

UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO

**Palinotaxonomia de representantes de *Dioscorea* subgênero
Helmia e *Dioscorea* subgênero *Dioscorea* (Dioscoreaceae)
ocorrentes no neotrópico**

Fernanda da Costa Alzer

2017



Programa Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica)

Quinta da Boa Vista s/nº

São Cristóvão – Rio de Janeiro – RJ

20.940-040

**Palinotaxonomia de representantes de *Dioscorea* subgênero *Helmia* e *D.*
subg. *Dioscorea* (Dioscoreaceae) ocorrentes no neotrópico**

Fernanda da Costa Alzer

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências Biológicas (Botânica), do 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: Prof^a Dr^a Cláudia Barbieri Ferreira de Mendonça

Prof^a Dr^a Rosana Conrado Lopes

Rio de Janeiro

Julho, 2017

CIP - Catalogação na Publicação

A478p Alzer, Fernanda da Costa
Palinotaxonomia de Representantes de Dioscorea
subgênero *Helmia* e *D. subg. Dioscorea*
(Dioscoreaceae) ocorrentes no Neotrópico / Fernanda
da Costa Alzer. -- Rio de Janeiro, 2017.
52 f.

Orientadora: Cláudia Barbieri Ferreira Mendonça.
Coorientadora: Rosana Conrado Lopes.
Dissertação (mestrado) - Universidade Federal do
Rio de Janeiro, Museu Nacional, Programa de Pós
Graduação em Botânica, 2017.

1. Palinotaxonomia. 2. Dioscoreaceae. 3.
Dioscorea. 4. Neotrópico. I. Barbieri Ferreira
Mendonça, Cláudia, orient. II. Conrado Lopes,
Rosana, coorient. III. Título.

Elaborado pelo Sistema de Geração Automática da UFRJ com os
dados fornecidos pelo(a) autor(a).

**PALINOTAXONOMIA DE REPRESENTANTES DE *DIOSCOREA* SUBGÊNERO
HELMIA E D. SUBG. *DIOSCOREA* (DIOSCOREACEAE) OCORRENTES NO
NEOTRÓPICO**

Fernanda da Costa Alzer

Cláudia Barbieri Ferreira Mendonça

Rosana Conrado Lopes

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 Dr^ª Vania Gonçalves Lourenço Esteves

Prof^ª Dr^ª Leila Nunes Morgado

Prof^ª Dr^ª Ana Cristina Aguiar

Rio de Janeiro
Julho 2017

DEDICATÓRIA

Aos meus queridos pais, Rosângela e Fernando (*in memoriam*) por tudo que vocês representam para mim.

“Não fui Eu que lhe ordenei? Seja forte e corajoso! Não se apavore, nem se desanime, pois o Senhor, o seu Deus, estará com você por onde você andar”.

[Josué 1:9](#)

AGRADECIMENTOS

A Deus por me permitir viver os Sonhos Dele para minha vida, por suas Promessas e Seu Amor comigo.

Às minhas orientadoras Cláudia Barbieri Ferreira de Mendonça e Rosana Conrado Lopes. À Cláudia por ter me abraçado com muito carinho nesta caminhada de descobertas. À Rosana, que acreditou na minha capacidade me ajudando com valiosos ensinamentos.

À querida Vania Gonçalves Lourenço Esteves, por seu profissionalismo, por ser tão presente na minha vida, por falar tanta coisa com seu olhar e me ensinar a ver os grãos de pólen de uma forma diferente.

Ao técnico de laboratório Pedro Cesar Teixeira, por sua amizade e dedicação na sua valiosa ajuda e as grandes risadas.

A família Palinológica, por estarem dispostos a ajudar em qualquer situação: Ana Carolina, Dilma, Elisiane, Gabriel, Hian, Jéssica, Layara, Leila, Luana, Luiz, Mariana, Maurício, Priscila, Raquel, Simone, Renata Kelly, Renata Suzano, Thais e Wellerson. Sou muito grata! À querida amiga Ana Carolina (Carolzinha), tão presente na minha vida e no meu trabalho, disposta a ouvir e ajudar, companheira das unhas, sou grata por todo seu carinho e compreensão. Elisiane (Elys), sua consideração comigo e ajuda foi muito importante. Priscila (Pri), passamos juntas pelas mesmas situações há dois anos atrás e me lembro como hoje e com certeza Deus continua nos abençoando, fiquei muito feliz em te conhecer e por sua amizade. Raquel (Raquelzinha), tantas risadas com as perguntas malucas que te fiz, sua atenção sempre esteve presente, obrigada por seu carinho. Simone (Si), nunca vou esquecer de quando entrei a primeira vez no laboratório e você teve a difícil missão de me ensinar todas as etapas da palinologia, depois de tantos anos continuo agradecendo sua amizade, carinho, dedicação e nossas divisões de almoços.

Ao Dr. Ricardo Sousa Couto, que com toda paciência e atenção, me ensinou a amar e ensina trabalhar com as Dioscoreaceas.

À minha mamãe tão querida, Rosângela, minha amiga de todas as horas, meu amor que sempre me apoiou e acreditou nas minhas decisões, por sua sabedoria nas palavras de advertência e seu amor por mim.

Ao meu pai, Fernando (*in memoriam*), pelo seu amor à única filha e que com certeza quis essa conquista, continuo te amando.

Aos meus irmãos, Thiago e Pedro Paulo. Thiago (Thiaguinho), que mesmo com o seu jeito de ser sei que torce muito por mim. Ao Pedro Paulo (PP), que com suas palhaçadas alegra os meus dias de stress. Irmãos, nosso amor vai além do que muitos imaginam. Ao meu Tio Célio e Primo Luiz André, por acreditarem em mim e nos meus estudos em cada momento.

A minha avó Lourdes, minha Tia Rosana, e minha Dinda Maria Regina, vocês sempre acreditaram na minha capacidade e dedicação, em nenhum momento duvidaram. Sou grata por vocês fazerem parte de toda minha vida.

As minhas amigas Alessandra Marques e Lujan, por estarem comigo e vibrarem a cada conquista. Alê, com certeza nunca me esquecerei o quanto você é importante. Lu, minha amiga irmã, você é maravilhosa, vou repetir outra vez: amo você para sempre.

Aos meus ex-professores, em especial Lucia Helena Orofino, um exemplo de profissional, à quem tanto amo, por sempre me incentivar e me ajudar. Quando eu crescer quero ser que nem você.

Ao casal Alexandre e Dulci, que em pouco tempo conquistaram o meu coração, minha amizade, meu carinho, amor e respeito. Amo vocês!

À CAPES pela bolsa concedida para a realização desse trabalho.

À todos que participaram direta e indiretamente para a conclusão de mais uma etapa na minha vida. Gratidão.

RESUMO

PALINOTAXONOMIA DE REPRESENTANTES DE *DIOSCOREA* SUBGÊNERO *HELMIA* E *D. SUBG. DIOSCOREA* (DIOSCOREACEAE) OCORRENTES NO NEOTRÓPICO.

Fernanda da Costa Alzer

Orientadores: Cláudia Barbieri Ferreira Mendonça

Rosana Conrado Lopes

Resumo da 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).

Foi realizado o estudo palinológico de 24 espécies representantes de *Dioscorea* L., 19 de *D. subg. Helmia* e 5 de *D. subg. Dioscorea*. Os principais objetivos deste estudo foram: ampliar o conhecimento palinológico do subgênero *Helmia* para o Neotrópico, evidenciar caracteres palinológicos que possuam valor taxonômico, contribuir para uma nova delimitação das seções do subgênero *Helmia* no Neotrópico, as cinco espécies de *D. subg. Dioscorea* foram usadas como grupo externo para uma comparação com *D. subg. Helmia*. O material botânico utilizado obtido através de exsicatas depositadas nos herbários. Os grãos de pólen foram tratados pelo método de acetólise láctica, mensurados, descritos, fotomicrografados; realizou-se tratamento estatístico. Para análise em MEV, os grãos de pólen, não acetolisados foram espalhados sobre uma fita de carbono. Os resultados obtidos permitiram separar palinologicamente as espécies de *Dioscorea*, em sete tipos pelo atributo ornamentação da sexina. Tipo I: Reticulada, Tipo II. Perfurada, Tipo III. Microrreticulada, Tipo IV. Vermiculada, Tipo V. Rugulada, Tipo VI. Espiculada, Tipo VII. Estriada. Foi possível observar, descrever e ilustrar pela primeira vez uma nova posição de queda nos grãos de pólen das espécies

estudadas, registrada como vista equatorial lateral. Alguns grãos de pólen de espécies de *Dioscorea* (*D. anomala*; *D. campestris* e *D. glandulosa*) se caracterizam por possuírem ambas as aberturas, monossulcado e dissulcado no mesmo espécime. Foi realizada uma análise multivariada dos tipos polínicos foram reconhecidos. O presente estudo não corroborou a classificação taxonômica em relação às seções aceitas, traz-se necessária uma reavaliação dos subgêneros estabelecidos e conseqüentemente, um melhor entendimento das linhagens filogenéticas reconhecidas.

Palavras-chave: *Dioscorea*, Dioscoreaceae, *Helmia*, Palinologia.

ABSTRACT

PALYNOTAXONOMY OF REPRESENTATIVES OF *DIOSCOREA* SUBGENERO *HELMIA* AND *D. SUBG. DIOSCOREA* (DIOSCOREACEAE) OCCURRENTS IN THE NEOTROPIC.

Fernanda da Costa Alzer

Orientadores: Cláudia Barbieri Ferreira Mendonça

Rosana Conrado Lopes

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

A study of pollen grains was done, from 24 species subgenus *Dioscorea* L., 19 species *D. subg. Helmia* e 5 *D. subg. Dioscorea*. The main objectives of this study were: expand the palynological knowledge of the subgenus *Helmia* in the Neotropics, evidence palynological characteristics that have a taxonomic value, contribute to a new delimitation of the sections of the subgeneres *Helmia* no Neotrópico, the five species of *D. subg. Dioscorea* will be used as an external group for a comparison with *D. subg. Helmia*. The botanical material was obtained through exsiccates deposited in the herbaria. The pollen grains have been treated by the method of lactic acetolysis, measured, described, photomicrographed, statistical were analysis was performed. For analysis in a SEM, the pollen grains, not acetolysed, spread over a ribbon. The results obtained allowed to separate palynologically the species of *Dioscorea*, in seven types by the attribute ornamentation of sexine. Type I: Reticulate, Type II. Perforate, Group III. Microreticulate, Type IV. Vermiculate, Type V. Rugulate, Type VI. Espiculate, Type VII. Striate. It was possible to observe, describe and illustrate for the first time a new view on the pollen degrees of the species studied, recorded as lateral equatorial view. Some grains of *Dioscorea* species (*D. anomala*, *D. campestris* and *D. glandulosa*) are

characterized by having both aperture, monosulcate and disulcate in the same specimen. A multivariate analysis of the pollen types was performed. The present study did not corroborate the taxonomic classification in relation to the accepted sections, a reassessment of the established subgeneres and, consequently, a better understanding of the recognized phylogenetic lineages.

Keywords: *Dioscorea*, Dioscoreaceae, *Helmia*, Palynology.

SUMÁRIO

Ficha Catalográfica.....	iii
Resumo	ix
Abstract.....	xi
1. INTRODUÇÃO	1
2. MATERIAL E MÉTODOS	4
2.1. <i>Dioscorea</i>	4
2.2. Coleta do material polínico.....	4
2.3. Microscopia de luz.....	5
2.4. Microscopia de varredura (MEV).....	6
2.5. Medidas.....	6
2.6. Análise Estatística.....	7
2.7. Terminologia.....	8
2.8. Análise Multivariada.....	8
3. RESULTADOS	9
3.1. Descrição Polínica	9
3.1.1. Unidade de dispersão, Polaridade e contorno	9
3.1.2. Tamanho	10
3.1.3. Abertura	10
3.1.4. Estratificação e ornamentação da exina.....	11
3.2. Análises Multivariadas	13
3.2.1. Análise de Agrupamento Hierárquico (HCA)	13
3.2.2. Análise de Componente Principal (PCA)	13
4. RESULTADOS	15
Tabela 1	15
Tabela 2.....	17
Tabela 3.....	18
Tabela 4.....	19
Tabela 5.....	21

5. FIGURAS.....	23
Figura 1	23
Figura 2	24
Figura 3	25
Figura 4	26
Figura 5	27
Figura 6	28
Figura 7	29
Figura 8	30
6. DISCUSSÃO.....	31
7. CONCLUSÃO.....	40
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	41
ANEXO 1	46
ANEXO 2	48

1. Introdução

Dioscoreales compreende as famílias Burmanniaceae, Dioscoreaceae, Nartheciaceae e Thismiaceae, sendo Nartheciaceae a única sem representantes no Brasil (Davis *et al.* 2004; Merckx *et al.* 2006; APG IV 2016). Dioscoreaceae é composta por cerca de 650 espécies com distribuição predominante pantropical, com poucos representantes na região temperada (Stevens *et al.* 2017). As espécies distribuem-se em todo o Brasil, destacando-se nos biomas Mata Atlântica e Cerrado. (Kirizawa *et al.* 2017).

Dioscoreaceae atualmente é aceita como monofilética, mas incertas em relação às outras famílias de monocotiledôneas (Caddick 2002a, b). A família caracteriza-se por apresentar plantas dióicas ou monóicas, trepadeiras volúveis ou subarborescentes, com órgão subterrâneo de reserva na maioria das espécies. Os ramos são aéreos, inermes, alados ou aculeados e as folhas apresentam pecíolos com pulvinos nas duas extremidades. As inflorescências estaminadas são axilares ou raramente terminais, isoladas ou agrupadas, e as pistiladas, solitárias. Os frutos são geralmente do tipo cápsula, baga ou sâmara (Couto 2010). A família é formada pelos gêneros *Stenomerris* Planch (2spp.), *Trichopus* Gaertn. (2spp.), *Tacca* J.R. et G. Forst. (12spp.) e *Dioscorea* L. (ca.630 spp. = 95% das spp. de Dioscoreaceae, grande parte da diversidade morfológica, química e genética da família – Couto 2015), dos quais apenas os dois últimos ocorrem no Brasil (APG IV 2016).

O gênero *Dioscorea* é o mais representativo da família e de grande importância para a taxonomia do grupo, devido a ampla diversidade morfológica (Wilkin *et al.* 2005). É o único com ocorrência no Brasil, onde apresenta 139 espécies, com 99 dessas endêmicas (Kirizawa *et al.* 2017).

Dioscorea foi tratado por Knuth (1924) compreendendo quatro subgêneros, sendo *Dioscorea* subg. *Helmia* (Knuth) Uline composto por 17 seções (ca.239 spp.), *D.* subg. *Dioscorea* Pax com 39 seções (ca.337 spp.), *D.* subg. *Stenophora* (Uline) R. Knuth com duas (ca.15 spp.) e *D.* subg. *Testudinaria* (Salisb.) Uline sem divisão em seções (ca. 24 spp.). Os dois principais subgêneros que agrupam quase a totalidade das espécies são *D.* subg. *Helmia* e *D.* subg. *Dioscorea*. Esses grupos são morfológicamente diferenciados apenas pela forma da ala das sementes (Couto 2015). As espécies que compõem *D.* subg. *Helmia* caracterizam-se pela presença de ala na base das sementes, e *D.* subg. *Dioscorea* a ala encontra-se em redor de todo o núcleo seminífero (Knuth

1924). *Dioscorea* subgênero *Helmia* distribui-se por toda a região tropical, porém tem a maioria de suas espécies ocorrendo na região neotropical, onde estão representadas 13 das 21 seções (Couto 2015). Alguns autores ressaltam a escassez de estudos para Dioscoreaceae (Pedralli 1998; Wilkin *et al.* 2005; Couto 2015), principalmente no que tange às análises combinadas de filogenias moleculares e morfológicas, acrescidas de informações biogeográficas. Também é reduzido o número de referências bibliográficas em relação ao número de táxons e à importância econômica da família (medicinal e alimentícia). A grande diversidade morfológica e a complexa identificação taxonômica acarreta uma redução da representatividade nas coleções depositadas em herbários (Couto 2015).

Em Dioscoreaceae, Wilkin *et al.* (2005) e Viruel *et al.* (2016) apresentaram um estudo baseado em duas regiões do DNA (*rbcL* e *matK*) de espécies que pertencem a diversas seções de Knuth (1924), encontrando apenas duas seções como monofiléticas (*Enatiophyllum* Uline e *Stenophora* Uline) e seis outros clados com espécies de diversas seções, demonstrando que as seções apresentadas por Knuth (1924) necessitam de uma revisão e de uma abordagem filogenética. Couto (2015) realizou estudos filogenéticos com sequenciamentos de DNA, utilizando algumas espécies de *Dioscorea* do Neotrópico, onde os resultados mostraram clados monofiléticos New World I, New World II e também obtiveram o novo clado New World III. (Anexo 1). Estudo filogenético recente para o grupo desenvolvido por (Couto 2015) apontou a necessidade de análise palinológica das espécies de *D.* subg. *Helmia* para inclusão em análises morfológicas visando uma melhor resolução das relações filogenéticas. Em sua tese, o autor obteve grupos monofiléticos no gênero *Dioscorea*, *D.* subg. *Helmia* e concluiu a grande necessidade de uma melhor definição nos limites e resolução das relações filogenéticas. Ficou clara a importância da ampliação de terminais para cada clado, utilizando novos marcadores moleculares e nucleares e aumento de clados morfológicos incluindo dados anatômicos (Barroso *et al.* 1974, Couto *et al.* 2014 e Tenório *et al.* 2017) e palinológicos (no Brasil Barroso *et al.* 1974 e Couto *et al.* 2014).

O uso da Palinologia em vários ramos da ciência, só é possível devido à grande variabilidade morfológica do grão de pólen, que permite caracterizar famílias, gêneros e espécies. Essas características, estabelecidas geneticamente, não estão sujeitas às variações das condições ambientais, o que as torna, em geral, bastante estáveis e de grande valor diagnóstico, com aplicação mais ampla na Taxonomia, dando, inclusive, suporte aos estudos cladísticos, que buscam as relações entre os diferentes grupos de

plantas, na tentativa de traçar as linhas evolutivas dos diferentes táxons. Entre os vários caracteres morfológicos, genéticos, moleculares e fitoquímicos, empregados nos estudos cladísticos, o pólen tem a vantagem de ter seus caracteres morfológicos bem estudados do ponto de vista evolutivo e documentados nos registros fósseis com datação de ocorrência conhecida (Melhem *et al.* 2003).

Estudos palinológicos realizados em Dioscoreaceae, foram encontrados nos trabalhos de Erdtman (1952) que examinou *D. densiflora* Hemsl. e *Rajania cordata* var. *microcarpa* Uline ex R. Knuth e observou entre outras características, grãos de pólen 3-sulcados.

Barroso *et al.* (1974) estudaram as espécies de Dioscoreaceae do município do Rio de Janeiro, tanto no aspecto taxonômico quanto palinológico. Para este último afirmam que os grãos de pólen são iguais quanto à forma e abertura, podendo variar em relação à estrutura da exina e ao aspecto da superfície.

Schols *et al.* (2001), examinaram espécies de *Dioscorea*, usando a microscopia de luz (ML) e concluíram que os grãos de pólen encontrados são 1-, 2- ou 3-sulcados com o eixo mais longo variando de 18,0 a 45,0 µm.

Em continuidade ao estudo de *Dioscorea*, Schols *et al.* (2005a) compararam o desenvolvimento polínico de quatro espécies de Dioscoreales (*Nartheceum ossifragum* Huds., *Tacca artocarpifolia* Seem, *Tacca chantrieri* André e *Dioscorea communis* (L.) Caddick e Wilkin) e concluíram que o desenvolvimento da tétrade foi similar diferindo na quantidade de abertura. Neste mesmo ano, Schols *et al.* (2005b) compilaram os dados de 96 espécies analisadas anteriormente formando quatro árvores ressaltando a importância filogenética dos seguintes caracteres: tamanho, número de abertura, ornamentação da exina e presença ou não de orbículos.

Wilkin *et al.* (2009), utilizaram a morfologia polínica de *Dioscorea* para separação de dois grupos de população de espécies de *Dioscorea gillettii* Milne-Redh., ocorrentes no Kenia e na Etiópia.

Estudos recentes mostraram que espécies de *Dioscorea campestris* Griseb. e *Dioscorea pedalis* (Uline ex R. Knuth) R. Couto & J. M. A. Braga, foram separadas baseadas nos tamanhos dos grãos de pólen e das ornamentações da sexina (Couto *et al.* 2014).

Outros autores sugeriram a possível importância taxonômica da morfologia polínica em Dioscoreaceae tais como Su (1987), Caddick *et al.* (1988), Xifreda (2000) e Couto (2015).

Diante do acima exposto, faz-se necessária a elaboração de novos estudos sobre a morfologia polínica para os subgêneros de *Dioscorea* (*D.* subg. *Helmia* e *D.* subg. *Dioscorea*) e ampliar os conhecimentos dos táxons ocorrentes no Neotrópico.

Este trabalho foi baseado nas seções de Knuth (1924) que não são suportadas por análises filogenéticas devido a sua complexidade taxonômica.

As espécies selecionadas têm como objetivo englobar um amplo aspecto da diversidade morfológica dos clados neotropicais, incluindo representantes de várias seções. O estudo palinológico foi realizado com 24 espécies do neotrópico, sendo 19 *D.* subg. *Helmia* e cinco espécies *D.* subg. *Dioscorea* (grupo externo para comparação) onde serão selecionados caracteres de valor taxonômico que poderá auxiliar na determinação das espécies e contribuir para uma nova delimitação das seções pertencentes a *D.* subg. *Helmia*.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. *Dioscorea*: Gênero de estudo

Foram estudadas palinologicamente 24 táxons do gênero *Dioscorea*, sendo 19 *D.* subg. *Helmia* e cinco *D.* subg. *Dioscorea*, com o objetivo de analisar comparativamente os atributos polínicos das espécies em questão (Anexo 2). A descrição palinológica está organizada de acordo com os seguintes caracteres polínicos: tamanho, unidade de dispersão, contorno, tipo e número de abertura e padrão de ornamentação da sexina.

2.2. Coleta do material polínico

O material polínico foi obtido a partir de anteras férteis de flores em antese e/ou botões em pré-antese, provenientes de exsicatas depositadas nos herbários ESA, HB, NCU, R, RB e RFA. As siglas estão de acordo com o Index Herbariorum (Thiers *et al.* 2016). Priorizaram-se materiais identificados pelos taxonomistas da família, a fim de evitar análises palinológicas equivocadas, e com distribuição no território brasileiro. Para cada espécie estudada foi escolhido um espécime considerado "padrão", indicado no material examinado por um asterisco (*), utilizado para a realização das descrições e

ilustrações. Sempre que possível procurou-se estudar até três espécimes de cada espécie, denominados "material de comparação", com a finalidade de se estabelecer a variação morfológica dos espécimes.

2.3. Microscopia de luz

Para a realização do estudo em microscopia de luz, o material foi processado segundo o método da acetólise láctica 60%, estabelecida por Raynal & Raynal (1971), pelo fato de os grãos de pólen se mostrar em pouco resistentes à acetólise tradicional. As anteras foram colocadas sobre uma lâmina histológica utilizando-se estiletes devidamente flambados e, com auxílio de um bastão de vidro, as mesmas foram maceradas com o intuito de liberar os grãos de pólen. Posteriormente, por meio de uma pipeta, os grãos de pólen receberam de uma a duas gotas da mistura acetolítica, que consiste na combinação de ácido sulfúrico (1,0mL), ácido láctico (6,0mL) e anidrido acético (3,0mL). Após receber a mistura acetolítica, o material foi colocado imediatamente sobre uma placa aquecedora por ca. 30 segundos, para que todo o conteúdo citoplasmático fosse destruído. Quando os grãos de pólen encontravam-se sem conteúdo, todo o processo foi interrompido com uma gota de água morna e uma gota de álcool. Para a montagem das lâminas foi utilizada gelatina glicerinada preparada segundo Kissler (1935 *apud* Erdtman 1952) e cortada em pequenos cubos. Com o auxílio de um estilete, previamente flambado, e devidamente resfriado, os cubos de gelatina entraram em contato com o sedimento polínico e por meio de movimentos giratórios, os grãos de pólen aderiram-se a eles. Distribuíram-se os cubos no mínimo de três lâminas histológicas, previamente limpas, que foram levadas à placa aquecedora para que a gelatina derretesse. Homogeneizou-se o material com o auxílio de um estilete. Colocou-se então, uma lamínula sobre a gelatina glicerinada e lutou-se o conjunto com parafina. Foram colocadas esferas de massa de modelar (ca. 1 mm de diam.) entre a lâmina e a lamínula para evitar o amassamento dos grãos de pólen (Reitsma 1969). As lâminas então foram identificadas com o número de registro do herbário de origem do material em questão. As fotomicrografias dos grãos de pólen em microscopia de luz foram realizadas com auxílio de câmera digital Cânon Power Shot G6 acoplada ao microscópio Zeiss Axiostar Plus, na objetiva 100X.

2.4. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)

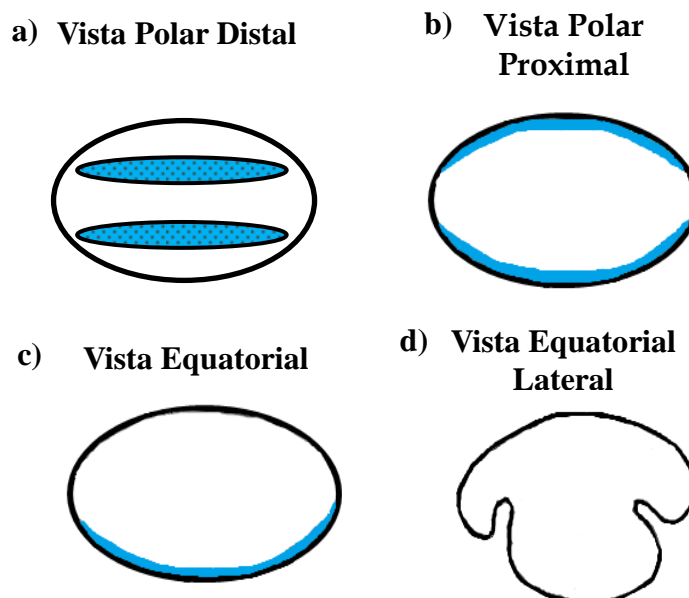
Para análise em microscópio eletrônico de varredura (MEV), as anteras, sob estereomicroscópio, foram separadas do material herborizado com auxílio de pinça e estiletos previamente esterilizados, maceradas e os grãos de pólen, não acetolisados, pulverizados sobre suportes de alumínio devidamente numerados e recobertos por fita de carbono (Melhem *et al.* 2003). O conjunto foi transferido para uma bomba a vácuo e metalizado com uma camada de ouro puro por ca. três minutos, sendo posteriormente, em aparelho JEOL JSM 6510, localizado no Laboratório de Imagens em Microscopia Óptica e de Varredura - LABIM/UFRJ. As eletromicrografias de cada espécie foram organizadas em pranchas elaboradas no programa CorelDraw 12.

2.5. Medidas

Do material padrão foram mensurados grãos do pólen em vista polar, vista equatorial e vista equatorial lateral tomados aleatoriamente, em pelo menos três lâminas a fim de homogeneizar a amostra (Salgado-Labouriau 1973). Foram feitas 25 medidas, em microscópio binocular com uma ocular micrométrica, dos diâmetros maior (DM) e menor (Dm) quando em vista polar (VP), dez medidas dos diâmetros polar (DP) e equatorial (DE), quando em vista equatorial (VE); dez medidas dos diâmetros maior (DM) e menor (Dm), quando em vista equatorial lateral (VEL), dez medidas das camadas da exina, dez medidas da abertura (comprimento e largura). Para o comprimento dos sulcos foram estabelecidos parâmetros para as medidas (Pequenos: 10,0 μm - 14,9 μm ; longos: 15,0 μm - 20,0 μm ; muito longos: 20,1 μm - 31,0 μm). Também foi mensurada a margem do sulco quando presente.

Tradicionalmente em monocotiledônea, encontram-se grãos de pólen com uma única abertura no polo distal. Na maioria das espécies estudadas neste trabalho foram observados grãos de pólen dissulcados. Os grãos de pólen se posicionaram na lâmina preferencialmente, em vista polar, tornando-se difícil a obtenção de grãos de pólen em vista equatorial e vista equatorial lateral. Neste estudo foram registradas quatro posições de queda dos grãos de pólen nas lâminas, assim denominadas (Esquema 1): a) Vista Polar Distal: as aberturas estão no centro do polo; b) Vista Polar Proximal: quando as aberturas estão localizadas próximas as periferias do grão de pólen; c) Vista Equatorial:

quando uma das aberturas é parcialmente visualizada em uma das periferias do grão de pólen; d) Vista Equatorial Lateral: torna-se visível as duas aberturas pela lateral da vista equatorial.



Esquema 1: Posição dos grãos de pólen

Para as mensurações das comparações foram medidos dez grãos de pólen em vista polar. De cada espécime foi montada um mínimo de três lâminas permanentes com os grãos de pólen acetolisados para uniformizar a amostra (Salgado-Labouriau *et al.* 1965). Os grãos de pólen acetolisados foram medidos até três dias após sua preparação, a fim de se evitar qualquer alteração no tamanho do pólen (Salgado-Labouriau 1973, Wanderley & Melhem 1991). As formas e a ornamentação da exina foram analisadas e descritas posteriormente. As lâminas utilizadas no estudo serão depositadas na Palinoteca do Laboratório de Palinologia Álvaro Xavier Moreira, no Departamento de Botânica do Museu Nacional/UFRJ.

2.6. Análise Estatística

Para os resultados das amostras com 25 medidas foi realizado um tratamento estatístico específico, onde parâmetros são estabelecidos como média aritmética (\bar{x}), desvio padrão da média ($s_{\bar{x}}$), intervalo de confiança a 95% (IC 95%) e faixa de variação.

Os resultados do tratamento estatístico e da análise morfológica foram apresentados em forma de tabelas.

2.7. Terminologia

A terminologia adotada para descrição dos grãos de pólen foi a de Punt *et al.* (2007). Para a classificação do tamanho, contorno e padrão de ornamentação da sexina seguiu-se Barth & Melhem (1988) e Erdtman (1952), que utilizou os seguintes parâmetros para o tamanho: pequeno (10-25 μm); médio (25-50 μm).

2.8. Análise Multivariada

Com o auxílio do programa PC-ORD versão 5.31 (McCune & Mefford 2011) foi realizada a análise exploratória dos dados. Os atributos polínicos das espécies analisadas foram organizados em uma matriz com um total de 20 variáveis, para melhor organização dos dados nos gráficos elaborados, abreviou-se o nome das espécies com quatro letras dos epítetos (Anexo 2) e os atributos polínicos (variáveis) foram expressos por letras.

As variáveis incluídas nas análises multivariadas foram: Pequeno – PEQ, Médio - MED, Sulco Longo – SL, Sulco Muito Longo – SML, Duas Aberturas – AB2, Uma e Duas Aberturas – AB1-2, Margem - M, Opérculo – OPER, Rugulada Microrreticulada – RUG-MICR, Reticulada-cristada – RET CRIS, Perfurada - PERF, Rugulada – RUG, Rugulada-reticulada – RUG RET, Rugulada-perfurada – RUG PERF, Espiculada – ESP, Estriada – ESTR, Vermiculada-perfurada – VER PERF, Vermiculada – VER, Reticulada – RET, Microrreticulada – MICRORRET, com suas respectivas numerações.

Os dados qualitativos foram expressos na matriz, levando em consideração a presença ou ausência dos referidos caracteres, através de numerações: (1) para caracteres presentes ou (zero) para caracteres ausentes.

A matriz utilizada para a análise multivariada (PCA e Cluster) foi transformada pela raiz quadrada de potência 0.5 a fim de padronizar os dados mensuráveis.

Para a ordenação das variáveis realizou-se a análise de componente principal (PCA) para verificar se os atributos polínicos permitem o agrupamento das espécies. A matriz de variância e covariância (var-cov) foi obtida a partir da média dos dados morfométricos na análise palinológica, ordenadas em um gráfico biplot com base na distância euclidiana. Os resultados foram mostrados em um gráfico bidimensional com o primeiro e segundo componente principal. Os valores dos vetores em cada eixo e o total da variância acumulativa foram representados em tabelas, assim como a matriz de caracteres para análise de agrupamento.

Foi realizada a análise de agrupamento (Cluster-AHC) com o objetivo de classificar as espécies analisadas, em grupos que compartilham (similaridade) variáveis polínicas. Foram considerados dois aspectos em relação aos grupos formados e ao conjunto de variáveis analisadas: o percentual de informações (variáveis) necessário para chegar aos grupos, associado à quantidade final de grupos formados. Na análise de Cluster (AHC) foi construído um dendrograma usando a medida de distância euclidiana (Caccavari *et al.* 2008), com método de linkage Ward's.

3. RESULTADOS

3.1. Descrição Polínica

3.1.1. Unidade de dispersão, polaridade e contorno

Todas as espécies de *Dioscorea* subg. *Helmia* e *D.* subg. *Dioscorea* apresentaram grãos de pólen em mônades, heteropolares, de contorno elíptico em vista polar na maioria das espécies (Fig. 1B,D, K; Fig. 2A-D, G-H, L; Fig. 3A-C, E-J; Fig. 4D, F, G, M; Fig. 5D-F, G,-I; Fig. 6C, E, G-K), exceto em *D. anomala*, que apresentou contorno tendendo ao circular com uma das faces aproximadamente aguda (Fig.1 G-J), em *D. monadelpha* o contorno variou de elíptico a triangular (Fig.4 A-B) e em *D. perdicum* o contorno variou de elíptico a quadrangular (Fig. 5A-B); a vista equatorial foi difícil de registrar em fotomicrografia na maioria das espécies, sendo registrada em *D. therezopolensis* (Fig. 6I). Em vista equatorial lateral o contorno foi circular-lobado (Fig. 2K; 3K; 4C, E; 5L; 6F).

3.1.2. Tamanho

O tamanho dos grãos de pólen variou de pequeno a médio. Das espécies analisadas 11 apresentaram grãos de pólen pequenos, sendo nove de *D.* subg. *Helmia* e duas de *D.* subg. *Dioscorea*: *D. sinuata* (Fig. 5 K) e *D. olfersiana* (Fig. 4H). O tamanho médio foi registrado em 10 espécies de *D.* subg. *Helmia*, e três de *D.* subg. *Dioscorea*: *D. itatiaiensis*, *D. perdicum* (Fig. 5A) e *D. therezopolensis* (Fig. 6H) (Tabela 1, 2).

Em vista polar, as menores dimensões do diâmetro maior (DM) foram registradas para *D.* subg. *Helmia* em *D. campestris* (20,5 μm) e *D.* subg. *Dioscorea* em *D. sinuata* (14,8 μm). As maiores dimensões do diâmetro maior (DM) foram registradas para *D.* subg. *Helmia* em *D. anomala* (35,5 μm) e para *D.* subg. *Dioscorea* em *D. perdicum* (26,7 μm) (Tabela 1).

Em vista equatorial lateral, a maior dimensão do diâmetro maior (DM) foi registrada para *D.* subg. *Helmia*, *D. multiflora* e a menor para *D.* subg. *Dioscorea*, *D. sinuata* (Fig. 2E, K; 3H, K; 4C, E, I, J; 5C, L; 6B, F - Tabela 3).

Observando o diâmetro maior (DM) em vista polar constatou-se que as extremidades dos grãos de pólen variaram de truncadas na maioria das espécies (Fig. 1B, E; 2H, L; 3B, G, L; 4G, J, M; 5 F, H, K, M; 6C, G, K), agudas em *D. campestris* (Fig. 1 K) ou agudo-truncada em *D. convolvulacea*, *D. itatiaiensis*, *D. monadelphica*, *D. perdicum* (2D; 3I; 4B, 5B-C).

3.1.3. Abertura

Grãos de pólen com dois sulcos foram encontrados em todas as espécies de *Dioscorea* subg. *Dioscorea* e na maioria das espécies de *D.* subg. *Helmia* com exceção de *D. anomala*, *D. campestris* e *D. glandulosa* que apresentam 1-2 sulcos (Fig. 1J-K, 3A-C). Todas as espécies apresentam margem nos sulcos com exceção de *D. sinuata*. Os sulcos foram longos ou muito longos nas espécies de *D.* subg. *Helmia* e apenas longo nas de *D.* subg. *Dioscorea*. Os sulcos são difíceis de serem mensurados e registrados sob microscopia de luz devido à ruptura no processo de acetólise, sendo possível seu registro em melhores condições sob microscopia eletrônica de varredura (Tabela 4).

3.1.4. Estratificação e ornamentação da exina

A ornamentação da sexina variou entre as espécies, formando sete tipos e cinco subtipos:

Tipo I: Reticulada

Dioscorea acanthogene: sexina reticulada, heterobrocada, muros sinuosos (Fig. 1C).

Dioscorea campestris: sexina reticulada, heterobrocada, muros do reticulo reto e interrompidos, grânulos no interior dos lumens (Fig. 1L).

Dioscorea campos-portoi: sexina reticulada, heterobrocada, muros do reticulo reto e interrompidos (Fig. 2B, C).

Dioscorea multiflora: sexina reticulada, heterobrocada, muros altos e sinuosos (Fig. 4G).

Dioscorea sincorensis: sexina reticulada, heterobrocada, muros arredondados (Fig. 5J).

Subtipo I.a: Reticulado-Cristada

*Dioscorea monadelph*a: sexina reticulado-cristada, heterobrocada, muros interrompidos (Fig. 4A-B).

Dioscorea stegelmanniana: sexina reticulado-cristada, heterobrocada, grânulos no interior do lúmen, muros com superfície arredondada (Fig. 6B-C).

Tipo II: Perfurada

Dioscorea altissima: sexina perfurada, teto irregular (Fig. 1F).

Tipo III: Microrreticulada

Dioscorea anomala: sexina microrreticulada (Fig. 1J).

Dioscorea convolvulacea: sexina microrreticulada, heterobrocada, muro espesso (Fig. 2F).

Dioscorea mollis: sexina microrreticulada com perfurações. (Fig. 3M).

Dioscorea ovata: sexina microrreticulada, com muros arredondados com estrias (Fig. 4N).

Dioscorea planistipulosa: sexina microrreticulada (Fig. 5D-E).

Tipo IV: Vermiculada

Dioscorea coronata: sexina vermiculada, muros estreitos e superfície arredondada (Fig. 2I).

Dioscorea itatiaiensis: sexina vermiculada muros largos e superfície arredondada (Fig. 3I).

Dioscorea subhastata: sexina vermiculada, muros largos, sinuosos e interrompidos (Fig. 6G).

Subtipo IV.a: Vermiculado-Perfurada

Dioscorea demourae: sexina vermiculado perfurada, muros estreitos e interrompidos (Fig. 2M).

Dioscorea perdicum: sexina vermiculado perfurada, muros estreitos e interrompidos (Fig. 5B-C).

Tipo V: Rugulada

Dioscorea grisebachii: sexina rugulada, muros espessos e interrompidos (Fig. 3H).

Subtipo V.a: Rugulado-Reticulada

Dioscorea sinuata: sexina rugulada-reticulada, muros irregulares com grânulos (Fig. 5M).

Subtipo V.b: Rugulado-Microrreticulada

Dioscorea glandulosa: sexina rugulado-microrreticulada com grânulos no interior dos lumens e perfurações no muro (Fig. 3D).

Subtipo V.c: Rugulado-Perfurada

Dioscorea therezopolensis: sexina rugulado-perfurada, muros largos e interrompidos (Fig. 6L).

Tipo VI: Espiculada

Dioscorea grandiflora: sexina espiculada (Fig. 3E).

Tipo VII: Estriada

Dioscorea olfersiana: sexina estriada, com os cordões das estrias de superfície arredondada e estreita (Fig. 4J).

As espécies apresentaram variação na espessura das camadas da exina. A sexina foi tão espessa quanto à nexina em 10 espécies, mais espessa que a nexina em nove espécies e menos espessa em cinco espécies (Tabela 4).

3.2. Análises Multivariadas

3.2.1. Análise de Agrupamento Hierárquico (HCA)

As relações entre as espécies analisadas produziram um dendrograma com cerca de 42,32% de explicação dos dados. Ao levar em consideração o percentual de informações (variáveis) e a quantidade final de cluster formados, observa-se a formação de quatro cluster, quando analisadas 50% das informações remanescentes (Fig. 7).

- Cluster I: *D. acantogene*, *D. campos-portoi*, *D. sincorensis* e *D. campestris*
- Cluster II: *D. convolvulacea*, *D. ovata*, *D. monadelphica*, *D. olfersiana*, *D. sinuata* e *D. stegelmanniana*.
- Cluster III: *D. demourae*, *D. perdicum*, *D. therezopolensis*, *D. itatiaiensis* e *D. subhastata*
- Cluster IV: *D. altissima*, *D. coronata*, *D. grandiflora*, *D. grisebacchii*, *D. multiflora*, *D. anomala*, *D. mollis*, *D. planistipulosa* e *D. glandulosa*.

3.2.2. Análise de componente principal (PCA)

O resultado do PCA explicou 52,77% do total da variância. Os dois primeiros eixos principais foram significativos, com 39,17% e 13,60% de variância respectivamente. O tipo de abertura dissulcada, sulco longo, tamanho pequeno, ornamentação de sexina reticulada, foram as variáveis significativas para o eixo 1. No segundo eixo as variáveis que apresentaram valores significativos foram sulco muito

longo, tipo de abertura mono e dissulcado, ornamentação de sexina reticulada e tamanho pequeno (Fig. 8).

Os eixos 1 e 2 apresentam espécies bastante dispersas entre os polos positivo e negativo, podendo observar pequenos tipos, isso se deve ao fato de tais espécies apresentarem poucas características que diferencie entre si.

No eixo 1 polo positivo é possível observar a disposição polarizadas das espécies *D. subhastata*, *D. sinuata*, *D. olfersiana*, *D. monadelphica*, *D. ovata*, *D. convolvulacea*, *D. sincorensis*, *D. campos-portoi*, *D. acanthogene* por apresentarem grãos de pólen de tamanho pequeno e sulco longo, *D. campestris* se distanciou das demais por apresentar uma e duas aberturas e *D. stegelmanniana* por apresentar sulco muito longo. No polo negativo, *D. glandulosa* e *D. anomala* ficaram próximas entre si e se distanciaram das demais, por apresentarem grãos de pólen com ambas aberturas mono e dissulcados, caracteres que as diferenciam das outras espécies. Espécies como *D. planistipulosa*, *D. mollis*, *D. multiflora*, *D. grandiflora*, *D. altissima*, *D. grisebacchii* e *D. coronata* se revelaram mais coesos, apresentando espécies próximas entre si na análise do componente principal, principalmente pelos caracteres sulco muito longo e tamanho médio, o único caracter diferenciado foi a ornamentação da sexina (exceto *D. planistipulosa* e *D. mollis*).

No eixo 2, polo positivo *D. stegelmanniana* apresentou-se separada das demais espécies devido a duas características muito significativas para o eixo, grãos de pólen com ornamentação da sexina reticulado-cristada e sulco muito longo. Outra característica significativa que diferencia três espécies, *D. glandulosa*, *D. anomala* e *D. campestris*, é grão de pólen que apresenta ambas aberturas. Entre elas, *D. campestris* se diferenciou por apresentar tamanho pequeno, revelando-se um caracter muito significativo na análise de similaridade dos grãos de pólen. As espécies, *D. planistipulosa*, *D. mollis*, *D. multiflora* também foram registradas próximas entre si na análise do componente principal, quando visualizadas em polos diferentes em ambos os eixos. No polo negativo do eixo 2, as espécies *D. olfersiana*, *D. sinuata* e *D. subhastata* ficaram próximas entre si apresentando caracteres muito significantes em ambas as polaridades dos dois eixos. *Dioscorea therezopolensis*, *D. itatiaiensis*, *D. demourae*, *D. perdicum*, possuem forte similaridade para apresentarem grãos de pólen dissulcados, sendo as duas últimas intimamente relacionadas. As espécies *D. grandiflora*, *D. altissima*, *D. grisebacchii* e *D. coronata*, apresentaram característica similar no tamanho médio diferenciando apenas na ornamentação da sexina.

4. RESULTADOS

Tabela 1. Medidas (μm) dos grãos de pólen de espécies de *Dioscorea* (n=25) em vista polar: diâmetro maior (DM) e diâmetro menor (Dm).

Subgênero	Espécies	Faixa de Variação	Diâmetro Maior		Diâmetro Menor		
			$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	I.C. 95%	Faixa de Variação	$\bar{x} \pm s_{\bar{x}}$	I.C. 95%
<i>Helmia</i>	<i>D. acanthogene</i>	17,5-25,0	21,6 \pm 0,4	20,8-22,4	10,0-20,0	16,1 \pm 0,5	15,1-17,1
<i>Helmia</i>	<i>D. altissima</i>	22,5-30,0	25,8 \pm 0,4	25,0-26,6	12,5-22,5	16,5 \pm 0,5	15,5-17,5
<i>Helmia</i>	<i>D. anomala</i>	22,5-45,0	35,5 \pm 1,1	33,1-37,9	12,5-32,5	23,4 \pm 1,0	21,3-25,5
<i>Helmia</i>	<i>D. campestris</i>	17,5-25,0	20,5 \pm 0,4	19,7-21,3	10,0-15,0	13,2 \pm 0,3	12,6-13,8
<i>Helmia</i>	<i>D. campos-portoi</i>	20,0-27,5	24,2 \pm 0,3	23,5-24,9	15,0-17,5	16,2 \pm 0,3	15,7-16,7
<i>Helmia</i>	<i>D. convolvulacea</i>	20,0-27,5	22,5 \pm 0,5	21,5-23,5	15,0-20,0	18,0 \pm 0,3	17,3-18,7
<i>Helmia</i>	<i>D. coronata</i>	22,5-35,0	28,9 \pm 0,5	27,8-30,0	17,5-27,5	21,5 \pm 0,5	20,5-22,5
<i>Helmia</i>	<i>D. demourae</i>	22,5-30,0	25,8 \pm 0,4	24,9-26,7	12,5-22,5	17,7 \pm 0,4	16,8-18,6
<i>Helmia</i>	<i>D. glandulosa</i>	22,5-32,5	27,2 \pm 0,5	26,1-28,3	17,5-27,5	23,2 \pm 0,5	22,2-24,2
<i>Helmia</i>	<i>D. grandiflora</i>	22,5-30,0	25,5 \pm 0,4	24,6-26,4	17,5-25,0	21,3 \pm 0,5	20,4-22,2
<i>Helmia</i>	<i>D. grisebachii</i>	27,5-40,0	32,7 \pm 0,5	31,6-33,8	12,5-22,5	18,5 \pm 0,6	17,3-19,7
<i>Dioscorea</i>	<i>D. itatiaiensis</i>	27,5-35,0	30,3 \pm 0,4	29,4-31,2	12,5-20,0	16,0 \pm 0,4	15,2-16,8

(continuação 1/2)

Tabela 1. Medidas (μm) dos grãos de pólen de espécies de *Dioscorea* (n=25) em vista polar: diâmetro maior (DM) e diâmetro menor (Dm).

Subgênero	Espécies	Diâmetro Maior			Diâmetro Menor		
		Faixa de Variação	$\bar{x} \pm s_x$	I.C. 95%	Faixa de Variação	$\bar{x} \pm s_x$	I.C. 95%
<i>Helmia</i>	<i>D. mollis</i>	22,5-35,0	30,1 \pm 0,5	29,0-31,2	15,0-25,0	20,4 \pm 0,5	19,4-21,4
<i>Helmia</i>	<i>D. monadelphica</i>	22,5-30,0	24,8 \pm 0,4	23,9-25,7	15,0-22,5	18,2 \pm 0,5	17,2-19,2
<i>Helmia</i>	<i>D. multiflora</i>	27,5-35,0	32,2 \pm 0,5	31,1-33,3	15,0-25,0	19,7 \pm 0,5	18,7-20,7
<i>Dioscorea</i>	<i>D. olfersiana</i>	17,5-25,0	22,4 \pm 0,4	21,6-23,2	15,0-20,0	17,6 \pm 0,4	16,8-18,4
<i>Helmia</i>	<i>D. ovata</i>	20,0-27,5	23,9 \pm 0,4	23,0-24,8	10,0-20,0	14,1 \pm 0,4	13,2-15,0
<i>Dioscorea</i>	<i>D. perdicum</i>	20,0-32,5	26,7 \pm 0,7	25,3-28,1	15,0-25,0	18,8 \pm 0,4	18,0-19,6
<i>Helmia</i>	<i>D. planistipulosa</i>	25,0-32,5	28,8 \pm 0,5	27,7-29,9	12,5-20,0	16,7 \pm 0,5	15,6-17,8
<i>Helmia</i>	<i>D. sincorensis</i>	17,5-25,0	21,2 \pm 0,4	20,4-22,0	15,0-20,0	16,7 \pm 0,3	16,1-17,3
<i>Dioscorea</i>	<i>D. sinuata</i>	12,5-17,5	14,8 \pm 0,2	14,3-15,3	10,0-15,0	11,8 \pm 0,3	11,2-12,4
<i>Helmia</i>	<i>D. stegelmanniana</i>	22,5-27,5	24,9 \pm 0,3	24,3-25,5	12,5-20,0	16,2 \pm 0,5	15,1-17,3
<i>Helmia</i>	<i>D. subhastata</i>	20,0-25,0	22,2 \pm 0,3	21,7-22,7	12,5-20,0	15,3 \pm 0,4	14,4-16,2
<i>Dioscorea</i>	<i>D. therezopolensis</i>	22,5-30,0	26,4 \pm 0,3	25,7-27,1	15,0-22,5	18,6 \pm 0,5	17,6-19,6

x - média aritmética; s_x - desvio padrão da média; I.C.- intervalo de confiança

(continuação 2/2)

Tabela 2. Medidas (μm) dos grãos de pólen de espécies de *Dioscorea* (n=10) em vista equatorial: diâmetro polar (DP) e diâmetro equatorial (DE).

Subgênero	Espécie	Diâmetro Polar		Diâmetro Equatorial	
		Faixa de Variação	\bar{x}	Faixa de Variação	\bar{x}
<i>Helmia</i>	<i>D. campestris</i>	12,5-15,0	14,2	17,5-20,0	19,6
<i>Helmia</i>	<i>D. glandulosa</i>	20,0-25,0	22,5	25,0-30,0	26,8
<i>Dioscorea</i>	<i>D. itatiaiensis</i>	10,0-15,0	13,5	25,0-30,0	29,0
<i>Helmia</i>	<i>D. monadelphica</i>	15,0-20,0	17,3	22,5-27,5	25,0
<i>Helmia</i>	<i>D. ovata</i>	12,5-20,0	17,5	22,5-25,0	24,3

\bar{x} média aritmética

Tabela 3. Medidas (μm) dos grãos de pólen de espécies de *Dioscorea* (n=10) em vista equatorial lateral: diâmetro maior (DM) e diâmetro menor (Dm).

Subgênero	Espécie	Diâmetro Maior		Diâmetro Menor	
		Faixa de Variação	\bar{x}	Faixa de Variação	\bar{x}
<i>Helmia</i>	<i>D. acanthogene</i>	15,0-22,5	19,8	12,5-20,0	17,0
<i>Helmia</i>	<i>D. altissima</i>	20,0-25,0	23,3	10,0-20,0	16,7
<i>Helmia</i>	<i>D. anomala</i>	24,5-25,0	24,8	20,0-22,5	21,3
<i>Helmia</i>	<i>D. campestris</i>	12,5-15,0	13,8	5,0-7,5	6,3
<i>Helmia</i>	<i>D. campos-portoi</i>	17,5-22,5	19,3	10,0-17,5	13,8
<i>Helmia</i>	<i>D. convolvulacea</i>	7,5-20,0	16,9	12,5-22,5	20,6
<i>Helmia</i>	<i>D. coronata</i>	17,5-20,0	19,0	5,0-15,0	8,8
<i>Helmia</i>	<i>D. demourae</i>	20,0-27,5	23,8	15,0-20,0	18,0
<i>Helmia</i>	<i>D. glandulosa</i>	20,0-25,0	23,2	10,0-19,0	14,8
<i>Helmia</i>	<i>D. grandiflora</i>	22,5-27,5	25,5	17,5-22,5	21,0
<i>Helmia</i>	<i>D. grisebachii</i>	24,5-25,0	24,8	17,5-22,5	20,0
<i>Helmia</i>	<i>D. itatiaiensis</i>	17,0-17,5	17,3	12,0-12,5	12,3
<i>Helmia</i>	<i>D. mollis</i>	20,0-25,0	22,8	12,5-22,5	19,5
<i>Helmia</i>	<i>D. monadelphica</i>	17,5-22,5	19,5	12,5-20,0	15,0
<i>Helmia</i>	<i>D. multiflora</i>	27,5-37,5	32,5	25,0-27,5	26,3
<i>Dioscorea</i>	<i>D. olfersiana</i>	17,5-22,5	19,5	12,5-20,0	16,0
<i>Helmia</i>	<i>D. ovata</i>	17,5-20,0	18,5	15,0-17,5	15,5
<i>Dioscorea</i>	<i>D. perdicum</i>	20,0-30,0	24,8	17,5-22,5	20,5
<i>Helmia</i>	<i>D. planistipulosa</i>	14,5-15,0	14,8	9,5-10,0	9,8
<i>Helmia</i>	<i>D. sincorensis</i>	17,5-20,0	18,0	10,0-15,0	13,0
<i>Dioscorea</i>	<i>D. sinuata</i>	12,5-17,5	14,8	7,5-10,0	9,8
<i>Helmia</i>	<i>D. stegelmanniana</i>	17,5-22,5	20,6	15,0-20,0	18,1
<i>Helmia</i>	<i>D. subhastata</i>	17,5-20,0	18,8	12,5-15,0	13,1
<i>Dioscorea</i>	<i>D. therezopolensis</i>	22,5-27,5	24,4	17,5-20,0	18,8

\bar{x} - média aritmética

Tabela 4. Médias (μm) das camadas da exina dos grãos de pólen de espécies de *Dioscorea* (n=10).

Subgênero	Espécies	Comp.	Larg.	Sulco		Espessura da Exina		
				Margem	Distância entre aberturas	Exina	Sexina	Nexina
<i>Helmia</i>	<i>D. acanthogene</i>	16,1	2,2	0,9	9,5	1,5	0,8	0,7
<i>Helmia</i>	<i>D. altissima</i>	20,1	4,5	0,6	7,6	1,7	0,8	0,9
<i>Helmia</i>	<i>D. anomala</i>	30,8	7,8	0,5	11,8	1,9	1,0	0,9
<i>Helmia</i>	<i>D. campestris</i>	17,2	4,0	1,0	11,0	1,9	1,0	0,9
<i>Helmia</i>	<i>D. campos-portoi</i>	19,6	2,6	0,6	7,3	1,8	0,9	0,9
<i>Helmia</i>	<i>D. convolvulacea</i>	16,8	1,8	0,7	6,1	1,4	0,6	0,8
<i>Helmia</i>	<i>D. coronata</i>	22,1	4,1	1,0	13,0	1,8	0,9	0,9
<i>Helmia</i>	<i>D. demourae</i>	18,9	3,4	0,4	9,0	1,9	0,9	1,0
<i>Helmia</i>	<i>D. glandulosa</i>	22,8	9,0	2,0	12,3	2,0	1,0	1,0
<i>Helmia</i>	<i>D. grandiflora</i>	24,0	9,8	2,0	9,0	2,0	0,9	1,1
<i>Helmia</i>	<i>D. grisebachii</i>	24,6	3,8	1,0	9,9	1,9	1,0	0,9
<i>Dioscorea</i>	<i>D. itatiaiensis</i>	19,8	5,4	1,0	5,3	1,9	1,0	0,9

(continuação 1/2)

Tabela 4. Médias (μm) das camadas da exina dos grãos de pólen de espécies de *Dioscorea* (n=10).

Subgênero	Espécies	Comp.	Sulco			Espessura da Exina		
			Larg.	Margem	Distância entre aberturas	Exina	Sexina	Nexina
<i>Helmia</i>	<i>D. mollis</i>	22,7	4,8	1,1	4,8	1,8	0,9	0,9
<i>Helmia</i>	<i>D. monadelpha</i>	18,5	4,8	1,0	9,0	1,8	0,9	0,9
<i>Helmia</i>	<i>D. multiflora</i>	27,0	4,6	0,9	8,6	1,6	0,8	0,8
<i>Dioscorea</i>	<i>D. olfersiana</i>	18,1	3,7	1,0	10,3	1,4	0,7	0,7
<i>Helmia</i>	<i>D. ovata</i>	19,7	3,8	1,0	11,5	2,0	1,0	1,0
<i>Dioscorea</i>	<i>D. perdicum</i>	18,0	2,4	1,0	11,3	1,8	1,0	0,8
<i>Helmia</i>	<i>D. planistipulosa</i>	24,2	5,5	1,0	6,8	1,7	0,9	0,8
<i>Helmia</i>	<i>D. sincorensis</i>	15,0	2,0	0,3	10,2	1,7	0,9	0,8
<i>Dioscorea</i>	<i>D. sinuata</i>	10,2	2,1	----	8,8	1,4	0,7	0,7
<i>Helmia</i>	<i>D. stegelmanniana</i>	20,3	3,5	1,0	8,8	1,5	0,7	0,8
<i>Helmia</i>	<i>D. subhastata</i>	17,3	7,0	1,0	9,0	2,0	1,0	1,0
<i>Dioscorea</i>	<i>D. therezopolensis</i>	18,5	3,8	1,7	9,3	1,9	0,9	1,0

(continuação 1/2)

Tabela 5. Medidas (μm) grãos de pólen de espécies de *Dioscorea* (n=10) dos materiais de comparação em vista polar: diâmetro maior (DM) e diâmetro menor (Dm).

Subgênero	Espécies	DM	Dm
<i>Helmia</i>	<i>D. altissima</i>		
	R. Couto <i>et al.</i> 462	25,3	13,5
	Fontela, P.J. <i>et al.</i> 516	24,0	16,3
<i>Helmia</i>	<i>D. anomala</i>		
	M. L. Fonseca, 1340	28,5	19,8
	M. G. Sajo, 7611	29,3	18,0
<i>Helmia</i>	<i>D. campos-portoi</i>		
	R. Couto, 380	20,5	16,5
<i>Helmia</i>	<i>D. convolvulacea</i>		
	Celso Gutiérrez Báez, 7220	19,5	16,3
<i>Helmia</i>	<i>D. coronata</i>		
	R. Couto, 208	26,0	21,0
<i>Helmia</i>	<i>D. demourae</i>		
	R. Couto, 312	27,3	18,0
<i>Helmia</i>	<i>D. glandulosa</i>		
	R. Couto <i>et al.</i> 98a	27,3	22,3
	R. Couto <i>et al.</i> 468	24,8	17,8
<i>Helmia</i>	<i>D. grisebachii</i>		
	R223949	30,8	20,8
	R.M.S. Souza <i>et al.</i> 304	30,3	20,8
<i>Dioscorea</i>	<i>D. itatiaiensis</i>		
	R. Couto <i>et al.</i> 892	34,0	17,5
<i>Helmia</i>	<i>D. monadelpha</i>		
	R. Couto <i>et al.</i> 145	23,0	15,3
	R. Couto <i>et al.</i> 406	23,8	16,0
<i>Helmia</i>	<i>D. multiflora</i>		
	F. M. B. Pereira, 13	24,8	15,3
	V. C. Souza, 11430	27,5	17,3
<i>Dioscorea</i>	<i>D. olfersiana</i>		

	A. P. Duarte, 9881	21,0	16,5
<i>Helmia</i>	<i>D. ovata</i>		
	Couto <i>et al.</i> 249	20,8	13,8
	R. Couto <i>et al.</i> 295b	20,6	16,9
<i>Helmia</i>	<i>D. planistipulosa</i>		
	D. Sucre, 7327	26,3	16,9
	P. L. Viana, 3413	28,1	19,4
<i>Helmia</i>	<i>D. sincorensis</i>		
	R. Couto, s/n	22,0	15,5
<i>Dioscorea</i>	<i>D. sinuata</i>		
	R. Couto <i>et al.</i> 241	14,5	13,0
	R. Couto <i>et al.</i> 463	14,0	10,3
<i>Helmia</i>	<i>D. stegelmanniana</i>		
	R. Couto <i>et al.</i> 321	24,5	17,5
	C. N. Fraga, 2519	25,8	13,8
<i>Helmia</i>	<i>D. subhastata</i>		
	R. Couto <i>et al.</i> 263	23,8	15,0
	R. Couto <i>et al.</i> 221	27,0	18,5
<i>Dioscorea</i>	<i>D. therezopolensis</i>		
	R. Couto <i>et al.</i> 313	26,7	22,5
	CBCosta, 497	27,5	23,5

5. FIGURAS

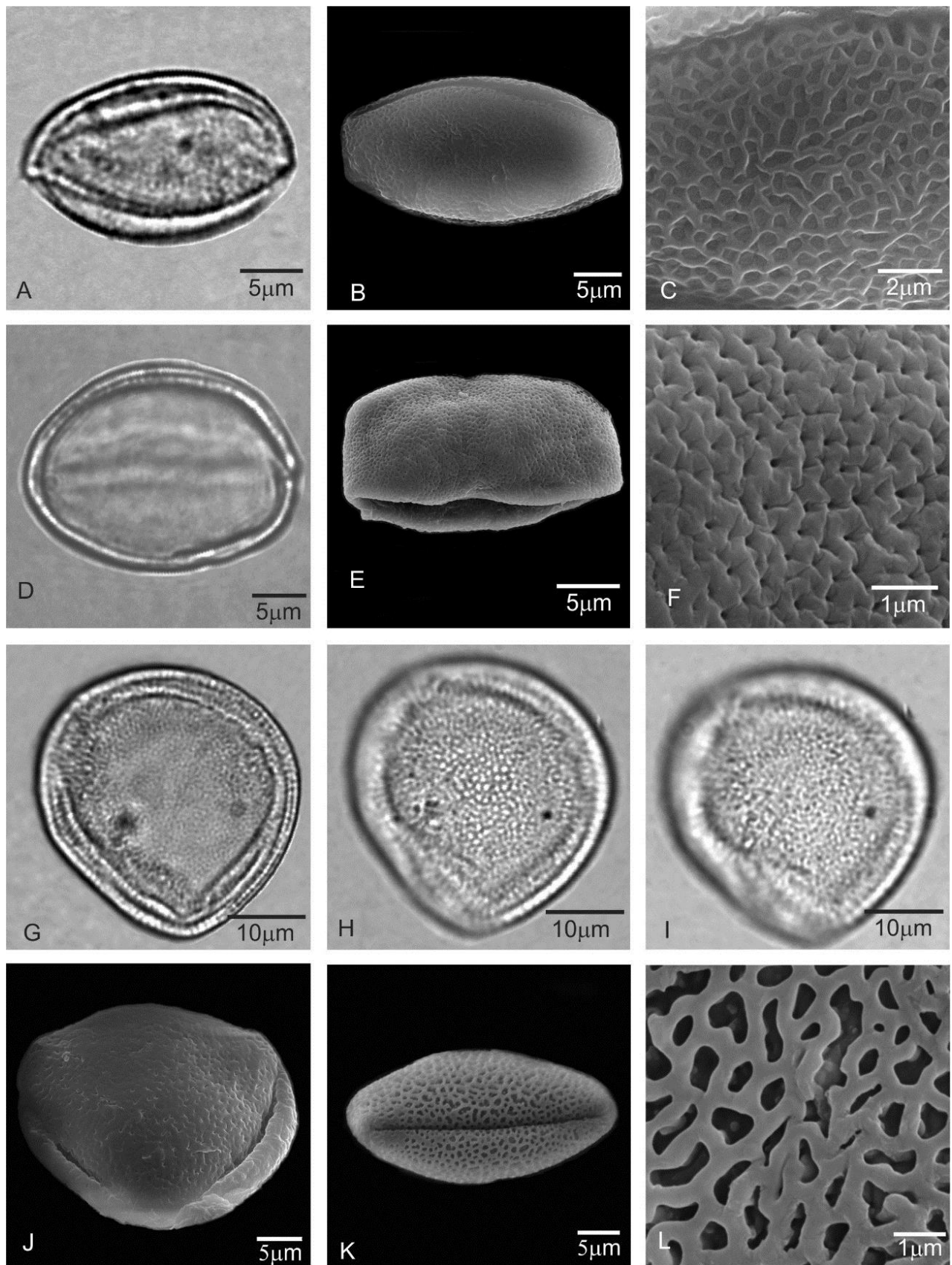


Figura 1. Eletromicrografias de grãos de pólen de espécies de *Dioscorea*. A-C. *D. acanthogene* – A. vista polar contorno, B. vista polar (MEV), C. superfície (MEV). D-F. *D. altissima* – VP: D. contorno, E. abertura e superfície (MEV), F. superfície (MEV). G-I L.O. J. abertura e superfície (MEV). K-L. *D. campestris* – K. Vista polar, Vista geral e abertura (MEV), L. superfície (MEV).

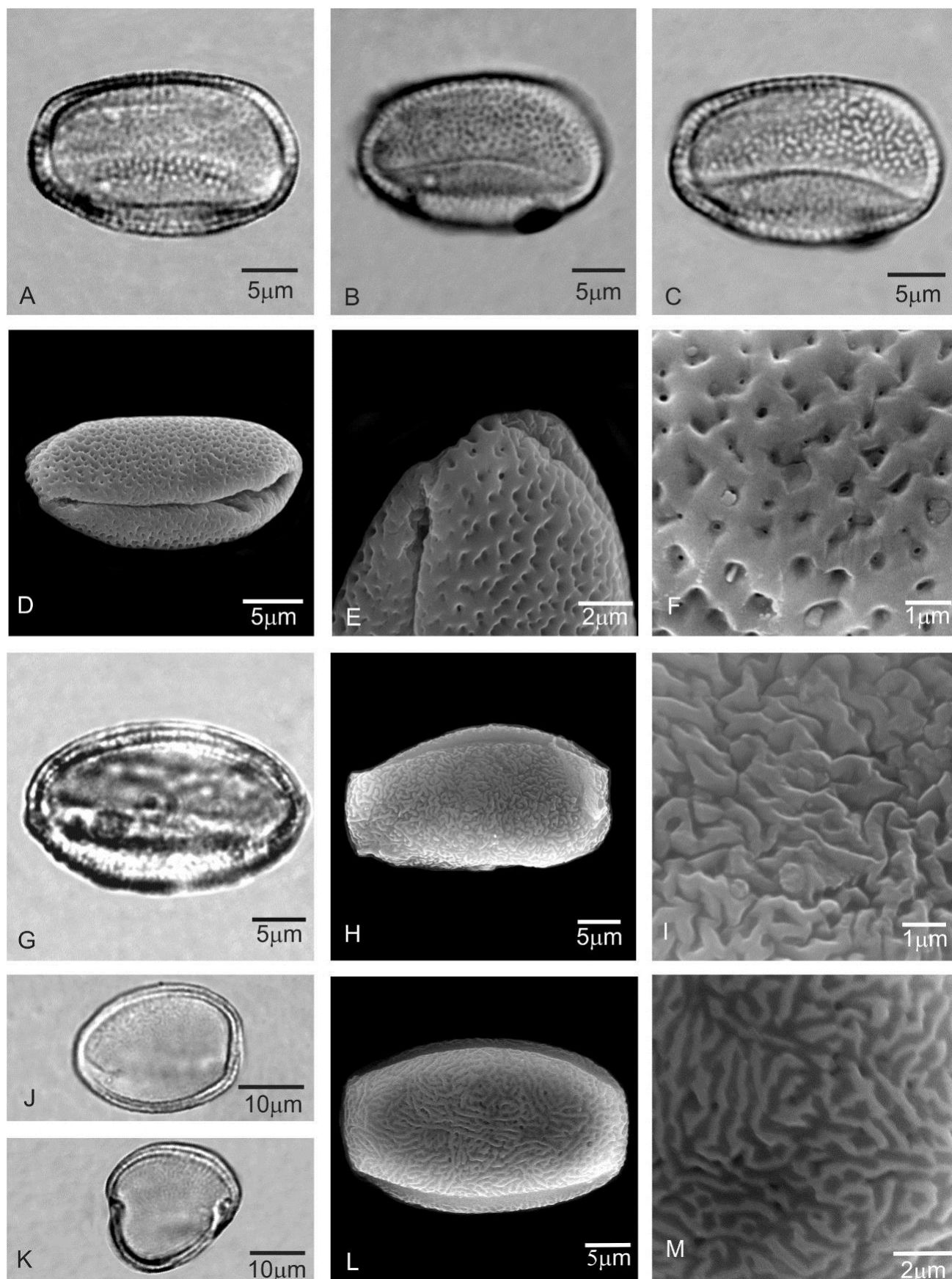


Figura 2. Eletromicrografias de grãos de pólen de espécies de *Dioscorea*. A-C. *D. campos-portoi* – Vista polar, A. contorno, B-C. L.O., D-F. *D. convolvulacea*. D. Vista polar (MEV), E. detalhe das aberturas e vista equatorial lateral (MEV), F. superfície (MEV). G-I. *D. coronata* – G. Vista polar, contorno, H. Vista polar. (MEV), I. superfície (MEV). J-M. *D. demourae*. J. Vista polar, contorno. K. Vista equatorial lateral, contorno, L. Vista polar (MEV), M. superfície (MEV).

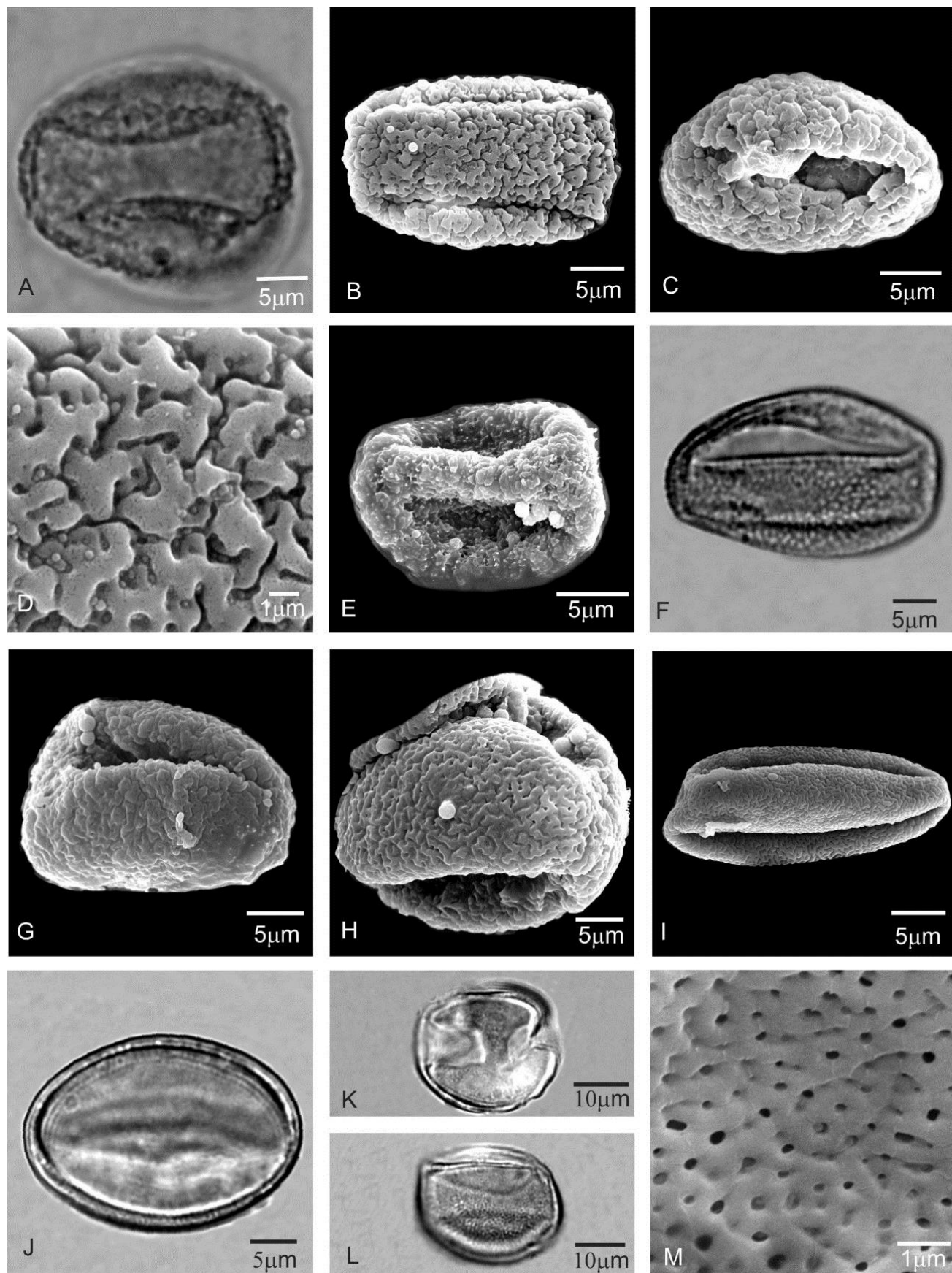


Figura 3. Eletromicrografias de grãos de pólen de espécies de *Dioscorea*. A-D. *D. glandulosa* – A-C. vista polar: A. abertura, B-C. Vista geral e aberturas (MEV), D. superfície (MEV). E. *D. grandiflora* – vista polar e abertura (MEV). F-H. *D. grisebachii*. Vista polar - F. vista geral, G. abertura (MEV). H. abertura e superfície (MEV). I. *D. itatiaiensis* – Vista polar: abertura e superfície (MEV). J-M. *D. mollis* - J. Vista polar, corte óptico, K. Vista equatorial lateral, L. vista polar, abertura e superfície, M. superfície (MEV).

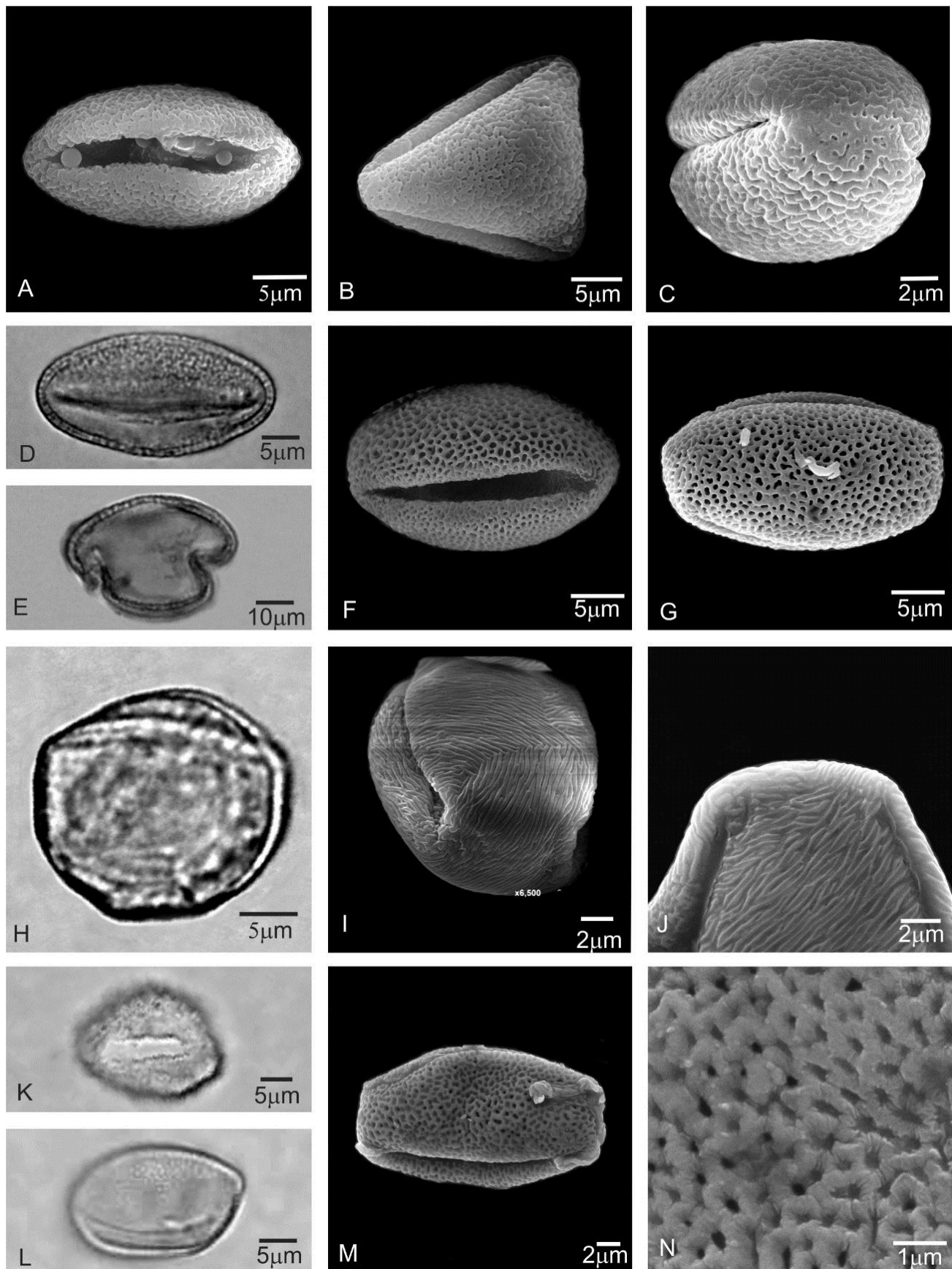


Figura 4. Eletromicrografias de grãos de pólen de espécies de *Dioscorea*. A-C. *D. monadelphya* – Vista Polar: A-B. abertura e superfície (MEV), C. Vista equatorial lateral (MEV). D-G. *D. multiflora* - D. vista polar, contorno e abertura, E. Vista equatorial lateral e contorno, F-G. Vista polar, abertura, contorno e superfície (MEV). H-J. *D. olfersiana* - H. Vista polar, contorno, I. Vista equatorial lateral e abertura (MEV), J. abertura e superfície (MEV). K-N. *D. ovata* – Vista polar K. abertura, L. abertura, M. abertura (MEV), N. superfície (MEV).

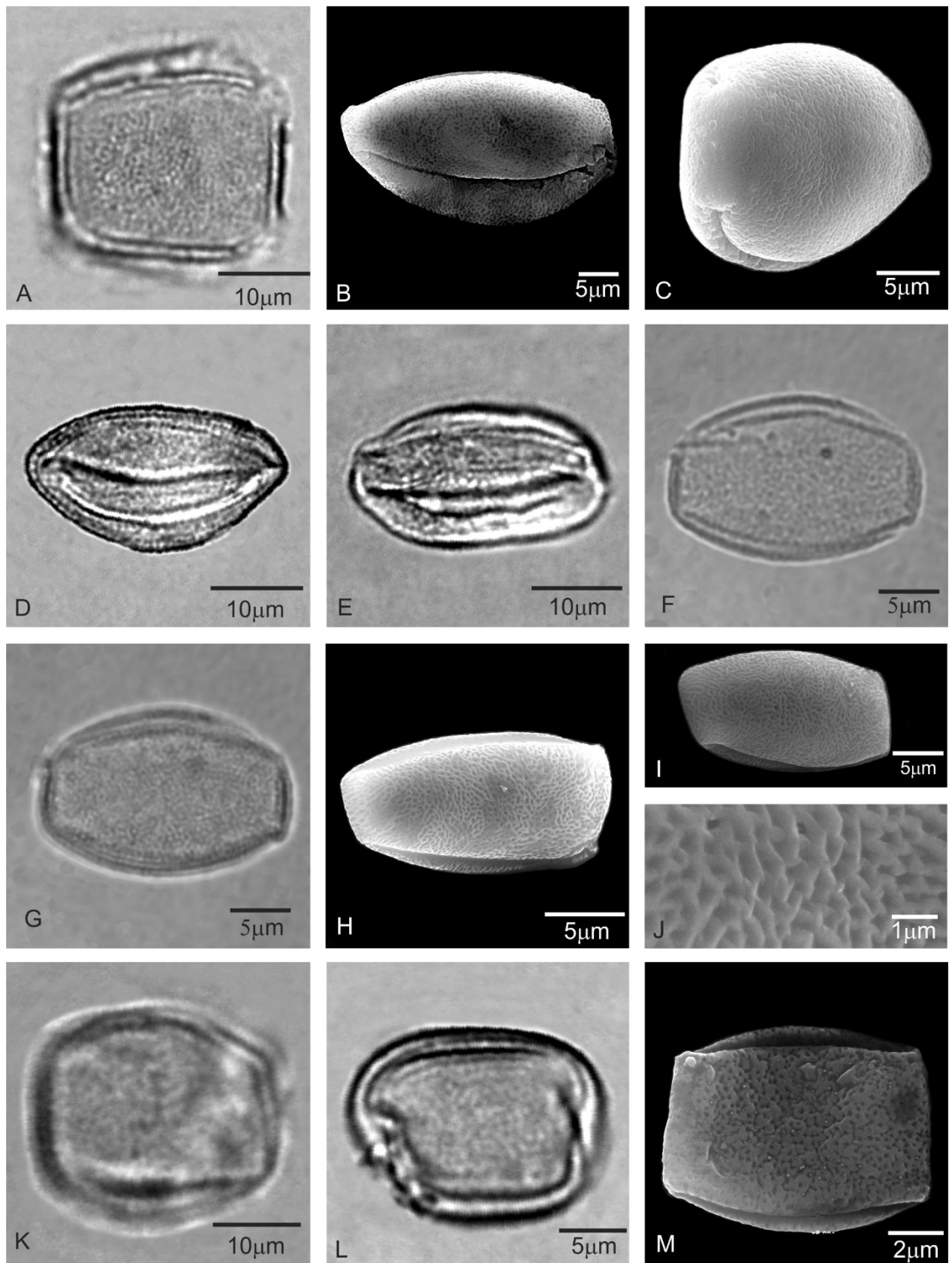


Figura 5. Eletromicrografias de grãos de pólen de espécies de *Dioscorea*. A-C. *D. perdicum* – Vista polar, A. contorno, B. superfície e abertura (MEV), C. vista equatorial lateral e superfície (MEV). D-E. *D. planistipulosa* – D-E. vista polar e abertura F-J. *D. sincorensis* – F-G. L.O., H-I. vista polar (MEV), J. superfície (MEV). K-M. *D. sinuata* – K. vista polar, L. vista equatorial lateral, M. Vista polar, superfície e abertura (MEV).

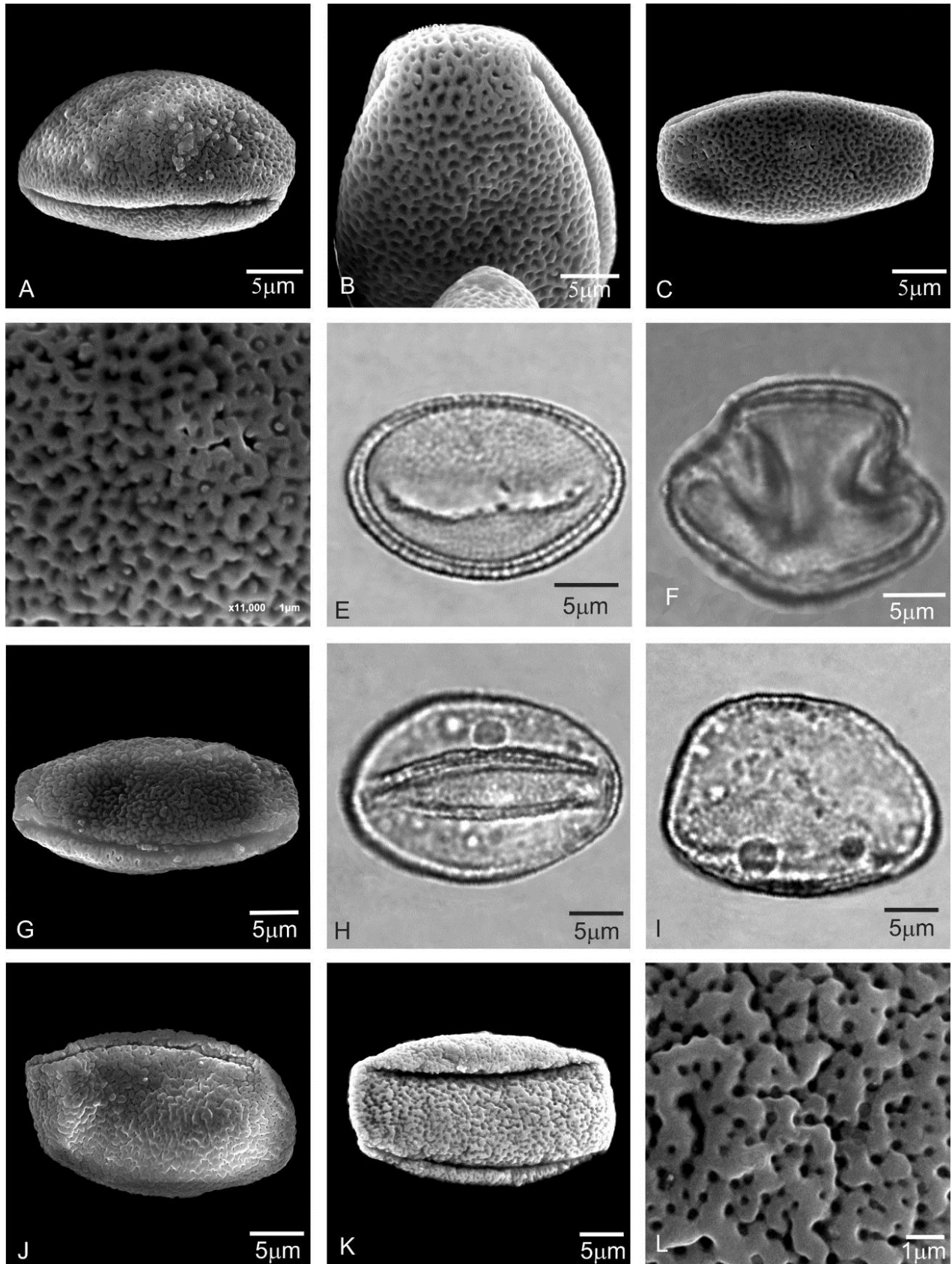


Figura 6. Eletromicrografias de grãos de pólen de espécies de *Dioscorea*. A-D. *D. stegelmanniiana* – A. Vista polar, abertura (MEV), B. superfície e abertura (MEV), C. Vista polar (MEV) D. superfície (MEV). E-G. *D. subhastata*: E. Vista polar, F. Vista equatorial lateral, G. Vista polar e superfície (MEV). H-L. *D. therezopolensis* – H. vista polar: abertura e margem, I. vista equatorial, J-K. vista polar e abertura (MEV), L. superfície (MEV).

Figura 7. Dendrograma combinado de dados qualitativos de espécies de *Dioscorea* L. por análise hierárquica de aglomeração (HCA).

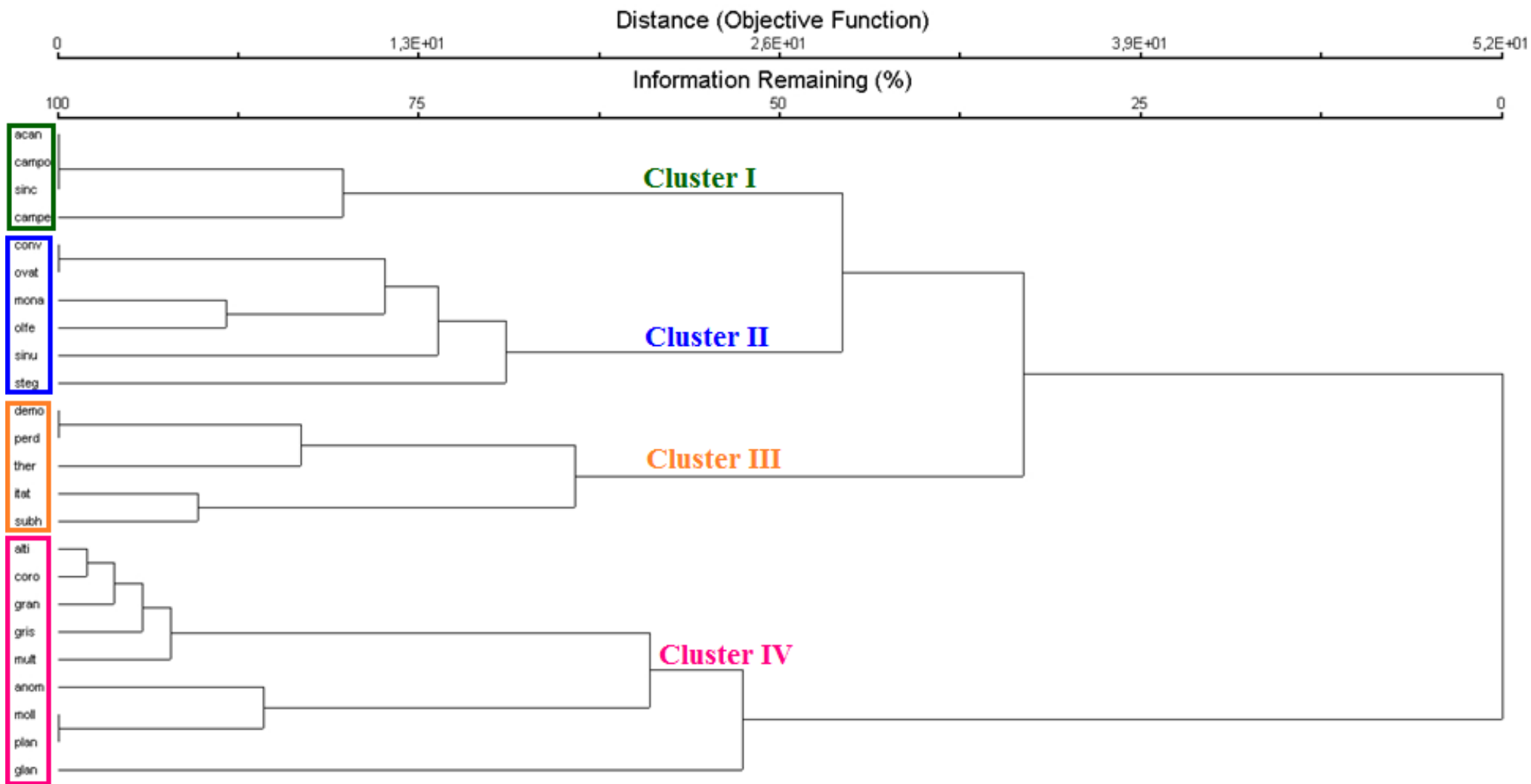
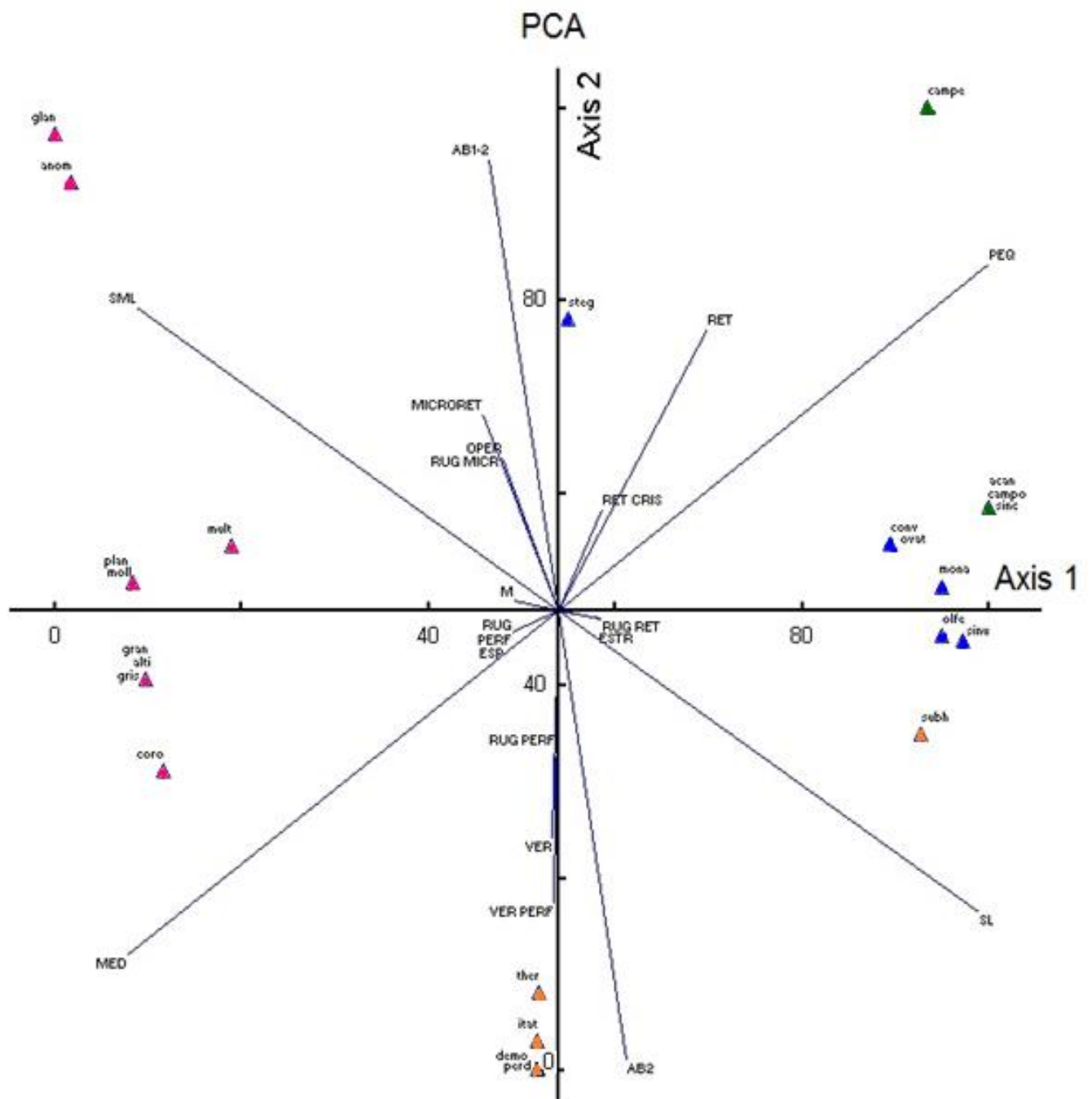


Figura 8. Gráfico bidimensional representando espécies de *Dioscorea* L. em (PCA).



Abreviação: **Cluster I:** *D. acantogene* (acan), *D. campos-portoi* (campo), *D. sincorensis* (sinc) e *D. campestris* (campe). **Cluster II:** *D. convolvulacea* (conv), *D. ovata* (ovat), *D. monadelphha* (mona), *D. olfersiana* (olfe), *D. sinuata* (sinu) e *D. stegelmanniana* (steg). **Cluster III:** *D. demourae* (demo), *D. perdicum* (perd), *D. therezopolensis* (ther), *D. itatiaiensis* (itat) e *D. subhastata* (subh). **Cluster IV:** *D. altissima* (alti), *D. coronata* (coro), *D. grandiflora* (gran), *D. grisebachii* (gris), *D. multiflora* (mult), *D. anomala* (anom), *D. mollis* (moll), *D. planistipulosa* (plan) e *D. glandulosa* (glan).

6. DISCUSSÃO

A análise palinológica dos 24 táxons representantes de *Dioscorea*, sendo 19 espécies de *D.* subg. *Helmia* e 05 espécies de *D.* subg. *Dioscorea*. Os táxons apresentaram atributos polínicos importantes que contribuíram com sua identificação. Assim, foram registrados todos os grãos de pólen em mônades, de tamanho pequenos a médios, heteropolares e contorno elíptico na maioria das espécies, com aberturas variando 2 sulcos e 1-2 sulcos (no mesmo espécime) e quanto ao padrão de ornamentação da sexina variaram em sete tipos (reticulada, vermiculada, microrreticulada, rugulada, estriada, perfurada e espiculada) e cinco subtipos (reticulado-cristada, vermiculado-perfurada, rugulado-reticulada, rugulado-microrreticulada e rugulado-perfurada).

Tamanho:

A análise polínica das espécies de *Dioscorea* mostrou uma variação morfométrica com grãos de pólen de tamanhos pequenos e médios, sendo o tamanho médio predominante nos dois subgêneros. Grãos de pólen pequenos-médios em *Dioscorea* foram observados por Erdtman (1952), Su (1987), Schols *et al.* (2001, 2003 e 2005b), Wilkin *et al.* (2009) e Couto *et al.* (2014) enquanto grãos de pólen grandes foram registrados por Su (1987), Schols *et al.* (2001) em *D. buchananni* (51µm), Schols *et al.* (2005b) em *D. nipponica* no clado *Stenophora*, *D. pyrenaica* no clado da Europa e no clado da África. Su (1987) após descrever a morfologia polínica de espécies chinesas de *Dioscorea*, sugeriu a relação entre o tamanho do grão de pólen e o tipo de tubérculo. Após pesquisa realizada por Schols *et al.* (2001 e 2003) e Caddick *et al.* (2002a) confirmaram a correlação do tamanho do grão de pólen com o tipo de tubérculo apresentado em algumas espécies de *Dioscorea*. Essa correlação com a palinologia pode estar ligada a características genéticas.

Através da medida do diâmetro maior (DM), em vista polar, foi identificado diferenças nas extremidades dos grãos de pólen, sendo classificadas e registradas da seguinte forma: truncada em 16 táxons de *D.* subg. *Helmia* (*D. acanthogene*, *D. altíssima*, *D. anomala*, *D. campos-portoi*, *D. coronata*, *D. demourae*, *D. glandulosa*, *D. grandiflora*, *D. grisebachii*, *D. mollis*, *D. multiflora*, *D. ovata*, *D. planistipulosa*, *D. sincorensis*, *D. stegelmanniana* e *D. subhastata*) e três em *D.* subg. *Dioscorea* (*D. olfersiana*, *D. sinuata* e *D. therezopolensis*); agudo-truncada para dois táxons de ambos subgêneros (*D. convolvulacea*, *D. monadelpha*; e *D. itatiaiensis*, *D. perdicum* nos respectivos subgêneros) e aguda apenas

em um táxon de *D.* subg. *Helmia* (*D. campestris*). Não há registros bibliográficos sobre os dados das espécies aqui estudadas.

Polaridade:

A polaridade para o gênero *Dioscorea* foi descrita por Clarke & Jones (1981), que relataram grãos de pólen heteropolares ou +/- isopolar em *Tamus communis* L. (= *D. communis* (L.) Caddick & Wilkin. No presente estudo registrou-se apenas grãos de pólen heteropolares em ambos os subgêneros.

Contorno:

Na maioria das espécies de *Dioscorea* subg. *Helmia* e *D.* subg. *Dioscorea* demonstraram grãos de pólen com contorno elíptico em vista polar, mas foi possível registrar algumas exceções: circular com uma das faces agudas (*D. anomala*); elíptico-triangular (*D. monadelphica*); elíptico-quadrangular (*D. perdicum*), para vista equatorial apenas contorno elíptico e vista equatorial lateral contorno circular-lobado em todas as espécies. Para Clarke & Jones (1981), o contorno visualizado nos grãos de pólen de *D. communis* (= *T. communis*) também foi elíptico na vista polar e na vista equatorial 1 e, contorno circular para vista equatorial 2. Discordando dos autores, a vista equatorial 2 que se referem, equivale a vista equatorial lateral registrada no presente estudo.

Sulco:

Dioscorea apresentou grãos de pólen dissulcados em todas as espécies pertencente à *D.* subg. *Dioscorea*, enquanto *D.* subg. *Helmia* na maioria das espécies aqui estudadas foram apenas dissulcados. As espécies *D. anomala*, *D. campestris* e *D. glandulosa* foram aqui registradas pela primeira vez com grãos de pólen monossulcados e dissulcados em um único espécime (exclusivamente representantes de *D.* subg. *Helmia*).

No presente trabalho observamos três variações entre os atributos polínicos sulcos e área apertural, que foi dividido entre os subgêneros da seguinte forma: sulco longo com área apertural pequena (*D. ovata*) e sulco muito longo com área apertural muito pequena (*D.*

anomala) para *D.* subg. *Helmia*, sendo um pouco diferente em *D.* subg. *Dioscorea* que evidenciou espécies com sulco pequeno com área apertural grande (*D. sinuata*) e sulco longo com área apertural pequena (*D. itatiaiensis*). Essa classificação não foi encontrada nas bibliografias referentes à palinologia de *Dioscorea*.

O atributo entre aberturas dos táxons aqui estudados foram registradas a menor medida em *D. mollis* e a maior medida em *D. coronata*, ambas em *D.* subg. *Helmia*. Para o caráter polínico margens foram constatadas registros em todas as espécies em *D.* subg. *Helmia* e em *D.* subg. *Dioscorea* não foi observado somente em *D. sinuata*. *Dioscorea glandulosa*, foi à única espécie com presença de opérculo e apresentou ornamentação perfurada, que se diferencia da ornamentação da sexina (rugulada-microrreticulada com grânulos. Esses dados não foram observados em referências bibliográficas da família.

Erdtman (1952) ao examinar as espécies de *Dioscorea densiflora* e *Rajania cordata* var. *microcarpa* (= *D. cordata*), registrou grãos de pólen 3-sulcados. No presente trabalho, apesar destas espécies não terem sido objeto de estudo, utilizamos espécies do mesmo subgênero (*D.* subg. *Dioscorea*) e não observamos nenhum grão de pólen 3-sulcado, esta característica não foi observada até o momento para a família.

Barroso *et al.* (1974) estudaram 24 espécies de *Dioscorea*, tanto no aspecto taxonômico quanto palinológico, afirmando que os grãos de pólen são iguais quanto à forma e abertura. A hipótese dos autores destoa com o resultado atribuído neste estudo, pois *D. glandulosa* apresentou padrão 1(-2) sulcados, os autores acima não registraram grãos de pólen monossulcados, isso pode ter sido atribuído pelo baixo percentual de grãos de pólen monossulcados presente nas lâminas analisadas.

Clarke & Jones (1981), afirmam que as aberturas são chamadas de golpes, apenas para indicar o comprimento e forma das aberturas em Eudicotiledoneas. Em oposição, por Dioscoreaceae ser uma família de monocotiledônea, foi considerado a terminologia de sulco para as aberturas no presente estudo. Seguindo a terminologia de Punt (2007) para abertura em relação ao tipo de sulco, foi considerada para uma abertura o termo monossulcada e duas aberturas dissulcadas.

Zavada (1983), afirmou que os grãos de pólen de Dioscoreaceae são monossulcados ou multiaperturados, está última característica não foi observada no presente estudo.

Su (1987) em sua pesquisa descreveu a morfologia polínica de 33 espécies de *Dioscorea*, sendo a maioria dos grãos de pólen bissulcados e com algumas exceções monossulcados. Caddick *et al.* (1998), estudaram 11 espécies de *Dioscorea*, onde nove apresentaram grãos de pólen bissulcados (*D. antaly*; *D. brachybotrya*; *D. bulbifera*; *D. decipiens*; *D. lanata*; *D. pentaphylla*; *D. schimperiana*; *D. sylvatica*; *Tammus communis* (=

D. communis)) e duas espécies monossulcados (*D. membranacea* e *D. pyrenaica*). Nenhum táxon do estudo aqui apresentado foi observado pelos autores acima, porém quanto à análise das aberturas, grãos de pólen dissulcados foram registrados em *Dioscorea* e refletidas na morfologia polínica apontada não sendo observado grãos de pólen apenas monossulcados.

Analisando 35 espécies de *Dioscorea*, Schols *et al.* (2001), afirmaram que 22 apresentaram grãos de pólen com aberturas bissulcadas e 11 espécies tem ambos os tipos de abertura monossulcado e bissulcado. Somente duas espécies apresentaram grãos de pólen monossulcados. A hipótese da proposta realizada pelos autores foi sustentada pelos dados obtidos no presente estudo, que mesmo sem analisar espécies compatíveis com os autores, constatou grãos de pólen dissulcados (= bissulcados) na maioria das espécies.

Schols *et al.* (2003), identificaram que cerca de 75% das espécies examinadas apresentaram duas aberturas (bissulcados), 10% são monossulcados e 15% das espécies possuem ambos os tipos aberturais (grãos de pólen monossulcados e bissulcados). Das 61 espécies pesquisadas pelos autores, *D. sinuata*, *D. glandulosa* e *D. anomala* possuem grãos de pólen dissulcados e *D. olfersiana* com grãos de pólen monossulcados e dissulcados, também foram analisadas neste estudo. As espécies *D. sinuata* e *D. olfersiana* obtiveram grãos de pólen dissulcados (*D.* subg. *Dioscorea*) e *D. anomala* e *D. glandulosa* mostraram grãos de pólen com ambas aberturas (*D.* subg. *Helmia*) divergindo com a proposta de Schols *et al.* (2003).

Schols *et al.* (2005 a, b), Wilkin *et al.* (2009) e Viruel *et al.* (2010) afirmaram que das espécies de *Dioscorea* analisadas sob microscopia de luz, microscopia eletrônica de varredura, microscopia eletrônica de transmissão e ontogenia tiveram seus grãos de pólen descritos como monossulcados e dissulcados, o que não é totalmente suportado pelos dados palinológicos aqui registrados, pois não foi possível observar grãos de pólen apenas monossulcados entre as espécies selecionadas de *D.* subg. *Helmia* e *D.* subg. *Dioscorea*.

Couto *et al.* (2014) indicaram que espécies de *Dioscorea* podem ser separadas pela morfologia polínica como em *D. campestris* e *D. pedalis*, porém não foi observado grãos de pólen dissulcados. No presente estudo, a análise palinológica demonstrou que *D. campestris* apresentou variação no número de aberturas, tanto monossulcados (7%) quanto dissulcados (93%).

Ornamentação:

Verificou-se que entre os táxons estudados de *Dioscorea*, constatou-se uma grande variedade nos grãos de pólen quanto ao tipo de ornamentação da sexina. Ficou definido sete tipos polínicos: reticulada, vermiculada, microrreticulada, rugulada, estriada, perfurada e espiculada, predominando a ornamentação reticulada e cinco subtipos (reticulado-cristada, vermiculado-perfurada, rugulado-reticulada, rugulado-microrreticulada e rugulado-perfurada).

Segundo Barroso *et al.* (1974) as espécies foram divididas em quatro grupos de ornamentação da exina (A- reticulado-ornamentado, B- reticulado, C- ornamentado e D- estriado). Das espécies de *Dioscorea* estudadas pelos autores, nove espécies (37,5%) fazem parte do presente estudo: *D. altissima*, *D. coronata*, *D. glandulosa*, *D. mollis*, *D. olfersiana*, *D. ovata*, *D. sinuata*, *D. subhastata* e *D. therezopolensis*. Entre as espécies analisadas acima, sete espécies aqui estudadas se distinguiram no atributo ornamentação da sexina: *D. altissima*: perfurada e teto irregular; *D. coronata* e *D. subhastata*: vermiculada, muros variando de estreitos a largo e superfície arredondados a interrompidos; *D. glandulosa*: rugulada-microrreticulada, grânulos no interior dos lúmens e perfurações no muro; *D. therezopolensis*: rugulada-perfurada, muros largos e interrompidos; *D. mollis* e *D. ovata*: microrreticulada com perfurações e muros arredondados com estrias. Somente *D. olfersiana* e *D. sinuata* apresentaram ornamentação da sexina semelhantes às descritas por Barroso *et al.* (1974). Essa divergência de dados é possível pela falta de recursos referente à microscopia eletrônica de varredura, que traz clareza quanto ao tipo de sexina.

Zavada (1983), Caddick *et al.* (1998) e Schols *et al.* (2001) encontraram diferentes padrões de ornamentação da sexina (finamente reticulada, reticulada, estriada, gemada e rugulado-reticulada). No presente estudo, além dos padrões de ornamentação definidos pelos autores, descrevemos mais nove padrões de ornamentação da sexina em espécies de *Dioscorea* ocorrentes no Neotrópico e comparamos espécies referentes ao mesmo subgênero trabalhado pelo autor acima, sendo encontrado tipo de grãos de pólen com sexina perfurada; microrreticulada; reticulada-cristada; espiculada; rugulada; rugulada-perfurada, rugulada-microrreticulada, vermiculada e vermiculada-perfurada. Não foi encontrado as ornamentações gemada e finamente reticulada. Essas diferenças encontradas podem ser justificadas por não serem espécies neotropicais, logo estão em clados diferentes das espécies aqui estudadas, segundo Couto *et al.* (submetido).

Schols *et al.* (2003, 2005b) quanto à ornamentação, das 61 espécies examinadas pelos autores, 54% do número total das espécies possuem sexina perfurada, 28% são estriadas, 6%

variaram de perfurada a microrreticulada (característica de ambas ornamentações são observadas no mesmo grão de pólen), 6% são cerebroide perfurada. Apenas 3% das espécies tem sexina padrão rugulada, 2% são gemada, e 1% perfurada a rugulada. Os autores reconheceram diferenças no padrão de ornamentação entre algumas espécies. Assim, a sexina foi considerada para *D.* subg. *Helmia* perfurada (28,6%) em *D. coriacea* (Seção *Cycladenium*), *D. galeottiana* (Seção *Trigonobasis*); cerebroide perfurada (28,6%) em *D. glandulosa*, *D. piperifolia* (Seção *Centrostemon*); perfurada a microrreticulada (14,3%) em *D. anomala* (Seção *Dematostemon*) e para *D.* subg. *Dioscorea* estriada (14,3%) em *D. olfersiana* (Seção *Cryptantha*); perfurada (14,3%) em *D. sinuata* (Seção *Brachystigma*). Das espécies estudadas neste trabalho são dissulcados (87,5%) e algumas possuem ambas aberturas, monossulcado e dissulcado (12,5%) no mesmo espécime. No presente estudo as espécies não foram organizadas em seções, porém, pode-se avaliar a diversidade de resultados quando comparada com aquela encontrada por Schols *et al.* (2003). As espécies subordinadas a *D.* subg. *Helmia* tiveram ornamentação que variaram: reticulada (29,2%): microrreticulada (20,8%), vermiculada (12,5%), rugulada (8,3%), espiculada (4,2%) e perfurada (4,2%) e as espécies do *D.* subg. *Dioscorea* tiveram ornamentação que variaram de reticulada (4,2%), rugulada (4,2%), vermiculada (8,3%) a estriada (4,2%).

Schols *et al.* (2005b) afirmaram que a morfologia do pólen e a evolução tem sido estudada extensivamente principalmente o caráter ornamentação. Para os grãos de pólen estudados por esses autores a sexina foi descrita como perfurada, perfurada para microrreticulada ou estriada. No entanto, estudos de evolução dos caracteres dos grãos de pólen dentro de um gênero são comparativamente raros, mesmo para grandes gêneros. Os táxons aqui analisados apresentaram características similares nas ornamentações dos grãos de pólen.

Wilkin *et al.* (2009) analisaram, os grãos de pólen de populações de *Dioscorea gillettii* Milne-Redh de duas regiões do continente africano (Quênia e Etiópia). Em relação à ornamentação da sexina foi definida como estriada. No presente estudo, apenas a espécie *D. olfersiana* apresentou esse padrão de ornamentação.

Viruel *et al.* (2010), promoveram uma revisão sistemática de *Epipetrum*, grupo *Dioscorea* que, tradicionalmente, incluía três táxons endêmicos do Chile. Para avaliar a importância taxonômica e os limites genéricos dos táxons próximos, os autores fizeram um estudo abrangente usando atributos macro e micromorfológicos incluindo 10 atributos qualitativos e 43 quantitativos, dentre eles, o palinológico. Segundo os autores, os grãos de pólen de *Epipetrum* possuem ornamentação perfurado-reticulada. No presente estudo registrou-se grão de pólen com sexina reticulado-perfurada.

Couto *et al.* (2014), indicaram que espécies de *Dioscorea* podem ser separadas baseadas nas ornamentações da sexina. As análises palinológicas indicaram que as espécies *D. campestris* e *D. pedalis* apresentaram diferenças nos detalhes na ornamentação da sexina. No presente estudo, confirmamos que *D. campestris* possui ornamentação reticulada.

Filogenia:

Couto *et al.* (submetido), relacionaram filogeneticamente em um clado suportado específico de *D. mollis* (endêmica da Mata Atlântica) e *D. antaly* (Madagascar). Em relação aos atributos polínicos os grãos de pólen são dissulcados, porém *D. mollis* apresenta ornamentação da sexina microrreticulada, enquanto Caddick *et al.* (1998), visualizaram para *D. antaly* ornamentação da sexina perfurada, não corroborando com a filogenia proposta.

Couto (2015), afirma a necessidade de uma revisão e abordagem filogenética nas sessões apresentadas por Knuth (1924). Em sua tese, ele obteve grupos monofiléticos no gênero *Dioscorea*, *D.* subg. *Helmia* e concluiu a grande necessidade de uma melhor definição nos limites e resolução das relações filogenéticas. Ficou claro a importância da ampliação de terminais para cada clado, utilizando novos marcadores moleculares e nucleares e aumento de cladogramas morfológicos incluindo dados anatômicos e palinológicos. A importância da morfologia polínica foi suportada neste estudo, visto que foi possível a definição e divisão de sete tipos e cinco subtipos nas espécies estudadas também por Couto em 2015.

Segundo Couto *et al.* (submetido), *D. piperifolia* e *D. grandiflora* possuem relações filogenéticas próximas confirmada em 77% de boot strep. As espécies *D. piperifolia*, *D. grandiflora* e *D. glandulosa*, segundo Fraga (2015), fazem parte de um complexo que considera pequenas características morfológicas que se diferem entre elas. Os atributos polínicos constatados neste estudo, refletem essa distinção da seguinte forma: *D. grandiflora* apresentaram apenas grãos de pólen dissulcados e ornamentação da exina espiculada; *D. glandulosa*: grãos de pólen monossulcados e dissulcados no mesmo espécime, é a única com presença de opérculo e que apresenta ornamentação da sexina rugulada, microrreticulada com presença de grânulos. Enquanto School *et al.* (2003), afirmaram que os grãos de pólen de *D. piperifolia* apresentaram a ornamentação da sexina para esse táxon como cerebroide perfurada. Em contrapartida, apesar de serem do mesmo subgênero (*D.* subg. *Helmia*), a palinologia não corroborou com a filogenia sugerida.

No clado NW I, Couto *et al.* (submetido) afirmaram que *D. itatiaiensis* e *D. perdicum* possui 99% de boot strep, confirmando uma alta relação filogenética entre elas. Para

taxonomia o autor descreveu que as espécies são bem parecidas morfologicamente, e distribuídas em campos de altitude e endêmicas da região de Itatiaia, Rio de Janeiro, Brasil. A morfologia polínica aqui realizada para esses táxons, apresentaram os seguintes atributos: tamanho médio; sulco longo; ornamentação da sexina com padrão vermiculado; muros largos (*D. itatiaiensis*) e muros estreitos (*D. perdicum*), interrompidos com superfície arredondada. Então a palinologia confirmou a alta similaridade dessas espécies registradas pela filogenia.

Dioscorea campos-portoi e *D. pedalis*, foram posicionadas no clado NW II com uma relação filogenética importante de 94% para o boot strep. Na taxonomia as espécies acima já foram consideradas sinônimos de *D. campestris*, devido a semelhança em sua morfologia externa mas atualmente são espécies distintas podendo ser encontradas em campos rupestre e campos de altitude, conforme Couto *et al.* (submetido). O estudo palinológico aqui realizado apresentaram grãos de pólen de tamanho pequeno e médio respectivamente e ambos com o padrão da ornamentação da sexina reticulada. Os atributos polínicos de *D. pedalis* foram registrados por Couto *et al.* (2014), em microscopia de luz e microscopia eletrônica de varredura. Para *D. campos-portoi*, no presente estudo não foi possível confirmar os detalhes da ornamentação da sexina, pois o material do MEV não obteve bons resultados para análise, havendo registros somente em M.L. A morfologia polínica, indica suporte para a estreita afinidade entre os táxons, que corrobora com a hipótese filogenética proposta por Couto *et al.* (submetido).

Anatomia:

Em estudos recentes da família, Tenório *et al.* (2017), usando a anatomia do caule de espécies aqui também estudadas, afirmam que os caracteres anatômicos não suportam a classificação infragenérica, exceto para *Dioscorea* seção *Monadelphina*. Com base nas espécies estudadas até o momento, podemos confirmar que a palinologia também não suportou a classificação infragenérica para *Dioscorea*.

Análise Multivariada:

A análise de agrupamento hierárquico formou quatro grandes grupos, observamos no Cluster I que *D. acantogene*, *D. campos-portoi*, *D. sincorensis* mostraram forte similaridade e *D. campestris* se afastou das demais por possuir 1-2 sulcos enquanto as demais

apresentaram apenas 2 sulcos. No Cluster II, *D. convolvulacea* e *D. ovata* mostraram forte similaridade, *D. monadelphica*, *D. olfersiana*, *D. sinuata* e *D. stegelmanniana*, se diferenciaram devido principalmente a ornamentação da sexina. O Cluster III se subdividiu em dois grupos, onde *D. demourae* e *D. perdicum* mostraram forte similaridade pela sexina vermiculada e próximas de *D. therezopolensis* que apresentou sexina rugulada, *D. itatiaiensis* e *D. subhastata* formaram outro grupo porém se diferenciaram devido ao tamanho. No Cluster IV as espécies *D. altissima*, *D. coronata*, *D. grandiflora*, *D. grisebacchii*, *D. multiflora*, se diferenciaram devido às características da ornamentação da sexina. *D. anomala*, *D. mollis*, *D. planistipulosa* ficaram próximas entre si, porém *D. anomala* apresentou 1-2 sulcos enquanto as demais apenas 2 sulcos e *D. glandulosa* se destacou das demais espécies por possuir opérculo.

A análise do componente principal mostrou que a disposição das espécies no polo positivo do eixo 1 pertencem ao cluster 1 e cluster 2. As espécies *D. acantogene*, *D. camposportoi*, *D. sincorensis*, *D. convolvulacea*, *D. ovata*, *D. monadelphica*, *D. olfersiana* e *D. sinuata* mais *D. subhastata* pertencente ao cluster 3, mostraram similaridade devido à forte característica do tamanho pequeno acompanhado de sulcos longos e grãos de pólen dissulcados. Duas espécies se destacaram: *D. campestris*, por apresentar grãos de pólen com ambas aberturas (mono e dissulcados) e *D. stegelmanniana* por apresentar grãos de pólen com sulco muito longo, sendo sustentadas também pelo polo positivo do eixo 2.

7. CONCLUSÃO:

Os resultados obtidos no presente trabalho permitiram reunir palinologicamente as espécies de *Dioscorea*, em sete tipos pelo atributo ornamentação da sexina (Reticulada: 29,17%, Perfurada: 4,17%, Microrreticulada: 20,83%, Vermiculada: 20,83%, Rugulada: 16,67%, Espiculada: 4,17%, Estriada: 4,17%).

Das espécies aqui estudadas, 50% tiveram seus grãos de pólen registrados pela primeira vez, são elas: *D. acanthogene*, *D. campos-portoi*, *D. convolvulacea*, *D. demourae*, *D. grandiflora*, *D. grisebachii*, *D. itatiaiensis*, *D. monadelpha*, *D. perdicum*, *D. planistipulosa*, *D. sincorensis* e *D. stegelmanniana*. Foi possível também observar, descrever e ilustrar uma nova posição dos grãos de pólen das espécies estudadas, registrada como vista equatorial lateral.

Alguns grãos de pólen de espécies de *Dioscorea* (*D. anomala*; *D. campestris* e *D. glandulosa*) se caracterizaram por possuírem ambas as aberturas (monossulcada e dissulcada) no mesmo espécime. Essa característica foi observada somente em espécies de *Dioscorea* subgênero *Helmia*.

O presente estudo não corroborou a classificação taxonômica em relação às seções de Knuth (1924), sendo necessária uma reavaliação dos subgêneros atualmente estabelecidos e conseqüentemente, um melhor entendimento das linhagens filogenéticas reconhecidas. Tanto a análise do componente principal quanto a análise de agrupamento confirmaram esse resultado, uma vez que espécies de diferentes seções foram agrupadas em um mesmo cluster e posicionadas dispersamente nos eixos 1 e 2.

8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS:

ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. [APG] 2009. 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

ANGIOSPERM PHYLOGENY GROUP. 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the order and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society* 181: 1-20.

BARROSO, G.M., ANDREATA, R.H.P. & SUCRE, D. 1970. *Margarethia*, uma nova seção do gênero *Dioscorea* L., com a espécie *D. margarethia* Barroso, Guimarães et Sucre. *Loefgrenia* 49: 1-7.

BARROSO, G.M., GUIMARÃES, E. F. & SUCRE, D. 1971. *Dioscorea pseudomacrocapsa* Barroso, Guimarães et Sucre, uma nova espécie de Dioscoreaceae da flórua do Estado da Guanabara. *Revista Brasileira de Biologia* 31: 309-312.

BARROSO, G.M., SUCRE, D., GUIMARÃES, E. F., CARVALHO, L.F., VALENTE, M. C., SILVA, J.D., SILVA, J. B., ROSENTHAL, F.R.T., BARBOSA, G.M., BARTH, O.M. & BARBOSA, A.F. 1974. Flora Guanabara: família Dioscoreaceae. *Sellowia* 25: 9-256.

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.

CADDICK, L.R., FURNESS, C.A., STOBART, K.L., & RUDALL, P.J. 1998. Microsporogenesis and pollen morphology in dioscoreales and allied taxa. *Grana*, 37(6):321-336.

CADDICK, L.R., WILKIN, P., RUDALL, P.J., HEDDERSON, T.A.J. AND CHASE, M. W. 2002. Yams Reclassified: A Recircumscription of Dioscoreaceae and Dioscoreales. *Taxon*, 51 (1):103-114.

CLARKE, G.C.S., & JONES, M.R. 1981. The Northwest European Pollen Flora, 23 - Dioscoreaceae. *Review of Palaeobotany and Palynology*, 33:45-50.

COUTO, R.S. 2010. Dioscoreaceae (R. Br.) Lindley do Estado do Rio de Janeiro, Brasil. Dissertação de Mestrado – Museu Nacional/UFRJ.

COUTO, R.S. 2015. Filogenia de *Dioscorea* subgênero *Helmia* (Dioscoreaceae) com ênfase no neotrópico e revisão de *Dioscorea* seção *Monadelpa*. Tese Doutorado – Museu Nacional/UFRJ.

COUTO, R.S., MARTINS, A.C., BOLSON, M., LOPES, R. C., SMIDT, E.C., & BRAGA, J. M. A. Time calibrated tree of *Dioscorea* (Dioscoreaceae) indicated four origins of yams in the Neotropics since Eocene. Submetido para a *Botanical Journal of the Linnean Society*

COUTO, R.S.; TENORIO, V.; ALZER, F.C.; LOPES, R. C.; VIEIRA, R.C.; MENDONÇA, C.B.F.; ESTEVES, V.G.; & BRAGA, J.M.A. 2014. Taxonomic Revision of the *Dioscorea campestris* Species Assemblage (Dioscoreaceae). *Systematic Botany* 39 (4): 1056-1069.

DAVIS, J.I., STEVENSON, D.W., PETERSEN, G., SEBERG, O., CAMPBELL, L.M., FREUDENSTEIN, J.V., GOLDMAN, D.H., HARDY, C.R., MICHELANGELI, F.A., SIMMONS, M.P., SPECHT, C.D., VERGARA-SILVA, F., & GANDOLFO, M. 2004. A phylogeny of the monocots, as inferred from *rbcL* and *atpA* sequence variation, and a comparison of methods for calculating jackknife and bootstrap values. *Systematic Botany* 29: 467-510.

DE PINNA, M.C.C. 1991. Concepts and tests of homology in the cladistic paradigm. *Cladistics* 7 (4): 367-394.

ERDTMAN, G. 1952. Pollen morphology and plant taxonomy – Angiosperms. Almqvist & Wikells Press, Stockholm.

FARRIS, J.S., KALLERSJO, M., KLUGE, A.G., BULT, C. 1995. Testing significance of incongruence. *Cladistics* 10: 315–319.

FELSENSTEIN, J. 1985. Confidence limits in phylogenies and approach using bootstrap. *Evolution* 39: 783-791.

FRAGA, F.R.M. 2016. Revisão Taxônomica do Complexo *Dioscorea piperifolia* (Dioscoreaceae). Monografia Universidade Federal Fluminense.

KIRIZAWA, M.; XIFREDA, C.C.; COUTO, R.; ARAÚJO, D. Dioscoreaceae in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB104>>. Acesso em: 25 Mar. 2017.

KNUTH, R. 1924. Dioscoreaceae. In: Engler, A. (ed.), *Das Pflanzenr* 4 (43): 1-386.

MCCUNE, B. MEFFORD, M.J. 2011 *Pc-Ord*, version 5.0, multivariate analysis of ecological data. MjM Software Design, Gleneden Beach.

MELHEM, T.S., CORRÊA, A.M.S., MAKINO-WATANABE, H., CRUZ-BARROS, M.A.V., SILVESTRE-CAPELATO, M.S.F., ESTEVES, V.G., 2003. Variabilidade polínica em plantas de Campos de Jordão. Vol.16. São Paulo, Brasil.

MERCKX, V., SCHOLS, V., MAAS-VAN de KAMER, H., MAAS, P., HUYSMANS, S., & SMETS, E. 2006. Phylogeny and evolution of Burmanniaceae (Dioscoreales) based on nuclear and mitochondrial data. *American Journal of Botany* 93: 1684-1698.

PEDRALLI, G. 1998. Revisão taxonômica das espécies de Dioscoreaceae (R.Br.) Lindley da Cadeia do Espinhaço, Minas Gerais e Bahia, Brasil., Tese doutorado. PG-Botânica/USP, São Paulo.

PUNT, W.; BLACKMORE, S.; NILSSON, S. & LE THOMAS, A. 2007. Glossary of pollen and spore terminology. [http:// www.biol.ruu.nl/~palaeo/glossary/glos-int.htm](http://www.biol.ruu.nl/~palaeo/glossary/glos-int.htm).

RAYNAL, A. & RAYNAL, J. 1971. Une technique de preparation des grains de pollen fragilis. *Adansonia* 11(1):77-79.

REITSMA, T. 1969. Size modification of recent pollen grains under different treatments. *Review of Paleobotany and Palynology* 9:175-202.

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

SALGADO-LABOURIAU, M.L., VANZOLINI, P.E. & MELHEM, T.S. 1965. Variation of polar axes and equatorial diameters in pollen grains of two species of *Cassia*. *Grana Palynological* 6:166-176.

SCHOLS, P., FURNESS, C.A., VICENT, M., WILKIN, P., & SMETS, E. 2005a. Comparative pollen development in Dioscoreales. *International Journal of Plant Sciences* 166(6):909-924.

SCHOLS, P., FURNESS, C.A., WILKIN, P., HUYSMANS, S. & SMETS, E. 2001. Morphology of pollen and orbicules in some *Dioscorea* species and its systematic implications. *Botanical Journal of the Linnean Society* 136:295-311.

SCHOLS, P., FURNESS, C.A., WILKIN, P., SMETS, E., VEERLE, C., & HUYSMANS, S., 2003. Pollen morphology of *Dioscorea* (Dioscoreaceae) and its relation to systematics. *Botanical Journal of the Linnean Society* 143:375-390.

SCHOLS, P., WILKIN, P., FURNESS, C.A., HUYSMANS, S. & SMETS, E. 2005b. Pollen evolution in yams (*Dioscorea*: Dioscoreaceae). *Systematic Botany*. 30(4): pp.750-758.

STEVENS, P.F. (2001 onwards). Angiosperm Phylogeny Website. Version 12, June 2012 [2017]. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>

SU, P. 1987. Pollen morphology of *Dioscorea* in China. *Acta Phytotaxonomica Sinensia* **25**: 357–365.

TENORIO, V., COUTO, R.S., ALBUQUERQUE, E. S. B., MEDEIROS, A.M.L., FERREIRA, R.O., BRAGA, J. M.A., VIEIRA, R.C. 2017. Stem anatomy of neotropical *Dioscorea* L. (Dioscoreaceae) and its importance to the systematics of the genus. *Plant Syst Evol*. DOI 10.1007/s00606-017-1408-9

THIERS, B. 2016. [continuously updated]. *Index herbarium*: a global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. Disponível em Website <http://sweetgum.nybg.org/ih/>. [acesso em 15 fevereiro 2016].

VIRUEL, J., SEGARRA-MORAGUES, J. G., PÉREZ-COLLAZOS, E., VILLAR, L. & CATALÁN, P. 2010. Systematic Revision of the Epipetrum Group of *Dioscorea* (Dioscoreaceae) Endemic to Chile. *Systematic Botany*, 35(1):40-63.

WANDERLEY, M.G.L. & MELHEM, T.S. 1991. Flora polínica da reserva do parque estadual das fontes do Ipiranga (São Paulo, Brasil). Família: 178-Brommeliaceae. *Hoehnea* 18(1): 5-42.

WILKIN, P., MUASYA, A. M., BANKS, H., FURNESS, C. A., VOLLESEN, K., WEBER, O., & DEMISSEW, S. 2009. A New Species of Yam from Kenya, *Dioscorea kituensis*: Pollen Morphology, Conservation Status, and Speciation. *Systematic Botany*, 34(4):652-659.

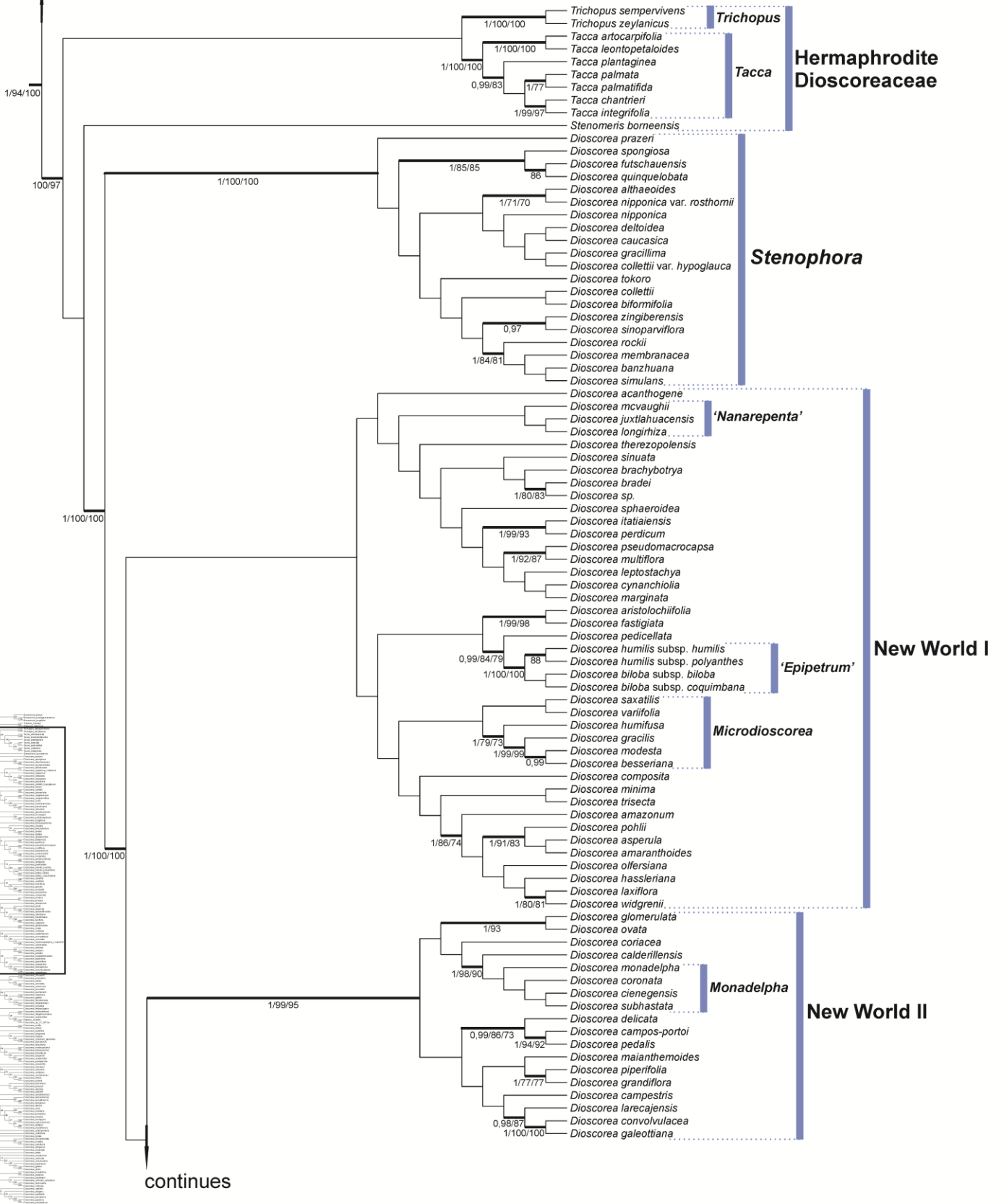
WILKIN, P., SCHOLS, P., CHASE, M.W., CHAYAMARIT, K., FURNESS, C.A., HUYSMANS, S., RAKOTNASOLO, F., SMETS, E., & THAPYAI, C. 2005. A plastid gene phylogeny of the yam genus, *Dioscorea*: Roots, fruits and Madagascar. *Systematic Botany* 30:736-749.

XIFREDA, C.C., 2000. Evaluation of pollen and vegetative characters in the systematics of South American species of *Dioscorea* (Dioscoreaceae). In: Wilson Kl, MDA. ed. *Monocots: Sytematics and evolution*. Austrália: Collingwood, 488-496.

ZAVADA, M.S., 1983. Comparative morphology of monocot pollen and evolutionary trends of apertures and wall structures. *The botanical review*, 49(4)331-379.

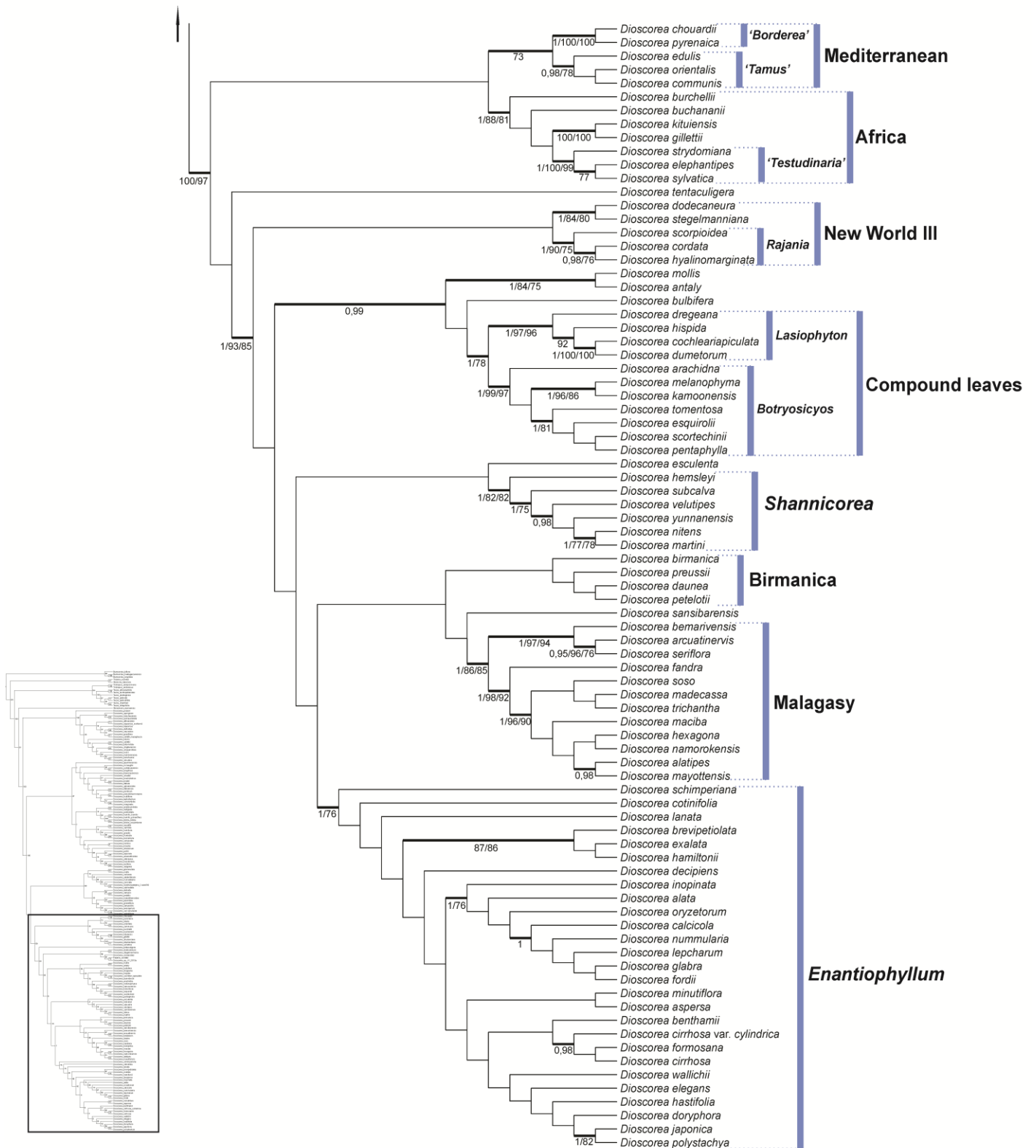
ANEXO 1: Clado Neotrópico – parte 1/2 (Couto *et al.*, submetido).

Burmanniaceae



ANEXO 1: Clado Neotrópico – parte 2/2 (Couto *et al.*, submetido).

continues



ANEXO 2: Materiais estudados "Palinotaxonomia de representantes de *Dioscorea* subgênero *Helmia* e *D.* subg. *Dioscorea* (Dioscoreaceae) ocorrentes no neotrópico."

1. *D. acanthogene* Rusby – * *R. Couto, s/n* (cultivo).

2. *D. altissima* Lam. – Brasil. Rio de Janeiro: Paraty. Caminho para o “Córrego dos Micos”, estrada para o morro da pedra rolada, 25/I/2011, * *R. Couto et al. 474* (RFA 37188). Estado do Pará: Município de Oriximiná, Ramal do “Poção”, em direção e estrada do “Beque”. Mata próxima a um igarapé, alagada periodicamente. *R. Couto et al. 462* (RFA 37296). Rio de Janeiro: Rio de Janeiro, Jardim Botânico. Cultivada no canteiro 17D, 16-II-1976, *D. Fontela, P. J. 516, E. F. Guimarães 403 et C. L. F. Ichaso* (RB 301049).

3. *D. anomala* (Kunth) Griseb. - Brasil. Minas Gerais: Município de Santana do Riacho. Serra do Cipó, Rodovia Belo Horizonte – Conceição do Mato Dentro, ca. Km 18 após Chapéu de Sol. Fazenda Cachoeira da Capivara. 19° 14' 59,9" S 43° 32' 44,2" W 1300 msm. 13-X-2007. * *V.C. Souza, P.H. Miyagi, J. P. Souza, 8224* (ESA19284). Goiás: Alto Paraíso de Goiás Mulungu ca. 14 Km de Alto Paraíso. 14-XI-1996, *M. L. Fonseca, 1340* (RB 442112). Minas Gerais: Santana do Riacho, Km 132 ao longo da rodovia, Belo Horizonte - Conceição do Mato Dentro. 30-X-1981, *M. G. Sajo, 7611* (RB409800).

4. *D. campestris* Griseb. – Brasil. Rio de Janeiro: São Fidelis, Estrada para Ayres sentido Santa Maria Madalena, para Aracaju, barra do rio Colégio, fazenda do Advogado Helinho. S 022 27 87 W 76 02 803 3. 28-VIII-2009, * *R. S. Couto; J. M. A Braga; L. J. T. Cardoso 232* (RFA 37046). Ceará: Jaguaratama. 03-V-1984, *Pinheiro, 153* (R209588). Minas Gerais: Lima Duarte, Parque Estadual do Ibitipoca, mata ao lado da guarita de entrada do Parque, seguindo o aceiro. 23-I-2007, *Forzza, R.C. 4384* (RB 442006).

5. *D. campos-portoi* R. Knuth - Brasil. Rio de Janeiro: Itatiaia, PARNA, Planalto, trilha para as prateleiras. Platô de pedra na trilha. 20/X/09, * *R. Couto, 265* (RFA). Estado do Rio de Janeiro: PNI, entrada da trilha para a cachoeira véu de noiva, junto à ponte. 20/VII/10, *R. Couto, 380* (RFA 37203).

6. *D. convolvulacea* Schltl. & Cham. - * *Chase 197* (NCU), Trinidad. 16/VII/2001. *Celso Gutiérrez Báez, 7220*.

7. *D. coronata* Hauman – Brasil. Rio de Janeiro: Maricá, Itaipuaçu. Morro próximo à fazenda do caminho de Darwin. Floresceu em cultivo, referente ao nº 186. 17-XI-2009, * *R. Couto*, 293 (RFA). Rio de Janeiro: Rio de Janeiro, pista Cláudio Coutinho (Morro da Urca) próximo aos 800m. 16-VIII-2009, *R. Couto*, 208 (RFA).

8. *D. demourae* R. Knuth – Brasil. Espírito Santo: Pedra Menina, Parque Nacional do Caparaó. 06-III-2013, * *R. Couto*, *s/n* (RFA). Rio de Janeiro: PNSO, trilha para a Pedra do Sino, próximo ao Abrigo 2. 31-III-2010, *R. Couto*, 312 (RFA).

9. *D. glandulosa* (Griseb.) Knuth – Brasil. Estado do Rio de Janeiro: Parque Nacional da Tijuca, Trilha para o “Pico do Papagaio” (antes da bifurcação para o corcanha). 22-X-2009, * *R. Couto et al.* 283 (RFA). Brasília: Distrito Federal. DF 150, KM 11. Rua do Mato, Fazenda Morada do Sol. 14-VII-2007, *R. Couto & J. M. A. Braga* 98a (RFA). Estado do Rio de Janeiro: Parque Nacional da Tijuca, trilha para o “Pico do Papagaio”, antes da bifurcação para o cocanha. *R. Couto et al.* 468 (RFA 37225).

10. *D. grandiflora* Klotzsch ex Kunth – Brasil. Minas Gerais: Belo Horizonte, 01/04/1898, * *Alvaro Silveira s.n.* (R122772!). Caracará, Km. 10. Near Igarapé Leão, 17/03/1967, *E. Forero s.n.* (R118415!). Ouro Preto. Estação de Santa Rita, 01/12/1896, *Alvaro Silveira s.n.* (R181576!).

11. *D. grisebachii* Kunth - Brasil, Rio de Janeiro: Município do Rio de Janeiro, Estrada das Paineiras, após o Hotel. 02-XI-2008, * *R. Couto et al.* 112 (RFA 37135). Rio de Janeiro. Parque Nacional da Tijuca, setor Serra Floresta, Trilha para o Pico do Papagaio. *Almeida, M.* 117; *James Lucas* (R223949). Rio de Janeiro: Município de Itatiaia, Travessia Ruy Braga, para o abrigo Macieira. S22° 24' 05.0" W044° 39' 11.8" 2244m altura. 08-IV-2016, *R.M.B. Souza-Souza et al.* 393 (R).

12. *D. itatiaiensis* R. Knuth – Brasil. Rio de Janeiro: Planalto do Itatiaia, no meio da Trilha das Prateleiras. * *R.S. Couto et al.*, 892 (RFA). Rio de Janeiro: Itatiaia Planalto. III-1937, *Brade, A.C.* 15578 (R).

13. *D. mollis* Kunth - Brasil. Estado do Rio de Janeiro: Vilatur – Restinga da Massambaba. Área aberta, restinga arbustiva. S22' 55' 614 W 42' 26' 125 - Município de Niterói. Beira da

estrada, estrada da trilha, próximo ao mirante da estrada Niterói, Itaipuaçu, local úmido. S22' 57, 779' W 43' 01 288. 14/VIII/2008, * R.S.Couto, R.C. Lopes & R.S. Candido 121 (RFA).

14. *D. monadelpha* (Kunth) Griseb. – Brasil. Rio de Janeiro: Paraty, Trindade, Praia do Meio (Ranchos), na restinga no meio da praia. * R. Couto et al. 488 (RFA 37189). Estado do Rio de Janeiro: Angra dos Reis, Praia Secreta. 28-XI-2008, R. Couto, 145; R.C. Lopes & R. S. Candido (RFA 37246). Estado do Rio de Janeiro: Angra dos Reis, Ilha Grande. Trilha para dois rios, beira da estrada, meio da trilha. 14-VIII-2010, R. Couto et al. 406 (RFA 37414).

15. *D. multiflora* Mart. ex Griseb. – Brasil. Estado do Rio de Janeiro: Município de Niterói, Parque Estadual da Serra da Tiririca, Trilha para o Morro das Andorinhas. 08-VI-2011, R. Couto et al. 495 (RFA 37235). Estado do Rio de Janeiro: Município de S. José Vale do Rio Preto. Sítio Beira Mar – Poço Fundo 22°10'44" S 42° 53' 18" W, 488m. 05-XI-2000, F. M. B. Pereira, 13 (RFA 25745). São Paulo. Município de Salmourão. Cerca de 5 Km de Salmourão em direção a Caramuru 21°35'12" S, 50°52'05" W 360m. Mata mesófila semidecídua. V. C. Souza, e J. P. Souza, 11422 (ESA).

16. *D. olfersiana* Klotzsch ex Griseb. – Brasil. São Paulo: Pindorama. 15-IV-1994, * Souza, V. C. et al. 5724 (ESA). Rio de Janeiro: Rio de Janeiro, Barra da Tijuca. 15-X-1961, Duarte, A.P. 9881 (RB 132295).

17. *D. ovata* Vell. - Brasil. Rio de Janeiro: Estrada as Paineiras, após a bifurcação com o Sumaré. 23-X-2009, * R. Couto et al. 290 (RFA 37141). Rio de Janeiro: Estrada das Paineiras, logo após a bifurcação para a estrada do Sumaré, em direção do Hotel. 26-IX-2009, R. Couto et al. 249 (RFA 37002). Estado do Rio de Janeiro: Paineiras, próximo ao Mirante. 29/11/2009, R. Couto et al. 295b (RFA 37057).

18. *D. perdicum* Taubert – Brasil. Rio de Janeiro: Itatiaia, Parque Nacional de Itatiaia - Base das Prateleiras. 7-XI-2011, * R. S. Couto 595, L.J.T. Cardoso, L.P. Mauad & V. Tenório (R227185).

19. *D. planistipulosa* Uline ex R. Knuth – Brasil. Rio de Janeiro: Petrópolis, Estrada Paty do Alferes, 870m. 01-XI-1970, * D. Sucre, 7333 (RB145907). Rio de Janeiro, Simaré, Estrada Alto da Boa Vista, 450-570m. 29-X-1970, D. Sucre, 7327 (RB 145906). Pará: Canaã dos

Carajás, Serra Sul, 6°22'18"S, 50°23'05"W, 750m. 8-XII-2007, *P. L. Viana et al.*, 3413 (RB 497329).

20. *D. sincorensis* R. Knuth – Brasil. Bahia: Lençóis, Parque Nacional da Chapada Diamantina, Trilha para a Cachoeira do Sossego, 500 m. após a bifurcação para o Ribeirão do meio. 17/1/2012, * *R. Couto*, 605 (R227186). *R. Couto*, s/n (cultivo).

21. *D. sinuata* Vell. - Brasil. Estado do Rio de Janeiro: Niterói, Itaipu. Trilha do Morro das Andorinhas, após o último mirante para Itacoatiara, início da trilha do grotão. 22-X-2009, * *R. Couto et al.* 284 (RFA 37129). Rio de Janeiro: Floresta da Tijuca estacionamento (Bom Retiro) pela a trilha do Pico da Tijuca. 07-VIII-2009, *R. Couto et al.* 241. Distrito Federal: Matas do Jardim Botânico. 04-XI-1945, *P. Occhiani*, 502 (RB 7620).

22. *D. stegelmanniana* R. Knuth - Brasil. Estado do Rio de Janeiro: Nova Friburgo, Lumiar, beira da estrada, próximo à entrada do Encontro das Águas. 01-V-2010, * *R. Couto et al.* 325 (RFA 37151). Estado do Rio de Janeiro: Magé. Distrito de Santo Aleixo, final da rua do cemitério início da trilha Santo Aleixo – Alta Ventania. Próximo a construção da CEDAE. 01-IV-2010, *R. Couto; M. Nadruz; L.A. Santos Filho; M.J.F. Barros; P. Godinho*, 321 (RFA 37156). Espírito Santo: Nova Venécia Serra de Baixo, Mata do Fuxico. Floresta Estacional Semi-decidual. Área de Proteção Ambiental da Pedra do Elefante. 14-IV-2009, *Fraga, C.N.* 2519 (RB 479980).

23. *D. subhastata* Vell. - Brasil. Rio de Janeiro: Itatiaia, PARNA, parte baixa, KM 6 logo após a venda de chocolates, beira da estrada. Borda da Mata (0540700 S 7517039 W 756 ms.m). 19-X-2009, * *R. Couto et al.* 263 (RFA 37147). Estado do Rio de Janeiro: Município de Porciúncula, Pedra da Elefantina. 27-VIII-2009, *R. Couto*, 221; *J.M. A. Braga; L.J.T. Cardoso* (RFA 37143).

24. *D. therezopolensis* Uline ex R. Knuth - Brasil. Estado do Rio de Janeiro: Teresópolis, PNSO. Beira da estrada BR-116, chegando a Teresópolis, próximo à entrada da trilha da cabeça-de-peixe. 30-III-2010, * *R. Couto; M. Nadruz; L.A.F. Santos Filho; M.J.F. Barros; P. Godinho* 301a (RFA 37155). Estado do Rio de Janeiro: Teresópolis, PNSO, Trilha para o Sino, antes da Cachoeira do Papel (Próximo). 31-I-2010, *R. Couto; M. Nadruz; L.A.F. Santos Filho; M.J.F. Barros; P. Godinho* 313 (RFA 37048). Rio de Janeiro: Município de

Teresópolis, PNSO, trilha para a Pedra do Sino. 1600m de altura. S22° 27' 06'' e W43°00'04''. 12-III-2001, *C. B. Costa*, 497 (RFA 34860).