Poço Feio, 14/V/2002, C.P. Bove *et al.* 1043* (R), Nova Friburgo, Lumiar, Cachoeira Indiana Jones, 12/VIII/2010, R.S. Couto 333a (R); Nova Friburgo, Lumiar, Poço feio, 12/VIII/2010, C.P.Bove *et al.* 2263 (R).
36. *Podostemum scaturiginum* (Mart.) C.T. Philbrick & Novelo – BRASIL: Goiás, Rio São Bento, C.T. Philbrick & A. Novelo 5776, 1/VIII/2002 (*R); Goiás, ca. de 23 km de Anápolis, rio padre Souza, , C.P. Bove *et al.* 2245, 19/VI/2010 (R).
37. *Podostemum weddellianum* (Tul.) C.T. Philbrick & Novelo – BRASIL: Rio de Janeiro, Petrópolis, Cascatinha, Ponte de Ferro, C.P. Bove & A.D. Moreira 1051*, 04/VI/2002 (R); Cachoeira de Macacu, C.P. Bove & C.B. Moreira 856, 25/V/2001 (R); Cachoeira de Macacu, C.P.Bove 857 & C.B.Moreira, 25/V/2001 (R).
38. *Rhyncholacis linearis* Tul. – BRASIL: Amazonas, Camanaós, Rio Negro, Cachoeira Grande, 13/IX/1928, Luetzelburg 22150 (R)
39. *Tristicha trifaria* (Bory ex Willd.) Spreng. – BRASIL: Mato Grosso, BR-163, 10 km ao Norte de Nobres, Cachoeira do Tombador, Rio Arinos, C.P.Bove *et al.* 1163*, 25/VII/2003 (R); Minas gerais, Estrada de Pirapora para Brasilândia, 17°21'1,1"S / 45°31'51,3"W / 557m, C.P.Bove 2303, W. Costa, B.B. Costa, 24/VII/2011 (R); Goiás, Guarani de Goiás, Cachoeira dos freios (Bacia do Rio Paraná), 13°56'51,2"S, 46°26'27,3"W, C.P.Bove 2294, W. Costa, B.B. Costa. 19/VII/2011 (R).
40. *Weddellina squamulosa* Tul. – BRASIL: Tocantins, Lajeado, 9°46'10"S;48°20'57"W, 543m., C.P.Bove 1476* *et al.*, 07/VI/2005 (R); Tocantins, Paraíso do Tocantins, correjo Cachoeirinha, 9°56'21"S, 48°44'23"W, C.P.Bove 1492 *et al.*, 9/VI/2005.(PA), Jacareacanga, rio São Benedito, 9°03'11,5"S;56°35'7,3"W. C.P.Bove 1862 *et al.*, 18/X/2007 (R).

Material de Hypericaceae:

1. *Hypericum brasiliense* Choisy – Brasil: São Paulo, Barreiro Serra da Bocaina. Segadas Vianna 3288, 21/IV/1951 (R).
2. *H. floribundum* Aiton – Brasil: Espírito Santo, Serra Caparão, 205256 (R) 29/I/2002.
3. *H. meridionale* L.B. Sm. - Brasil: Santa Catarina, Porto União, Irinópolis; L.B. Smith, 3/II/1957 (R).

6.5. ANEXO 5 – Artigo referente ao gênero *Podostemum* enviado para publicação na Revista Aquatic Botany:

From: **AquaticBotany** <aqbot@elsevier.com>

Date: 2013/1/16

Subject: Submission Confirmation

To: esteves.vr@gmail.com, vesteves@acd.ufrj.br

This is an automatically generated response indicating that your submission entitled "Pollen morphology of *Podostemum*: the type genus of Podostemaceae" has been received by the Editorial Office of Aquatic Botany. The Editorial Office will contact you with a manuscript reference number and further details of the review process in due course. Thank you for submitting your work to our journal.

With kind regards,

Elsevier Editorial System

Aquatic Botany

Pollen morphology of *Podostemum*: the type genus of Podostemaceae

Elysiane de Barros Marinho¹, Vanessa Holanda Righetti de Abreu¹, Cláudia Petean Bove¹, C. Thomas Philbrick², Cláudia Barbieri Ferreira Mendonça¹, Vania Gonçalves-Esteves^{1,3}

¹ Universidade Federal do Rio de Janeiro, Museu Nacional, Departamento de Botânica, Quinta da Boa Vista, Rio de Janeiro, RJ, 20940-040, Brasil

² Department of Biological and Environmental Sciences, Western Connecticut State University, Danbury, Connecticut, 06810, U.S.A.

³ Author for correspondence (esteves.vr@gmail.com)

Abstract

The neotropical *Podostemum* (Podostemoidae, Podostemaceae) is a member of an otherwise paleotropical clade. Similar to many paleotropical taxa, *Podostemum* is characterized primarily by dyad pollen (only one species has monads). This contribution provides detailed descriptions for 10 of 11 species: *P. ceratophyllum*, *P. comatum*, *P. distichum*, *P. irgangii*, *P. muelleri*, *P. ovatum*, *P. rutifolium* subsp. *rutifolium*, *P. saldanhanum*, *P. scaturiginum* and *P. weddellianum*. Principal component analysis (PCA) and agglomerative hierarchical clustering (AHC) were applied. Pollen dyads were acalymmate with connecting bridges of sexine. The latter feature is not known elsewhere in Podostemaceae. Dyads ranged from 17.5 to 32.5 μm , and 17.5 to 37.5 μm for polar and equatorial axes, respectively. The tricolpate grains were oblate or prolate spheroidal, subprolate to prolate. Colpi ranged from 10-18 μm long and 4-8 μm wide, with ornate membranes (mamilliform elements) with acute apices. Exines were 0.7-1.5 μm in thickness. Distinction between sexine and nexine was obscure. Spicules occurred on the exine and were most conspicuous on the colpus membrane. Adjacent colpi on contiguous grains of most species were aligned in a straight orientation, with two exceptions: obliquely aligned in *P. scaturiginum* and unaligned in *P. r.* subsp. *rutifolium*. The first axis of PCA explained 94.18% of the variance, with dyad size the most significant contributor. The second principal component explained 32.82% of the variation, with equatorial diameter the most significant contributor. A two-dimensional graph of the first two principal components showed all species as distinct; all were positioned within the open concentration ellipse (95% CI). AHC based on pollen grain size, colpus position, colpus alignment and ambitus, resolved species into three clusters. Cluster 1 comprised *Podostemum ovatum*, *P. saldanhanum*, and *P. scaturiginum* with pollen grains of medium size and a circular ambitus. Clusters 2 and 3 included species with small size pollen grains: Cluster 2: *P. comatum*, *P. r.* subsp. *rutifolium*, and *P. weddellianum* with subtriangular ambitus; Cluster 3: *P. ceratophyllum*, *P. distichum*, *P. irgangii*, and *P. muelleri*, with triangular ambitus. There was modest correspondence between morphometric results and published phylogenetic patterns. The occurrence of one species of *Podostemum* with monad pollen (*P. flagelliforme*) indicates that the monad vs dyad condition is labile in the genus, although the direction of change is unknown as *P. flagelliforme* has not been included in phylogenetic analyses.

Kew words: Palynology; *Podostemum*; Systematics; Aquatic plants; Rheophytes

1. Introduction

The rheophytic Podostemaceae is based on the genus *Podostemum* Michx., established with the description of *P. ceratophyllum* Michx. This generic name was conserved at the Sixth International Botanical Congress (Sprague 1935, Philbrick & Novelo 2004), against the orthographic variant *Podostemon*, published in the caption for the figure in the protologue (Michaux 1803). Historically species distributed in both paleo- and neotropics (e.g, Australia, Africa, Madagascar, India, Ceylon and Americas), were assigned to *Podostemum*. In Royen's treatment of new world Podostemaceae (Royen 1951, 1953, 1954), *Podostemum* contained 19 species, among them just two (*P. barberi* Willis and *P. subulatum* Gardn.) were from the Old World (India). The most recent monograph of *Podostemum* (Philbrick & Novelo 2004) recognizes the genus as restricted to the Americas.

The monograph of *Podostemum* (Philbrick & Novelo 2004) reassigned the history, identity, morphology, ecology, and relationships of the inclusive species. The expansion of the genus circumscription, with the inclusion of *Crenias* A.Spreng. and *Devillea* Tul. & Wedd., was proposed to guarantee its monophyly. As a result of this new circumscription and many proposed synonymies, eleven species (including a new one) were recognized, all restricted to the New World. Morphologically, the genus is defined by a unique combination of features: presence of stipules, andropodium, anislobous ovary, and pollen in dyads. *Podostemum flagelliforme* (Tul. & Wedd.) C.T. Philbrick & A. Novelo is anomalous in the genus as it has pollen in monads (Philbrick & Novelo 2004). Earlier authors included this species in the genus *Devillea* Tul. & Wedd., although analyses of morphological data indicate that the species is monophyletic with *Podostemum* (see Philbrick & Novelo 2004). This species will be addressed further below.

Moline *et al.* (2006) conducted a phylogenetic analysis with morphological and molecular data, supporting the infrageneric relationships as proposed by Philbrick & Novelo (2004), the latter based only on morphological data. Phylogenetically, *Podostemum* is not embedded in the exclusively neotropical clade of subfamily Podostemoideae. Rather, it is more closely related to paleotropical members of the family (Kita & Kato 2001, Ruhfel *et al.* 2011, Koi *et al.* 2012).

The earliest reports of pollen characters of *Podostemum* were by Tulasne (1849: 102), who reported that grains are joined two by two (*polline didymo*), a rare character state in angiosperms. Subsequent publications added limited new insights: Tulasne (1863): color (yellow grains) and pollen size (25-28 x 16-19 μm); Warming (1891): form (elliptical grains) and ornamentation (papillose surface). Recently, more detailed pollen analyses were provided

for a few species. O'Neill *et al.* (1997) and Furness (2012) reported on micromorphology and ultrastructure of pollen of *Podostemum ceratophyllum* Michx., while Sá-Haiad *et al.* (2010) provided detailed information of floral anatomical structure and palynology of *P. weddellianum* (Tul.) C.T. Philbrick & Novelo. Passarelli *et al.* (2010) made the first attempt to analyze the pollen morphology of the genus as a whole, describing four out of the eleven known species

Several key issues relating to pollen structure in *Podostemum* remain unaddressed. Pollen structural features of some species (e.g., *P. irgangii* C.T. Philbrick & Novelo, *P. ovatum* C.T. Philbrick & Novelo, *P. saldanhanum* (Warm.) C.T. Philbrick & Novelo and *P. scaturiginum* (Mart.) C.T. Philbrick & Novelo) remain unknown. (*Podostemum flagelliforme* (Tul. & Wedd.) C. T. Philbrick & Novelo is not included, as it is only known from the type collection and pollen material was not available for study.) Variation in pollen structure within the genus has yet to be assessed relative to phylogenetic hypotheses based on molecular data (Moline *et al.* 2006). Moreover, morphometric analyses can provide insight into the evolution of dyad pollen, an unusual feature in angiosperms, yet widespread among Podostemaceae, especially paleotropical Podostemoideae. The goal of this contribution is to address these issues.

2. Materials and methods

Pollen of the following taxa were examined: *Podostemum ceratophyllum* Michx., *P. comatum* Hicken, *P. distichum* (Cham.) Wedd., *P. irgangii* C.T. Philbrick & Novelo, *P. muelleri* Warm., *P. ovatum* C.T. Philbrick & Novelo, *P. rutifolium* Warm. subsp. *rutifolium* (hereafter referred to as *P. rutifolium* for brevity), *P. saldanhanum* (Warm.) C.T. Philbrick & Novelo, *P. scaturiginum* (Mart.) C.T. Philbrick & Novelo and *P. weddellianum* (Tul.) C.T. Philbrick & Novelo. Samples were obtained from anthers of flower buds from specimens deposited in the herbaria of the National Museum of the Universidade Federal do Rio de Janeiro (R). Pollen grains were prepared for light microscopy (LM) by acetolysis (Erdtman 1952), modified by Melhem *et al.* (2003), mounted in glycerine jelly, and observed at 1000x magnification under oil immersion. All measurements were obtained by LM within seven days of preparation (Salgado-Labouriau 1973). Images were captured on a Zeiss Axiostar Plus camera. Voucher slides are stored in the pollen collection of the Laboratório de Palinologia do Departamento de Botânica do Museu Nacional/UFRJ. Pollen grains for SEM were placed on aluminium stubs covered with carbon tape and sputter-coated with gold palladium for 3 min. Samples were then examined with a JSM-5310 scanning electron microscope (SEM) at the Laboratório de

Ultraestrutura Celular Hertha Meyer, Inst. de Biofísica/UFRJ or a Jeol JSM-5800 SEM at the Departamento de Invertebrados do Museu Nacional (UFRJ).

One specimen of each species was chosen for statistical treatment and illustrations; indicated by an asterisk (*) after the collector's name (Appendix 1). Twenty-five measurements were taken from dyads in frontal view and of each individual pollen grain in equatorial view (i.e. dyad size, polar and equatorial diameter). Ten similar measurements of pollen grains were obtained from additional material from another collection (hereafter referred to as comparison material). Apertures and exine thickness values are arithmetic means from ten measurements. The results presented in the text are the arithmetic mean and the range of variation. Regarding position and orientation of the adjacent apertures of the dyads, one hundred dyads of each specimen were observed. Palynological terminology is in accordance with Punt *et al.* (2007), taking into account the size, shape, number of apertures, and the pattern of ornamentation of the sexine. Descriptions of aperture size were in accordance with the classification system established by Faegri and Iversen (1966) for the polar area index.

Principal component analysis (PCA) and agglomerative hierarchical clustering (AHC) were conducted using Palaeontological statistics software (PAST) version 2.16. A dendrogram was built by AHC to visualize the relationships among the studied species based on pollen data.

3. Results

3.1. Dispersal unit and size

Pollen grains were shed as dyads. The dyads were acalymmate (Fig.1O) with bridges of exine connecting the pollen grains (Fig.1J, N). The pollen grains were small in size (Erdtman 1952) in *Podostemum ceratophyllum*, *P. comatum*, *P. distichum*, *P. irgangii*, *P. muelleri*, *P. rutifolium*, and *P. weddellianum* or medium in *P. ovatum*, *P. saldanhanum* and *P. scaturiginum*; ranging from 17.5 to 32.5 μm for the polar axis and from 17.5 to 37.5 μm for the equatorial axis (Tab. 1).

3.2. Shape

Pollen grains of *P. ceratophyllum*, *P. distichum*, *P. irgangii*, and *P. muelleri* were prolate spheroidal; those of *P. comatum*, *P. rutifolium*, *P. saldanhanum*, and *P. scaturiginum* were oblate spheroidal; those of *P. ovatum* varied from subprolate to prolate; those of *P. weddellianum* varied from oblate spheroidal to prolate spheroidal. The ambitus was circular in

P. ovatum, *P. saldanhanum* and *P. scaturiginum*; subtriangular in *P. comatum*, *P. rutifolium* and *P. weddellianum*; triangular in *P. ceratophyllum*, *P. distichum*, *P. irgangii*, *P. muelleri* (Fig. 1E). (Polar area is not included due to the absence of pollen grains in polar view on microscope slides.)

3.3. Apertures

Pollen grains were tricolpate, the adjacent colpus of the contiguous grains of the dyad were aligned in a straight position in *Podostemum ceratophyllum* (97%), *P. comatum* (99%), *P. irgangii* (100%), *P. muelleri* (100%), *P. ovatum* (100%), *P. rutifolium* (100%), *P. saldanhanum* (100%), and *P. weddellianum* (100%) (Fig. 1A, C, D, I); aligned in an oblique position in *P. scaturiginum* (100%) (Fig. 1R, S) or not aligned in *P. distichum* (98%) (Fig. 1F). The remaining grains of *P. ceratophyllum* (3%), and *P. comatum* (1%), have the adjacent colpus not aligned, while those of *P. distichum comatum* (2%) have the adjacent colpus aligned. The colpi of all species were long (ca. 10.0-18.0 μm) and wide (ca. 4.0-8.0 μm) (Tab. 2), the colpus membrane was conspicuously ornate with mamilliform elements with acute apices (Fig. 1B, H, J, L). This ornate colpus membrane obscured detection of the aperture margins in light microscopy (Fig. 1R).

3.4. Exine stratification and ornamentation

The exine was thin (ca. 0.7-1.5 μm) with the distinction between sexine and nexine being obscured (Tab. 2). Spicules occurred on the exine (microechinate sexine) in all species and were most conspicuous on the colpus membrane. These spicules appeared to be granules (Fig. 1P-Q) when examined by light microscopy (1000x magnification). Ubusch bodies occurred in *Podostemum scaturiginum* and *P. weddellianum* (Fig. 1T).

3.5. Multivariate analysis

The results from the principal component analysis (PCA) explained 94.18% of the variance. In PCA using the LM characters, the first principal components explained 57.79% of the total variance (Tab. 4). The dyad size was the most significant contributor to the first principal component. The differences between the first and the second principal component in the degree of explanation of the total variation are minor. The second principal component explained 32.82% of the total variation, and the most significant index was the equatorial diameter. The third principal component explained 5.5% of the total variation, mainly through the colpus length index, while the fourth principal component explained 2.9% of the total

variation, mainly by the polar diameter. The indices of P/E loadings were not significant for the coefficient values (Tab.4).

The two-dimensional graph of the dispersion of *Podostemum* species in PCA (Fig.2) showed that members of all clusters (Fig.3) were distinct on the principal component plot. All species were positioned within the open concentration ellipse (95%). Among the species, *P. ceratophyllum*, *P. comatum*, *P. muelleri*, *P. rutifolium* showed the highest values in the first component. In contrast, *P. comatum*, *P. rutifolium*, *P. saldanhanum*, *P. scaturiginum*, and *P. weddellianum* showed the lowest values in the second component (Fig.2).

In AHC using quali-quantitative characters (pollen grain size, colpus position, colpus alignment and ambitus), the taxa studied were distributed in three clusters in the dendrogram (Fig. 3). Cluster 1 comprised *Podostemum ovatum*, *P. saldanhanum*, and *P. scaturiginum* with pollen grains of medium size and a circular ambitus. Clusters 2 and 3 included species with small size pollen grains. Cluster 2 consisted of *P. comatum*, *P. rutifolium*, and *P. weddellianum* with pollen grain with a subtriangular ambitus. Cluster 3 (*P. ceratophyllum*, *P. distichum*, *P. irgangii*, and *P. muelleri*) had species with triangular ambitus.

4. Discussion and conclusions

Pollen analysis of *Podostemum* species revealed general uniformity in pollen shape, except in *P. ovatum*, which varies from subprolate to prolate, and *P. weddellianum*, which varies from suboblate, oblate spheroidal and prolate spheroidal. Passarelli *et al.* (2010) described four species of *Podostemum* as possessing calymmate dyads of psilate surface based on LM. The results herein indicate that the sexine is clearly present between the contact faces of the dyad grains (Fig.1O) in all specimens analyzed, not forming the involucre pattern of the acalymmate type. Consequently, the results of the present study support those of O'Neill *et al.* (1997) and Sá-Haiad *et al.* (2010). Also the granular appearance (not psilate) is clearly seen in LM (Fig.1P-Q). The connecting bridges of sexine observed by Passarelli *et al.* (2010) in four species of *Podostemum* were here confirmed to occur in all species and may well be an autapomorphic character in the genus, since other genera with dyads (*Ceratolacis* Wedd., *Cipoia* C.T. Philbrick, Novelo & Irgang, *Diamantina* Novelo, C.T. Philbrick & Irgang and *Lophogyne* Tul.) do not possess this character state (Marinho *et al. in prep.*). It is yet unknown if paleotropical Podostemoideae, many of which have dyad pollen, exhibit variation in this feature.

The microechinate exine is well distributed in Podostemoideae subfamily, as is widely reported in the literature (O'Neill *et al.* 1997, Lobreau-Callen *et al.* 1998, Cook & Rutishauser

2007, Passarelli *et al.* 2010, Sá-Haiad *et al.* 2010, Abreu *et al.* 2012). The mamiloid elements described by O'Neill *et al.* (1997; termed microechinae) for *P. ceratophyllum* Michx. were documented in all species of the genus.

All specimens analyzed had pollen grains with three large colpi but lacked pores, as observed by Furness (2012). The apertures showed an interesting feature regarding their position and/or alignment. *Podostemum distichum* differs from all other species because the colpi of the adjacent pollen grains of the dyads are not aligned. In contrast, *P. scaturiginum* differs from all other species because of the obliquely aligned colpi. Furness (2012) also reported the unaligned apertures of the dyads of *P. ceratophyllum*, a character state here observed in only 3% of the dyads of that species. Passarelli *et al.* (2010) also observed the oblique alignment and referred to it as an “L aperture”. These authors interpreted this situation as the first step to a spiraperturate condition and an adaptive response to environmental pressure. Passarelli *et al.* (2010) suggested that the oblique aperture alignment relates to variability in water levels in habitats where species occur. Our results do not corroborate that hypothesis, as all species of *Podostemum* occur in such habitats. It remains to be determined if environmental factors influence aperture alignment. A broader sampling strategy than presented here would be needed to address this possibility.

PCA revealed patterns that were somewhat linked to phylogenetic relationships proposed by other workers. Species with positive values have been shown to be monophyletic. For example, regarding the first principal component, the positive scores for *Podostemum ovatum*, *P. saldanhanum*, *P. scaturiginum*, and *P. weddellianum* correspond to monophyletic groups indicated by Koi *et al.* (2012, Fig. 2I; *P. ovatum* not included), and Moline *et al.* (2006, Fig. 79; *P. saldanhanum* not included). Such correspondence supports an interpretation that dyad size, which had the highest eigenvalue for the first principal component, may provide limited phylogenetic signal. In addition, *P. ceratophyllum* and *P. comatum* had negative values and Moline *et al.* (2006, Fig. 79) placed these species as monophyletic. These species were either shown as unresolved by Philbrick & Novelo (2004; Fig. 3) or were not addressed because of the lack of one species in Koi *et al.* (2012). Moreover, *P. distichum* and *P. irgangii* showed negative values and were placed as monophyletic by Philbrick & Novelo (2004; Fig. 3). Koi *et al.* (2012) and Moline *et al.* (2006) did not include *P. irgangii* (The ‘*P. irgangii*’ cited in Moline *et al.* 2006 (CTP 5441) is actually *P. distichum*. C.T. Philbrick personal observation). The second principal component (which reflects primarily equatorial diameter) shows little correspondence to phylogenetic patterns proposed by Philbrick & Novelo (2004), Moline *et al.* (2006) or Koi *et al.* (2012).

The three clusters illustrated in the dendrogram (Fig. 3) correspond little to phylogenetic patterns (Philbrick & Novelo 2004, Moline *et al.* 2006, Koi *et al.* 2012). In none of the phylogenetic studies were any of the three clusters represented as monophyletic. In only a couple instances were a subset of species included in a given cluster shown to be closely related phylogenetically. For example, *P. distichum* and *P. irgangii* in cluster #3 were proposed as monophyletic by Philbrick & Novelo (2004, Fig. 3), but the remaining two species in that cluster (*P. ceratophyllum*, *P. muelleri*) were not proposed to be closely related.

Pollen analysis reveals that there is little overall correspondence between pollen variation among species of *Podostemum* (as expressed in PCA and AHC) and phylogenetic patterns. Even so, the present study indicates that several palynological features relating to pollen dyad structure may be useful in broader studies of Podostemaceae taxa that possess such pollen. The connecting bridges of sexine, observed first by Passarelli *et al.* (2010), have been shown herein to occur in all species of *Podostemum*. Moreover, intriguing variation in colpus alignment occurs among, and perhaps within, species. The possible role of environmental factors on colpus alignment needs to be further investigated.

Podostemum is the largest genus of Podostemaceae (Podostemoideae) in the Americas with dyad pollen. In contrast, most members of the subfamily in the paleotropics possess pollen in dyads. It is important to note that Novelo & Philbrick (2004) assigned one species with monad pollen (*P. flagelliforme* (Tul. & Wedd.) C.T. Philbrick & Novelo) to the genus *Podostemum*, based on phylogenetic analyses of morphological data. In contrast, previous authors had placed this species in the monotypic *Devillea* Tul. & Wedd. (*D. flagelliformis* Tull. & Wedd.). As this species is known from only the type collection, and pollen material was unavailable, it was not included in the current study. Inclusion of *P. flagelliforme* in *Podostemum* implies that the evolutionary shift from monad to dyad, or vice versa, has occurred in the *Podostemum*-clade. However, as placement of this species in the clade remains unresolved (Philbrick & Novelo 2004) it is not possible to determine the direction of change. It is notable that current phylogenetic insights indicate that the evolutionary shift from dyads to monads has occurred elsewhere in the subfamily (Ruhfel *et al.* 2011, Koi *et al.* 2012; Marinho *et al. in prep.*).

5. Acknowledgements

We are grateful to Amanda Veiga (Museu Nacional-UFRJ) and Noêmia Gonçalves (Instituto de Biofísica-UFRJ) helped with the SEM. The manuscript was improved by two anonymous

reviewers. This work was supported by Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico-Ministério de Ciência e Tecnologia (CNPq-MCT) to third and sixth authors, Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado do Rio de Janeiro (FAPERJ) to sixth author, and by National Science Foundation Grant DEB-0444589 and Connecticut State University-AAUP research grants to C.T.P.

6. References

- Abreu, V.H.R., Bove, C.P., Philbrick, C.T., Mendonça, C.B.F., Gonçalves-Esteves, V. 2012. Pollen morphology of the aquatic Brazilian endemic genus *Castelnavia* Tul. & Wedd. (Podostemaceae). *Pl. Syst. Evol.* 298, 1455-1461.
- Cook, C.D.K., Rutishauser, R., 2007. Podostemaceae. In: K. Kubitzki (Ed.), *The Families and Genera of Vascular Plants*. Springer, Berlin, pp. 304-344.
- Erdtman, G., 1952. *Pollen morphology and plant taxonomy-Angiosperms*. Almqvist & Wiksel, Stockholm.
- Fægri, G., Iversen, J., 1966. *Textbook of modern pollen analysis*, 2a edn. Scandinavian University Books, Copenhagen.
- Furness, C.A., 2012. Pollen evolution in the clusioid clade (Malpighiales). *Int. J. Plant Sci.* 173, 1055-1082.
- Kita, Y. & Kato, M., 2001. Intrafamilial phylogeny of the aquatic angiosperm Podostemaceae inferred from the nucleotide sequence of the matK gene. *Pl. Biol.* 3, 156-163.
- Koi, S., Kita, Y., Hirayama Y., Rutishauser, R., Huber, K. A., Kato, M., 2012. Molecular phylogenetic analysis of Podostemaceae: implications for taxonomy of major groups. *Bot. J. Linn. Soc.* 169, 461-492.
- Lobreau-Callen, D., Le Thomas, A., Suarez-Cervera, M., 1998. Caractères ultrastructuraux du pollen de quelques Podosémales. Affinités avec les Rosidae évoluées. *C.R. Acad. Sci. Paris, Sciences de la vie/Life Sciences.* 321, 335-345.
- Melhem T.S., Cruz-Barros M.A.V., Corrêa M.A.S., Makino-Watanabe, H., Silvestre-Capelato, M.S.F., Gonçalves-Esteves, V., 2003. Variabilidade polínica em plantas de Campos de Jordão (São Paulo, Brasil). *Bol. Inst. Bot. de São Paulo.* 16, 9-104.
- Michaux, A., 1803. *Flora Boreali-Americana*. Paris.
- Moline, P.M., D. Les, Philbrick, C.T., Novelo, A., Pfeifer, R.E., Rutishauser, R., 2006. Comparative morphology and molecular systematics of *Podostemum* (including *Crenias*) — American riverweeds (Podostemaceae). *Bot. Jahrb. Syst.* 126, 427-476.

- O'Neill, S., Osborn, J., Philbrick, C.T., Novelo, A., 1997. Comparative pollen morphology of five New World genera of Podostemaceae. *Aquat. Bot.* 57,133-150.
- Passarelli, L.M., Tur, N.M., Girarde, S., 2010. Morfologia del polen de especies neotropicales de *Podostemum* (Podostemaceae). *Rev. Biol. Trop.* 58, 81-88.
- Philbrick, C.T. & Novelo R., A., 2004. Monograph of *Podostemum* (Podostemaceae). *Syst. Bot. Monograph.* 70, 1-103.
- Punt, W., Blackmore, S., Nilsson, S., Le Thomas, A., 2007. Glossary of pollen and spore terminology. *Rev. Paleobot. Palynol.* 43, 1-81
- Royen, P. 1951. The Podostemaceae of the world. Part I. *Meded. Bot. Mus. Herb. Rijks. Univ.* 107, 1-151.
- Royen, P., 1953. The Podostemaceae of the world II. *Acta Bot. Neerl.* 2, 1-20.
- Royen, P. 1954. The Podostemaceae of the world III. *Acta Bot. Neerl.* 3, 215-263.
- Ruhfel, B.R., Bittrich, V., Bove, C.P., Gustafsson, M.H.G., Philbrick, C.T., Rutishauser, R., Xi, Z., Davis, C.C., 2011. Phylogeny of clusoid clade (Malpighiales): evidence from the plastids and mitochondrial genomes. *Am. J. Bot.* 98, 306-325.
- Sá-Haiad, B., Torres, C.A., Abreu, V.H.R., Gonçalves, M.R., Mendonça, C.B.F., Santiago-Fernandes, L.D.R., Bove, C.P., Gonçalves-Esteves, V., 2010. Floral structure and palynology of *Podostemum weddellianum* (Podostemaceae: Malpighiales). *Pl. Syst. Evol.* 290, 141-149.
- Salgado-Labouriau, M.L., 1973. Contribuição à Palinologia dos Cerrados. Academia Brasileira de Ciências, Rio de Janeiro.
- Sprague, T.A., 1935. Synopsis of proposals concerning nomenclature submitted to the Sixth International Botanical Congress, Amsterdam, Cambridge University Press.
- Tulasne, L.R., 1849. Podostemacearum synopsis monographica. *Ann Sci. Nat. Bot.* 11, 87-114.
- Tulasne, L.R., 1863. Podostemaceae. In: Martius, C.F.P. von; Eichler, A.W. & Urban, I. (eds.) *Flora brasiliensi*, München, Wien, Leipzig, v.4 part 1, p.231-276, pls. 73-76.
- Warming, E., 1891. Podostemaceae. In: Engler, A., Prantl, K. (Eds.) *Die natürlichen Pflanzenfamilien*. Leipzig, Engelmann, pp. 1-22.

Table 1. Statistical analysis of dyad size, polar and equatorial diameter (n = 25) of *Podostemum* pollen grains (μm).

Taxon	Dyad size			Polar diameter			Equatorial diameter			P/E
	Range	$\bar{x} \pm \text{sx}$	IC 95%	Rang e	$\bar{x} \pm \text{sx}$	IC 95%	Range	$\bar{x} \pm \text{sx}$	IC 95%	
<i>P. ceratophyllum</i>	40.0- 47.5	43.0 \pm 0.4	42.2- 43.8	20.0- 23.8	22.4 \pm 0 .2	22.0- 22.8	20.0- 23.8	21.9 \pm 0 2	21.5- 22.3	1.02
<i>P. comatum</i>	37.5- 42.5	40.3 \pm 0 2	39.8- 40.7	17.5- 21.2	19.8 \pm 0 .2	19.3- 20.2	20.0- 25.0	22.3 \pm 0 3	21.6- 22.9	0.89
<i>P. distichum</i>	37.5- 45.0	42.1 \pm 0 5	41.1- 43.1	17.5- 25.0	21.5 \pm 0 .3	20.9- 22.1	17.5- 22.5	21.1 \pm 0 3	20.5- 21.7	1.01
<i>P. irgangii</i>	37.5- 46.2	39.7 \pm 0 4	38.8- 40.5	17.5- 22.5	20.0 \pm 0 .2	19.5- 20.4	17.5- 22.5	19.6 \pm 0 2	19.1- 20.0	1.02
<i>P. muelleri</i>	43.8- 47.5	46.3 \pm 0 3	45.6- 46.9	21.5- 23.8	23.5 \pm 0 .2	22.9- 23.9	20.0- 25.0	22.7 \pm 0 2	22.3- 23.1	1.03
<i>P. ovatum</i>	57.5- 60.0	58.3 \pm 0 4	57.4- 59.1	27.5- 30.0	29.3 \pm 0 .4	28.4- 30.1	20.0- 25.0	22.5 \pm 0 4	21.7- 23.3	1.30
<i>P. rutifolium</i>	37.5- 40.0	39.2 \pm 0 4	38.3- 40.1	17.5- 20.0	19.2 \pm 0 .4	18.3- 20.1	20.0- 22.5	21.4 \pm 0 4	20.5- 22.3	0.89
<i>P. saldanhanum</i>	45.0- 55.0	50.3 \pm 0 4	49.4- 51.1	20.0- 30.0	26.0 \pm 0 .4	25.1- 26.9	25.0- 30.0	28.3 \pm 0 3	27.6- 28.9	0.91
<i>P. scaturiginum</i>	57.5- 62.5	59.1 \pm 0 4	58.2- 59.9	27.5- 32.5	30.2 \pm 0 .2	29.7- 30.6	30.0- 37.5	32.3 \pm 0 6	31.0- 33.5	0.93
<i>P. weddellianum</i>	37.5- 50.0	45.6 \pm 0 9	43.8- 47.4	17.5- 25.0	22.9 \pm 0 .5	21.9- 23.9	22.5- 30.0	26.4 \pm 0 4	25.6- 27.2	0.86

Table 2. Morphometric data (μm) of apertures and exine of *Podostemum* pollen grains (n=10).

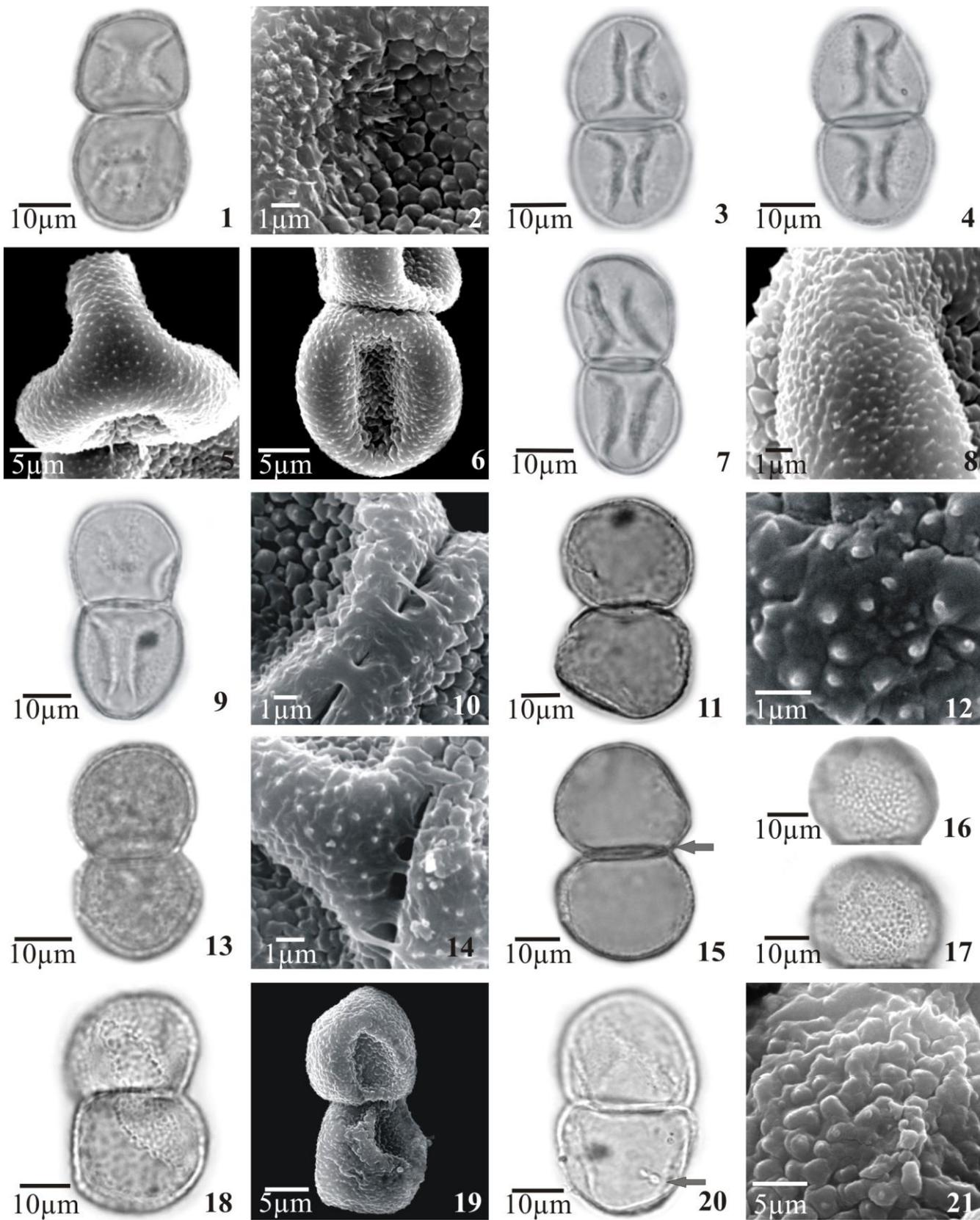
Figure	Species	Abbreviation	Colpus		Exine
			length	width	
1-2	<i>P. ceratophyllum</i>	CER	12.0	6.0	0.7
3-4	<i>P. comatum</i>	COM	14.0	6.0	1.0
5-6	<i>P. distichum</i>	DIS	17.0	7.0	0.9
7-8	<i>P. irgangii</i>	IRG	11.6	4.7	1.0
9-10	<i>P. muelleri</i>	MUEL	16.0	8.0	1.0
11-12	<i>P. ovatum</i>	OVA	18.0	5.0	1.5
13-14	<i>P. rutifolium</i>	RUT	10.0	7.0	1.0
15-16	<i>P. saldanhanum</i>	SAL	18.0	4.0	1.2
17-18	<i>P. scaturiginum</i>	SCA	16.0	5.0	1.0
19-20	<i>P. weddellianum</i>	WED	16.0	4.0	1.0

Table 3. Characters and character states of pollen grains for the cluster analysis (AHC) of *Podostemum*. The number in brackets represents the code of the character state.

Character	Character states	
Pollen grain size	(0) small	(1) medium
Colpus position	(0) aligned	(2) not aligned
Colpus alignment	(0) straight	(1) oblique
Ambitus	(0) circular	(1) subtriangular (2) triangular

Table 4. Cumulative variance and eigen vectors of principal component analysis (PCA) using quantitative palynological characters of *Podostemum*.

Principal Component Axis	1	2	3	4
Cumulative Variance (%)	57.794	32.82	5.5515	2.9986
Characters	Eigen vectors			
Colpus length	0.2235	-0,1659	0,9601	-0,02793
Polar diameter	0,4272	-0,121	-0,09447	0,8899
Equatorial diameter	0,3371	0,9366	0,08266	-0,02361
P/E	0,004788	-0,04446	-0,00759	0,04119
Dyad size	0,8086	-0,2805	-0,2499	-0,4528



Legends

Figure 1. Light (LM) and scanning electron (SEM) micrographs of *Podostemum* (Podostemaceae): *P. ceratophyllum* [C.T. Philbrick & Novelo 4639 (R)] - Equatorial view: A. optical cross-section (LM), B. Surface detail (SEM); *P. comatum* [C. T. Philbrick, Novelo et al. 2128 (R)] - Equatorial view: C, D. optical cross-section (LM); *P. distichum* [C. T. Philbrick & Novelo 5699 (R)] – Polar view: E. detail of the apocolpium (MEV), Equatorial view: F. detail of the aperture (SEM); *P. irgangii* [C.T. Philbrick & Novelo 5466A (R)] - Equatorial view: G. optical cross-section (LM), H. Surface detail of the mesocolpium (MEV); *P. muelleri* [C. T. Philbrick, Novelo et al. 5038 (R)] - Equatorial view: I. optical cross-section (LM), J. detail of the contact region of the dyads (MEV); *P. ovatum* [C.P. Bove & R. Occhi 1056 (R)] - Equatorial view: K. optical cross-section (LM), L. Surface detail (MEV); *P. rutifolium* [A. Novelo & C.T. Philbrick 5513 (R)] - Equatorial view: M. optical cross-section (LM), N. detail of the contact region of the dyads (MEV); *P. saldanhanum* [C. P. Bove et al. 1043 (R)] - Equatorial view: O. optical cross-section, arrow showing the sexine of the grains in the contact region (LM), P-Q. granulose appearance in LM; *P. scaturiginum* [C.T. Philbrick & Novelo 5776 (R)] - Equatorial view: R. dyads with aligned and oblique apertures (LM); S. dyads with aligned and oblique apertures (MEV); *P. weddellianum* [C.P. Bove & A.D. Moreira 1051 (R)] - Equatorial view: T. dyads with arrow showing the ubisch bodies (LM); U. Surface detail (MEV).

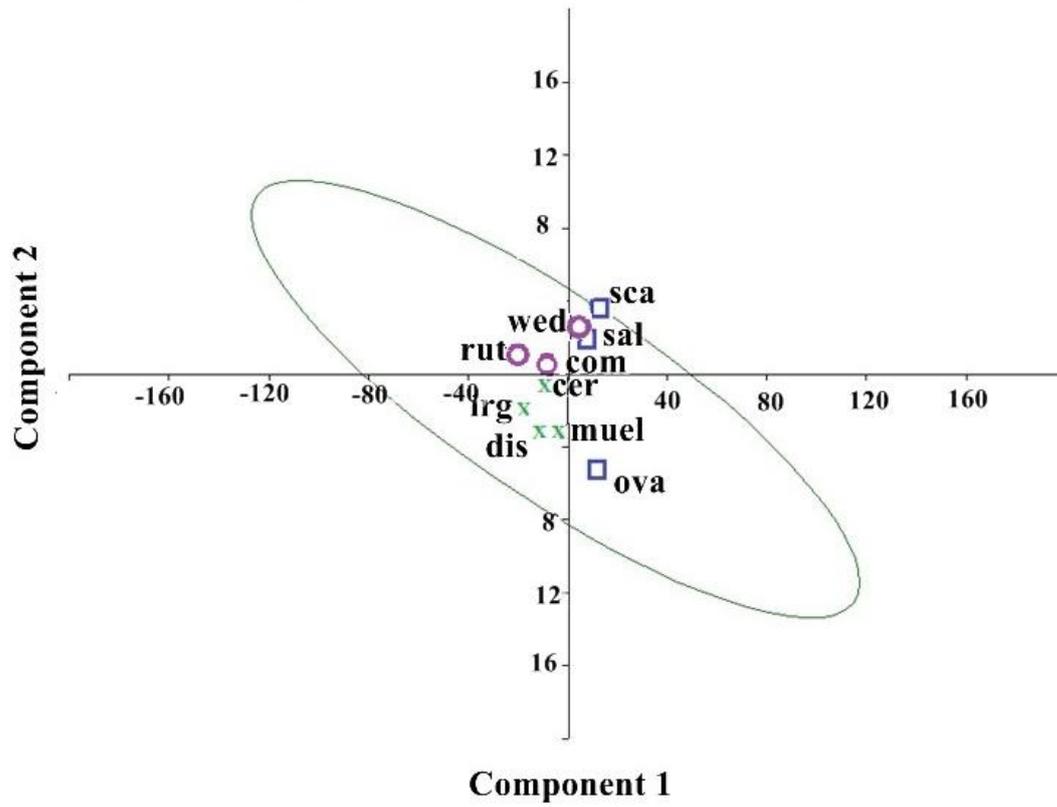


Figure 2. Two-dimensional graph representing *Podostemum* in the PCA. Names of species abbreviated with first three/four letters of epithets (see caption for Figure 3). Square (□) represents members of Cluster 1, Circle (○) members of Cluster 2, and cross (x) members of Cluster 3 in Figure 2.

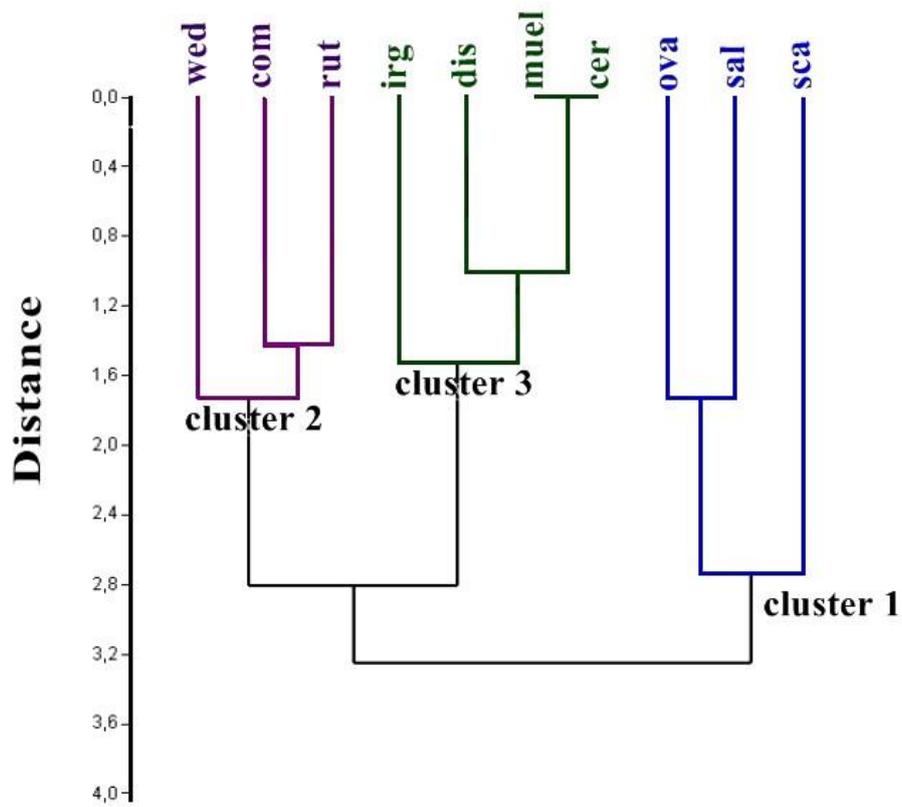


Figure 3. Dendrogram made from qualitative and quantitative (95% confidence intervals) data by Agglomerative Hierarchical clustering (AHC). Names of species abbreviated with first three/four letters of epithets. (wed = *Podostemum weddellianum*; com = *P. comatum*; rut = *P. rutifolium*; ova = *P. ovatum*; sald = *P. saldanhanum*; scat = *P. scaturiginum*; irg = *P. irgangii*; dist = *P. distichum*; mül = *P. muelleri*; cer = *P. ceratophyllum*).

Appendix 1: Material examined. The reference material is listed before the comparison material and indicated with an asterisk (*).

Podostemum ceratophyllum Michx.– UNITED STATES. New York: Sullivan, 03/VII/1995, *C.T. Philbrick & A. Novelo 4639* * (R); Tennessee: Greene, 24/VIII/1981, *D.H. Webb 4226* (R); Connecticut: Windham, 30/VII/1995, *C.T. Philbrick & A. Novelo 4634* (R).

Podostemum comatum Hicken – ARGENTINA. Misiones: Parque Nacional Iguazú, 10/I/1996, *C.T. Philbrick et al. 2128* * (R); BRASIL. Rio Grande do Sul: 15/I/1998, *C.T. Philbrick & A. Novelo 5027* (R).

Podostemum distichum (Cham.) Wedd. – BRASIL. Minas Gerais: Pocinhos do Rio Verde, cerca de 5-7 km de Caldas, 18/VII/2001, *C.T. Philbrick & A. Novelo 5699** (R); Rio Grande do Sul: Rio Fão, Perto da Cidade de Pouso Novo, 19/I/1998, *C.T. Philbrick & A. Novelo 5086* (R); Santa Catarina: Rio Chapecozinho, 12/I/1999, *C.T. Philbrick & A. Novelo 5435* (R).

Podostemum irgangii C.T. Philbrick & Novelo – BRASIL. Santa Catarina: Rio Chapecó, 13/I/1999, *C.T. Philbrick & A. Novelo 5466A* * (R); Altitude 667 m, S 26° 33 227, W 52° 19 537, 13/I/1999, *C.T. Philbrick et al. 5464* (R).

Podostemum muelleri Warm. – BRASIL. Rio Grande do Sul: próximo da cidade de Ernesto Alves, 17/I/1998, *C.T. Philbrick & A. Novelo 5038* * (R); Rio Grande do Sul: Turvo river, town of Lara, 256m, S27° 16 393, W 54° 00 527, 05/I/1999, *C.T. Philbrick et al. 5238* (R).

Podostemum ovatum C.T. Philbrick & Novelo – BRASIL. Rio de Janeiro: Guapimirim, Subsede do Parque Nacional da Serra dos Órgãos, C.P. Bove & R. Occhi 1056 * (R); Parati: Rio Parati Mirim, 28/VI/2003, C.P. Bove *et al.* 1124 (R). São Paulo: Cunha, estrada do Monjolo. Rio Monjolo (Bacia do Paraitinga). Cachoeira do Pimenta, C.P. Bove *et al.* 839 (R).

Podostemum rutifolium Warm. - BRASIL, Santa Catarina: Rio Itajaí, 15/I/1999, *C.T. Philbrick et al.* 5513 * (R). Rio Grande do Sul: Uruguai River, Salto do Yucumã National Park, 05/I/1999, *C.T. Philbrick et al.* 5224 (R).

Podostemum saldanhanum (Warm.) C.T. Philbrick & Novelo – BRASIL. Rio de Janeiro: Nova Friburgo, Lumiar, Poço Feio, 14/V/2002, *C.P. Bove et al. 1043* * (R); Nova Friburgo, Lumiar, Cachoeira Indiana Jones, 12/VIII/2010, *R.S. Couto 333a* (R); Nova Friburgo, Lumiar, Poço feio, 12/VIII/2010, *C.P. Bove et al. 2263* (R).

Podostemum scaturiginum (Mart.) C.T. Philbrick & Novelo – BRASIL. Goiás: Rio São Bento, 1/VIII/2002, *C.T. Philbrick & A. Novelo 5776* * (R); ca. de 23 km de Anápolis, rio Padre Souza, 19/VI/2010, *C.P. Bove et al. 2245* (R).

Podostemum weddellianum (Tul.) C.T. Philbrick & Novelo – BRASIL. Rio de Janeiro: Petrópolis, Cascatinha, Ponte de Ferro, 04/VI/2002, *C.P. Bove & A.D. Moreira 1051* * (R); Cachoeira de Macacu, 25/V/2001, *C.P. Bove & C.B. Moreira 856* (R); Cachoeira de Macacu, 25/V/2001, *C.P. Bove & C.B. Moreira 857* (R).

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Ameka, K.G.; Clerk, G.C.; Pfeifer, E. & Rutishauser, R.. Developmental morphology of *Ledermanniella bowlingii* (Podostemaceae) from Ghana. *Plant Systematics and Evolution*, 237: 165–183. 2003.
- Angiosperm Phylogeny Group. An ordinal classification for the families of flowering plants. *Annals Missouri Botanical Garden*, 88: 163-212. 1998.
- Angiosperm Phylogeny Group. An ordinal classification for the families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 141:399-436. 2003.
- Angiosperm Phylogeny Group. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG III. *Botanical Journal of the Linnean Society*, 161: 105-121. 2009.
- Barth, O.M. & Melhem, T.S. *Glossário Ilustrado de Palinologia*. Campinas: Ed. Unicamp. 75p. 1988.
- Bezuidenhout, A. Pollen of the African Podostemaceae. *Pollen Spores* 6: 463-478. 1964.
- Bove, C.P., Philbrick, C.T. Neotropical Podostemaceae, Neotropikey. <http://www.kew.org/science/tropamerica/neotropikey/families/Podostemaceae.htm>. (acesso em 11/10/2010). 2010.
- Caccavari, M.A.; Naab, O.A. & Tamame, M.A. 2008. Palynological and physicochemical characteristics of three unifloral honey types from central Argentina. *Spanish Journal of Agricultural Research* 6(4): 566-576.
- Cook, C.D.K. & Rutishauser, R. .Podostemaceae. In: *The Families and Genera of Vascular Plants*. ed. K. Kubitzki . Berlin: Springer Verlag. 9: 304 – 344. 2007.
- Cronquist, A. *The Evolution and Classification of Flowering Plants* . 2a. Ed.Londres: Thomas Nelson and Sons. 1988.
- Engler, A., Reihe Podostemales. In: A. Engler and K. Prantl (Editors), *Die natürlichen Pflanzenfamilien*, ed.2. Duncker and Humblot, Berlin, pp. 1-68, 483-484. 1964.
- Erdtman, G. Pollen morphology and plant taxonomy. *Angiosperms an introduction to palynology*, 2 ed., Stockholm Almquist & Wikseus, p.189-190. 1952.
- Fægri, G. & Iversen, J. - *Textbook of modern pollen analysis* . 2ed. Copenhagen: Scandinavian University Books. 1966.
- Lobreau-Callen, D., Le Thomas, A. & Suarez Cervera, M. Ultrastructural characters of the pollen of some Podostemales. Affinities with advanced Rosidae [in French]. *Comptes Rendues de l'Academie des Sciences, Sér. III*, 321: 335-345. 1998.

- Melhem, T.S., Cruz-Barros, M.A.V., Corrêa, A.M.S., Makino-Watanabe, H., Silvestre-Capelato, M.S. & Esteves, V.L.G. Morfologia polínica em plantas de Campos do Jordão (São Paulo, Brasil). *Boletim do Instituto de Botânica*. 16: 1-104. 2003.
- Nair, P.K.K. Pollen Morphology of Indian Podostemaceae. National Botanic Gardens, idem, 381-382, 1965.
- O'Neill, S.; Osborn, J.; Philbrick, C.T. & Novelo. A. Comparative pollen morphology of five New World genera of Podostemaceae. *Aquatic Bot.* 57: 133-150. 1997.
- Osborn, J., S. O'Neill & G. El-Ghazaly. Pollen morphology and ultrastructure of *Marathrum schiedeanum* (Podostemaceae). *Grana* 39: 221-225. 2000.
- Passarelli, L.M, Girarde, S. & Tur, N.M.. Palynology of South American Podostemaceae. I. *Apinagia* Tul. *Grana* 41: 10-15. 2002.
- Passarelli, L.M. Tur, N. M. & Girarde, S. Morfología del polen de especies neotropicales de *Podostemum* (Podostemaceae) . *Revista de Biología Tropical*, 58: 81-88. 2010.
- Philbrick, C. T. & A. Novelo. Monograph of *Podostemum*. *Syst. Bot. Monogr.*70: 1-106. 2004.
- Philbrick, C.T. Podostemaceae. *Flora Ilustrada de Entre Rios*. Coleção Científica Instituto Nacional Tecnologia Agropecuária. 6: 43–54. 1987.
- Philbrick, C.T., Bove, C.P. and Stevens, H.I. Endemism in neotropical Podostemaceae. *Annals of the Missouri Botanical Garden*. 97: 425–456. 2010.
- PUNT, W.; BLACKMORE, S.; NILSSON, S. & LE THOMAS, A. Glossary of pollen and spore terminology *Review of Paleobotany and Palynology* 143: 1-81. 2007.
- Royen, P. The Podostemaceae of the New World. Part 1. *Mededeelingen van het Botanisch Museum en Herbarium van de Rijks Universiteit te Utrecht* 107: 1-150. 1951.
- Rufhel, B.R.; Bittrich, V.; Bove, C.P.; Gustafsson, M.H.G.; Philbrick, C.T.; Rutishauser, R.; Xi, Z. & Davis, C.C. Phylogeny of clusoid clade (Malpighiales): Evidence from the plastids and mitochondrial genomes. *American Journal of Botany* 98: 306-325. 2011.
- Sá-Haiad, B.;Torres, C. A; Abreu, V. H. R.; Gonçalves, M. R.; Mendonça,C. B. F.; Santiago-Fernandes, L. D. R.; Bove, C. P. e Gonçalves-Esteves, V. Floral structure and palynology of *Podostemum weddellianum* (Podostemaceae: Malpighiales). *Plant Systematics and Evolution* 290: 141-149. 2010.
- Salgado-Labouriau, M. L. Contribuição à palinologia dos cerrados. *Academia Brasileira de Ciências*. Rio de Janeiro. 1973.
- Salgado-Labouriau, M.L.; Vanzolini, P.E. & Melhem, T.S. Variation of polar axes and equatorial diameters in pollen grains of two species of *Cassia*, *Grana palynologica*,v. 6,p.166-176, 1965.
- Sculthorpe, C.D., *The biology of aquatic vascular plants*. Edward Arnold, London. 1967.

- Souza, V.C. & Lorenzi, H. *Botânica Sistemática*. Nova Odessa, Instituto Plantarum, 2008.
- Takhtajan, A. *Flowering plants. Origin and dispersal*. Oliver & Boyd, Edinburgh. 1969.
- Tippery, N.P.; Philbrick, C.T.; Bove, C.P. & Les, D.H. Systematics and Phylogeny of Neotropical Riverweeds (Podostemaceae: Podostemoideae). *Systematic Botany* 36(1): pp. 1–14. 2011 (a).
- Tulasne, L.R. 1852. Monographia Podostemacearum. *Archives du Muséum d'Histoire Naturelle* 6: 1 – 208.
- Warming, E., Familien Podostemaceae V. Kgl. Danske Vidensk. Selsk., Nat. Math. Afd. 9: 105-154. 1899.
- Wodehouse, R.P. 1935. *Pollen Grains. Their Structure, Identification and Signification in Science and Medicine*. New York, McGraw-Hill Book Company, 574p.