



Universidade Federal do Rio de Janeiro
Museu Nacional

**Palinotaxonomia de representantes brasileiros
das tribos Hippeastreae Sweet e Griffinieae
Ravenna (Amaryllidoideae-Amaryllidaceae)**

Renata Suzano Candido

Rio de Janeiro

2017



UNIVERSIDADE FEDERAL DO RIO DE JANEIRO
MUSEU NACIONAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
(BOTÂNICA)

Palinotaxonomia de representantes brasileiros das tribos
Hippeastreae Sweet e Griffinieae Ravenna (Amaryllidoideae-
Amaryllidaceae)

Renata Suzano Candido

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

Orientadoras: Prof^ª Dr^ª Vania Gonçalves L. Esteves

Prof^ª Dr^ª Rosana Conrado Lopes

Rio de Janeiro

Agosto 2017

Palinotaxonomia de representantes brasileiros das tribos
Hippeastreae Sweet e Griffinieae Ravenna (Amaryllidoideae-
Amaryllidaceae)

Renata Suzano Candido

Orientadoras: Prof^a Dr^a Vania Gonçalves L. Esteves

Prof^a Dr^a Rosana Conrado Lopes

Tese de Doutorado 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 Doutor em Ciências Biológicas (Botânica).

Aprovada por:

Presidente, Prof.

Prof.

Prof.

Prof.

Prof.

Rio de Janeiro

Agosto 2017

FICHA CATALOGRÁFICA

Candido, Renata Suzano

Palinotaxonomia de representantes brasileiros das tribos Hippeastreae Sweet e Griffinieae Ravenna (Amaryllidoideae-Amaryllidaceae)/Renata Suzano Candido – Rio de Janeiro: UFRJ/MN, 2017.

x, f.: Il. (algumas color); 30cm.

Orientadores: Rosana Conrado Lopes/Vania Gonçalves-Esteves Tese (Doutorado) – Universidade Federal do Rio de Janeiro, Museu Nacional, Programa de Pós-Graduação em Botânica, 2017.

Bibliografia: f. 93-105.

1. Amaryllidaceae, 2. Hippeastreae, 3. Griffinieae, 4. Palinotaxonomia, 5. Brasil. I. Lopes, Rosana Conrado. II. Gonçalves-Esteves, Vania. III. Universidade Federal do Rio de Janeiro. IV. Museu Nacional (Brasil). V. Programa de Pós-Graduação em Botânica. VI. Palinotaxonomia de representantes brasileiros das tribos Hippeastreae Sweet e Griffinieae Ravenna (Amaryllidoideae-Amaryllidaceae).

Rio de Janeiro
Agosto 2017

DEDICATÓRIA

Aos meus pais Ana Luci e
Rubens Ravizzini (*in
memoriam*) que me deram
o bem mais precioso, a
vida.

AGRADECIMENTOS

À Dr^a Rosana Conrado Lopes, por ter me acompanhado por toda a minha vida acadêmica com muita atenção, carinho e amizade, por ter me apoiado e incentivado nesta caminhada principalmente nos momentos em que pensei em desistir, por ter me orientado nesta tese com muita paciência e dedicação. Muito obrigada!

À Dr^a Vania Gonçalves Lourenço Esteves, por ter me recebido no laboratório de Palinologia, há muito tempo atrás, com muito carinho e dedicação, por ter me ensinado sobre o mundo fantástico dos grãos de pólen, pela amizade e confiança em mim depositada, pela valiosa orientação nesta tese. Muito obrigada!

Ao Museu Nacional do Rio de Janeiro, pela disponibilização de infraestrutura dos laboratórios de Palinologia e Microscopia Eletrônica de Invertebrados e da Biblioteca.

À Universidade Federal do Rio de Janeiro, pela utilização do Laboratório de Taxonomia Vegetal e Biologia Reprodutiva de Plantas.

À coordenação da Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica) do Museu Nacional/UFRJ, por ter me recebido como aluna e me auxiliado sempre que precisei.

Aos amigos do laboratório de Palinologia Ana Carolina, Cleber, Dilma, Elysiane, Fernanda, Gabriel, Hian, Jéssica, Kamila, Layara, Leila, Luana, Luiz, Mariana, Maurício, Priscila, Raquel Maria, Simone, Tatiane, Thaís, Wellerson pelo auxílio durante o desenvolvimento do trabalho, pela amizade, pelas conversas, pelos chás da tarde, pela troca de experiências acadêmicas ou não, sem vocês essa jornada teria sido muito mais difícil. Muito obrigada a todos vocês.

Ao técnico do Laboratório de Palinologia Pedro, por todo auxílio técnico e pelos deliciosos cafezinhos da tarde e pela água geladinha nos momentos de desespero.

À técnica Noêmia Rodrigues Gonçalves do laboratório de Ultraestrutura Celular, do instituto de Biofísica da Universidade Federal do Rio de Janeiro (UFRJ), às técnicas Beatriz e Camila do Centro de Microscopia Eletrônica de Varredura do Departamento de Invertebrados - Museu Nacional / UFRJ e ao técnico Marcelo do Laboratório de Microscopia Ótica e Microscopia Eletrônica de Varredura da Universidade Federal Rio de Janeiro - UFRJ, Laboratório de Protistologia pela boa vontade, paciência e disponibilidade na captura das imagens de microscopia eletrônica de varredura.

À secretária do Departamento de Botânica Sônia, pela ajuda com os trabalhos burocráticos.

Ao técnico do herbário RFA Jorginaldo Oliveira, pelo suporte técnico e burocrático e pela amizade.

Aos curadores dos herbários consultados ao longo do desenvolvimento desta tese, pela presteza e atenção com que atenderam meus pedidos de consulta e empréstimo de material.

Aos docentes do curso de Pós-Graduação em Ciências Biológicas (Botânica) do Museu Nacional/UFRJ, pelos conhecimentos compartilhados.

Ao Dr Jorge Fontella, pelas palavras de incentivo e apoio durante o trabalho aos sábados no laboratório de Palinologia.

À Dr^a Débora Medeiros, pela revisão desta tese e valiosas sugestões durante as disciplinas de Seminários I e II.

À Dr^a Julie Dutilh, pela importantíssima ajuda na compreensão das Amarilidáceas e pelo empréstimo e doação de bibliografias. Muito obrigada.

Aos amigos Amaryllidólogos pelos conhecimentos compartilhados em especial ao Antônio Campos-Rocha, pelo convite para compor o Simpósio sobre as Amaryllidáceas brasileiras no 67° CNBOT.

À Secretaria de Educação do Estado do Rio de Janeiro pela concessão de licença para estudo pelo período de 12 meses durante a realização desta tese.

À equipe de direção do CIEP Avenida dos Desfiles 504 pelo apoio e compreensão principalmente nos momentos de minha ausência.

À minha família e amigos, pelo apoio e compreensão durante todo o processo de desenvolvimento da tese e crescimento profissional.

Ao Carlos Eduardo Carvalho Dantas, pela compreensão, amor, companheirismo, amizade e controle da logística de funcionamento de nossa casa. Muito obrigada por tudo!

Enfim, a todos que direta ou indiretamente contribuíram e torceram pela minha vitória... Muito obrigada a todos!

“Que ninguém se engane, só se
consegue a simplicidade através de
muito trabalho”

Clarice Lispector

Palinotaxonomia de representantes brasileiros das tribos Hippeastreae Sweet e Griffinieae Ravenna (Amaryllidoideae- Amaryllidaceae)

Renata Suzano Candido

Orientadoras: Prof^ª Dr^ª Vania Gonçalves L. Esteves

Prof^ª Dr^ª Rosana Conrado Lopes

Resumo da Tese de Doutorado 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 Doutor em Ciências Biológicas (Botânica).

O presente trabalho refere-se ao estudo palinológico de 44 táxons brasileiros subordinados às tribos Hippeastreae e Griffinieae (Amaryllidoideae-Amaryllidaceae). Os objetivos foram descrever e relacionar a morfologia polínica dos representantes das tribos em questão, analisando se esta condiz com a sistemática atualmente aceita e desta forma ampliar o potencial do grão de pólen como marcador morfológico, para sustentar clados e diferenciar táxons relacionados ou circunscrever grupos taxonômicos e fornecer dados que auxiliem no estudo sistemático da família. Os grãos de pólen após acetólise láctica a 60% foram analisados, medidos, descritos e fotomicrografados, e polens não acetolisados foram examinados em microscopia eletrônica de varredura. Os resultados encontrados evidenciaram que a morfologia polínica apresentou divergências morfológicas entre as espécies dos diferentes gêneros estudados, o que possibilitou a produção de chaves palinológicas e permitiu agrupá-los em diferentes tipos polínicos de acordo com o padrão de ornamentação da sexina. Além disso, foi possível a delimitação dos subgêneros de *Griffinia* e a ornamentação da membrana apertural teve destaque importante na caracterização das espécies, o mesmo não foi observado no gênero *Hippeastrum* no qual os caracteres polínicos não corroboraram a atual delimitação dos subgêneros, os gêneros *Habranthus* e *Zephyranthes* mostraram uniformidade, devido ao compartilhamento de muitos atributos polínicos. A presença de opérculo foi observada em *Habranthus* e relatado pela primeira vez para este gênero, além disso 75% das espécies tiveram seus grão de pólen analisados pela primeira vez no presente estudo. Deste modo, conclui-se que a família Amaryllidaceae é claramente euripolinica, sendo o padrão de ornamentação da sexina um marcador morfológico importante na delimitação das espécies.

Palavras-chave: Asparagales, Palinologia, Sistemática

Palinotaxonomy of Brazilian representatives of the tribes Hippeastreae Sweet and Griffinieae Ravenna (Amaryllidoideae-Amaryllidaceae)

Renata Suzano Candido

Orientadoras: Prof^a Dr^a Vania Gonçalves L. Esteves

Prof^a Dr^a Rosana Conrado Lopes

Abstract da Tese de Doutorado 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 Doutor em Ciências Biológicas (Botânica).

The present work refers to the palynological study of 44 Brazilian taxa subordinate to the tribes Hippeastreae and Griffinieae (Amaryllidoideae-Amaryllidaceae). The objectives were to describe and to relate the pollen morphology of the representatives of the tribes in question, analyzing if this agrees with the systematics currently accepted and in this way to extend the potential of the pollen grain as a morphological marker to support clades and differentiate related taxa or circumscribe taxonomic groups and provide data to aid in the systematic study of the family. Pollen grains after 60% lactic acetolysis were analyzed, measured, described and photomicrographed, and non-acetolysed pollen were examined by scanning electron microscopy. The results showed that the pollen morphology showed morphological divergences between the species of the different genera studied, which allowed the production of palynological keys and allowed them to be grouped into different pollen types according to the pattern of sexine ornamentation. In addition, it was possible to delimit the *Griffinia* subgenus and the ornamentation of the apertural membrane was important in the characterization of the species. The same genus was not observed in the *Hippeastrum* genus in which the pollen characters did not corroborate the current delimitation of the subgenus, the genera *Habranthus* and *Zephyranthes* showed uniformity, due to the sharing of many pollen attributes. The presence of operculum was observed in *Habranthus* and reported for the first time for this genus, in addition 75% of the species had their pollen grain analyzed for the first time in the present study. Thus, it is concluded that the Amaryllidaceae family is clearly euripolinic, with the ornamentation pattern of the sexine being an important morphological marker in the delimitation of the species.

Key words: Asparagales, Palynology, Systematics

LISTA DE FIGURAS

- Cladograma demonstrando a atual classificação da família Amaryllidaceae, segundo APGIII. [créditos da imagem: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>, em 20/04/2017] 3
- Mapa da distribuição geográfica da subfamília Amaryllidoideae [créditos da imagem: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>, em 20/04/2017] 4
- Cladograma demonstrando o posicionamento das tribos americanas incluídas no clado andino (Meerow *et al.* 2000). 6
- Cladograma demonstrando o posicionamento dos gêneros das tribos Hippeastreae e Griffinieae incluídas no clado Hippeastroide (Meerow *et al.* 2000). 7
- Quadro dos gêneros subordinados à tribo Hippeastreae, com seus respectivos número de espécies, número de espécies no Brasil e distribuição geográfica. (Meerow & Snijman 1998; Dutilh & Oliveira *Amaryllidaceae* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB40606>>. Acesso em: 06 mai. 2017). 9
- Inferência filogenética de Amaryllidaceae com sequência combinada de rbcL e trnL-F. Ilustração adaptada do trabalho de Meerow *et al.* (1999), representando 1 das 5000 mil árvores obtidas através de análise de parcimônia. Subtribo Zephyranthinae (seta). 10
- Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Griffinia*. A-G: *G. alba* – A. vista polar, B. vista equatorial, C,D. análise de L.O., E. vista polar: abertura (MEV), F. vista equatorial (MEV), G. detalhe da superfície; H-M: *G. concinna* – H. vista polar, I,J. análise de L.O., K. vista polar: corte óptico, L. vista polar: abertura (MEV), M. detalhe da superfície (MEV); N-R: *G. espiritensis* – N. vista polar, O,P. análise de L.O., Q. vista equatorial (MEV), R. vista polar: abertura (MEV). 52
- Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Griffinia*. A-B: *G. espiritensis* – A. vista polar: face proximal (MEV), B. detalhe da superfície (MEV); C-I: *G. gardneriana* – C. vista polar, D,E. análise de L.O., F. vista polar: abertura (MEV), G. vista equatorial (MEV) H. detalhe da abertura (MEV), I. detalhe da superfície (MEV); J-O: *G. hyacinthina* – J. vista polar, K. vista equatorial, L,M. análise de L.O., N. vista polar: abertura (MEV), O. detalhe da superfície (MEV); P-Q: *G. intermedia* – P. vista polar, Q. vista equatorial. 53

- Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Griffinia*. A-E: *G. intermedia* – A,B. análise de L.O., C. vista polar: abertura (MEV), D. vista equatorial (MEV), E. detalhe da superfície (MEV); F-K: *G. liboniana* – F. vista polar (corte óptico), G. vista equatorial, H,I. análise de L.O., J. vista polar: abertura (MEV), K. detalhe da superfície (MEV); L-R: *G. parviflora* – L. vista polar (corte óptico), M. vista equatorial, N,O. análise de L.O., P. vista equatorial (abertura) (MEV), Q. vista equatorial (MEV), R. detalhe da superfície (MEV). 54
- Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Griffinia* e *Worsleya*. A-G: *G. paubrasilica* – A. vista polar, B. vista equatorial (corte óptico), C,D. análise de L.O., E. vista polar: abertura (MEV), F. vista equatorial (MEV), G. detalhe da superfície (MEV); H-N: *W. procera* – H. vista polar (corte óptico), I. vista equatorial, J,K. análise de L.O., L. vista polar: abertura (MEV), M. vista equatorial (MEV), N. detalhe da superfície (MEV). 55
- Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Griffinia* e *Worsleya*. A: *G. concinna* – detalhe da superfície (MEV); B: *G. parviflora* – detalhe da superfície (MEV); C: *G. paubrasilica* – detalhe da superfície (MEV); D: *W. procera* – detalhe da superfície (MEV). 56
- Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Griffinia*. A: *G. alba* – detalhe da superfície (MEV); B: *G. espiritensis* – detalhe da superfície (MEV); C: *G. gardneriana* – detalhe da superfície (MEV); D: *G. hyacinthina* – detalhe da superfície (MEV); E: *G. intermedia* – detalhe da superfície (MEV); F: *G. liboniana* – detalhe da superfície (MEV). 57
- Dendograma combinado de dados quantitativos e qualitativos de espécies de *Griffinia* e *Worsleya* (Tribo Griffineae) por análise hierárquica de aglomeração (AHC). Espécies indicadas pelas 3/4 primeiras letras do epíteto específico. 58
- Gráfico bidimensional representando as espécies de Griffineae em PCA. 59
- Inferência filogenética de Amaryllidaceae com sequência combinada de rbcL e trnL-F. Ilustração adaptada do trabalho de Meerow *et al.* (1999), representando 1 das 5000 mil árvores obtidas através de análise de parcimônia. Números sobre os ramos indicam suporte de “bootstrap”. 67
- Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Habranthus*. A-I: *H. bahiensis* – A. vista polar, B. vista equatorial, C,D. análise de L. O., E. vista polar: abertura (MEV), F. vista polar face distal: opérculo (seta) (MEV), G. vista polar face proximal (MEV), H. detalhe da superfície (MEV), I. detalhe do pilo (MEV); J-O: *H. brachyandrus* – J. vista polar, K. vista equatorial, L,M. análise de L. O., N. vista polar face proximal (MEV), O. detalhe da superfície (MEV); P-Q: *H. gracilifolius* – P. vista polar, Q. vista equatorial. 95

- Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Habranthus*. A-I: *H. bahiensis* – A. vista polar, B. vista equatorial, C,D. análise de L. O., E. vista polar: abertura (MEV), F. vista polar face distal: opérculo (seta) (MEV), G. vista polar face proximal (MEV), H. detalhe da superfície (MEV), I. detalhe do pilo (MEV); J-O: *H. brachyandrus* – J. vista polar, K. vista equatorial, L,M. análise de L. O., N. vista polar face proximal (MEV), O. detalhe da superfície (MEV); P-Q: *H. gracilifolius* – P. vista polar, Q. vista equatorial. 96
- Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Habranthus*. A-H: *H. lucidus* – A. vista polar, B. vista equatorial, C,D. análise de L.O., E. vista polar face distal (MEV), F. vista polar: opérculo (seta) (MEV), G. vista equatorial (MEV), H. detalhe da superfície (MEV); I-O: *H. robustus* – I. vista polar, J. vista equatorial, K,L. análise de L.O., M. vista polar: opérculo (seta) (MEV), N. vista equatorial (MEV), O. detalhe da superfície (MEV); P-R: *H. sylvaticus* – P. vista equatorial, Q,R. análise de L.O. 97
- Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Habranthus e Zephyranthes*. A-D: *H. sylvaticus* – A. vista polar: opérculo (seta) (MEV), B. vista equatorial: opérculo (seta) (MEV), C. face proximal: detalhe da superfície (MEV), D. detalhe da superfície; E-K: *H. tubispathus* – E. vista polar, F. vista equatorial, G,H. análise de L.O., I. vista polar: opérculo (seta) (MEV), J. vista equatorial (MEV), K. detalhe da superfície; L-M: *Z. candida* – L. vista polar, M. vista equatorial, N,O. análise de L.O., P. detalhe da abertura (seta) (MEV), Q. vista equatorial (MEV). 98
- Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Zephyranthes*. A: *Z. candida* – A. detalhe da superfície (MEV); B-H: *Z. cearensis* – B. vista polar, C. vista equatorial, D,E. análise de L.O., F. vista polar (MEV), G. vista equatorial (MEV), H. detalhe da superfície (MEV); I-J: *Z. flavissima* – I. vista polar, J. vista equatorial. 99
- Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Zephyranthes*. A-E: *Z. flavissima* – A,B. análise de L.O., C. vista polar (MEV), D. vista equatorial (MEV), E. detalhe da superfície (MEV); F-K: *Z. mesochloa* – F. vista polar, G. vista equatorial, H,I. análise de L.O., J. vista equatorial (MEV), K. detalhe da superfície (MEV). 100
- Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Habranthus*. A-B: *H. bahiensis* – A. detalhe da superfície (MEV), B. detalhe da superfície: pilos (MEV); C: *H. sylvaticus* – C. detalhe da superfície (MEV); D: *H. irwinianus* – D. detalhe da superfície (MEV). 101
- Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Habranthus e Zephyranthes*. A: *Z. candida* – A. detalhe da superfície (MEV); B: *H. gracilifolius* – B. detalhe da superfície (MEV); C: *Z. mesochloa* – C. detalhe da superfície (MEV); D: *Z. flavissima* – D. detalhe da superfície (MEV). 102

- Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Habranthus* e *Zephyranthes*. A: *Z. cearensis* – A. detalhe da superfície (MEV); B: *H. brachyandrus* – B. detalhe da superfície (MEV); C: *H. robustus* – C. detalhe da superfície (MEV); D: *H. lucidus* – D. detalhe da superfície (MEV); E: *H. tubispathus* – E. detalhe da superfície (MEV); F: *H. lacteus* – F. detalhe da superfície (MEV). 103
- Dendograma de dados quantitativos de espécies de *Habranthus* e *Zephyranthes* por análise hierárquica de aglomeração (AHC). Espécies indicadas pelas 3 primeiras letras do epíteto específico. 104
- Gráfico bidimensional representando as espécies da *Habranthus* e *Zephyranthes* em PCA. 105
- Inferência filogenética das tribos americanas de Amaryllidaceae com sequência de ITS rDNA. Ilustração adaptada do trabalho de Meerow *et al.* (2000), representando 1 das 5000 mil árvores obtidas através de análise de parcimônia. Números sobre os ramos indicam suporte de “bootstrap” (Oliveira 2012). 115
- Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Hippeastrum*. A-G: *H. angustifolium* – A. vista polar, B. vista equatorial, C,D. análise de L.O., E. vista polar face distal: abertura (MEV), F. vista equatorial (MEV), G. detalhe da superfície (MEV); H-O: *H. aulicum* – H. vista polar, I. vista equatorial, J,K. análise de L.O., L. vista polar face distal (MEV), M. vista equatorial (MEV), N. vista polar face proximal (MEV), O. detalhe da superfície (MEV); P-Q: *H. aulicum* var. *glaucochylum* – P. vista polar, Q. vista equatorial. 153
- Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Hippeastrum*. A-F: *H. aulicum* var. *glaucochylum* – A,B. análise de L.O., C. vista polar face distal: abertura (MEV), D. vista polar face distal (MEV), E. vista equatorial (MEV), F. detalhe da superfície (MEV); G-L: *H. blossfeldiae* – G. vista polar, H,I. análise de L.O., J. vista equatorial, K. vista polar face distal: abertura (MEV), L. detalhe da superfície; M-R: *H. brasilianum* – M. vista polar, N. vista equatorial, O,P. análise de L.O., Q. vista polar face distal: abertura (MEV), R. detalhe da superfície (MEV). 154
- Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Hippeastrum*. A-G: *H. breviflorum* – A. vista polar, B. vista equatorial, C,D. análise de L.O., E. vista polar face distal: abertura (MEV), F. vista equatorial (MEV), G. detalhe da superfície (MEV); H-N: *H. calyptratum* – H. vista polar, I. vista equatorial, J,K. análise de L.O., L. vista polar face proximal (MEV), N. detalhe da superfície (MEV); O-P: *H. canastrense* – O. vista polar, P. vista equatorial, Q. vista polar face proximal. 155

- Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Hippeastrum*. A: *H. canastrense* – A. detalhe da superfície (MEV); B-H: *H. cipoanum* – B. vista polar, C. vista equatorial, D,E. análise de L.O., F. vista polar face distal: abertura (MEV), G. vista equatorial (MEV), H. detalhe da superfície (MEV); I-O: *H. elegans* – I. vista polar, J. vista equatorial, K,L. análise de L.O., M. vista polar face proximal (MEV), N. vista equatorial: abertura (MEV), O. detalhe da superfície (MEV); P-Q: *H. glaucescens* – P. vista polar, Q. vista equatorial. 156
- Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Hippeastrum*. A-D: *H. glaucescens* – A,B. análise de L.O., C. vista equatorial: abertura (MEV), D. detalhe da superfície (MEV); E-J: *H. goianum* – E. vista polar, F. vista equatorial, G,H. análise de L.O., I. vista polar face distal: abertura (MEV), J. detalhe da superfície (MEV); K-Q: *H. morelianum* – K. vista polar, L. vista equatorial, M,N. análise de L.O., O. vista polar face distal: abertura (MEV), P. vista equatorial (MEV), Q. detalhe da superfície (MEV); R: *H. papilio* – R. vista polar. 157
- Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Hippeastrum*. A-F: *H. papilio* – A. vista equatorial, B,C. análise de L.O., D. vista polar face distal: abertura (MEV), E. vista equatorial (MEV), F. detalhe da superfície (MEV); G-J: *H. puniceum* – G. vista polar, H. vista equatorial, I. vista equatorial (MEV), J. detalhe da superfície (MEV); K-Q: *H. reginae* – K. vista polar, L. vista equatorial, M,N. análise de L.O., O. vista polar face distal: abertura (MEV), P. vista polar face proximal (MEV), Q. detalhe da superfície (MEV). 158
- Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Hippeastrum*. A-E: *H. reticulatum* – A. vista polar, B. vista equatorial, C. vista polar face distal: abertura (MEV), D. detalhe da superfície (MEV); E-H: *H. santacatarina* – E. vista polar, F,G. análise de L.O., H. detalhe da superfície (MEV); I-L: *H. striatum* – I. vista polar, J. vista equatorial, K. vista polar face distal: abertura (MEV), L. detalhe da superfície (MEV); M-Q: *H. stylosum* – M. vista polar, N. vista equatorial, O,P. análise de L.O., Q. vista equatorial (MEV). 159
- Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Hippeastrum*. A-C: *H. stylosum* – A. vista polar face proximal (MEV), B. vista polar face distal: abertura (MEV), C. detalhe da superfície (MEV); D-J: *H. vittatum* – D. vista polar, E. vista equatorial, F,G. análise de L.O., H. vista polar face distal (MEV), I. vista equatorial (MEV), J. detalhe da superfície (MEV). 160
- Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Hippeastrum*. A: *H. elegans* – detalhe da superfície: “cordões” (seta) (MEV), B: *H. goianum* – detalhe da superfície, C: *H. puniceum* – detalhe da superfície: fileira dupla (seta) (MEV), D: *H. reginae* – detalhe da superfície: “pontes” de exina (seta) (MEV). 161
- Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Hippeastrum*. A-B: *H.* 162

aulicum var. *glaucophyllum* – A. detalhe da superfície (MEV), B. vista polar face proximal (MEV), C: *H. aulicum* – detalhe da superfície, D: *H. calyptratum* – detalhe da superfície (MEV), E: *H. papilio* – detalhe da superfície (MEV) F: *H. stylosum* – detalhe da superfície (MEV).

Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Hippeastrum*. A: *H. angustifolium* – detalhe da superfície (MEV); B: *H. cipoanum* – detalhe da superfície (MEV); C: *H. blossfeldiae* – detalhe da superfície (MEV); D: *H. breviflorum* – detalhe da superfície; E: *H. glaucescens* - detalhe da superfície (MEV); F: *H. vittatum* – detalhe da superfície (MEV). 163

Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Hippeastrum*. A: *H. brasilianum* – detalhe da superfície (MEV); B: *H. canastrense* – detalhe da superfície (MEV); C: *H. morelianum* – detalhe da superfície (MEV); D: *H. reticulatum* – detalhe da superfície; E: *H. santacatarina* - detalhe da superfície (MEV); F: *H. striatum* – detalhe da superfície (MEV). 164

Dendograma de dados quantitativos de espécies de *Hippeastrum* por análise hierárquica de aglomeração (AHC). Espécies indicadas pelas 3 primeiras letras do epíteto específico. 165

Gráfico bidimensional representando as espécies do gênero *Hippeastrum* em PCA. 166

Eletromicrografias do detalhe da superfície dos grãos de pólen dos tipos 1 e 2. Tipo 1- Exina microrreticulada: A, B e D. Espécies de *Griffinia*: A. *Griffinia alba*; B. *Griffinia espiritensis*; D. *Griffinia hyacinthina*. Tipo 2- Exina microrreticulada com báculos e microespinhos suprategmiais: C. *Griffinia gardneriana*. 174

Eletromicrografias do detalhe da superfície dos grãos de pólen dos tipos 3. Tipo 3- Exina reticulada: A. *Zephyrantes candida*; B. *Habranthus brachyandrus*; C. *Griffinia paubrasilica*; D. *Worsleya procera*; E. *Hippeastrum glaucescens*; F. *Hippeastrum calyptratum*. 175

Eletromicrografias do detalhe da superfície dos grãos de pólen dos tipos 4 e 6. Tipo 4- Exina birreticulada: D. *Habranthus irwinianus*. Tipo 6- Exina pilada: A, B. *Habranthus bahiensis*; C. *Habranthus sylvaticus*. 176

Eletromicrografias do detalhe da superfície dos grãos de pólen dos tipos 5. Tipo 5- Exina retipilada: A, B, C, D. Espécies de *Hippeastrum*: A. *Hippeastrum elegans*; B. *Hippeastrum goianum*; C. *Hippeastrum puniceum*; D. *Hippeastrum reginae*. 177

LISTA DE TABELAS

| | |
|--|-----|
| Classificação para a tribo Griffineae de acordo com Preuss (1999), Dutilh & Oliveira (2015) e (Lista da flora 2020 em construção) adaptado. | 25 |
| Medidas (μm) dos grãos de pólen de espécies de <i>Griffinia</i> e <i>Worsleya</i> (n=25) em vista polar: eixo maior (DM) e eixo menor (Dm) | 46 |
| Medidas (μm) dos grãos de pólen de espécies de <i>Griffinia</i> e <i>Worsleya</i> (n=10) em vista equatorial: diâmetro polar (DP) e diâmetro equatorial (DE). | 47 |
| Médias (μm) da abertura, das camadas da exina, do lúmem e do muro dos grãos de pólen de espécies de <i>Griffinia</i> e <i>Worsleya</i> (n=10). | 48 |
| Médias (μm) dos espécimes de comparação de espécies de <i>Griffinia</i> e <i>Worsleya</i> em vista polar e equatorial (n=10). | 49 |
| Matriz de dados com caracteres quantitativos e suas respectivas numerações de espécies de <i>Griffinia</i> e <i>Worsleya</i> . | 50 |
| Variância acumulativa e valores dos vetores da análise de componente principal (PCA) | 51 |
| Medidas (μm) dos grãos de pólen de espécies de <i>Habranthus</i> e <i>Zephyranthes</i> (n=25) em vista polar. | 89 |
| Medidas (μm) dos grãos de pólen de espécies de <i>Habranthus</i> (n=10) em vista equatorial: diâmetro polar (DP) e diâmetro equatorial (DE). | 90 |
| Médias (μm) das camadas da exina dos grãos de pólen de espécies de <i>Habranthus</i> e <i>Zephyranthes</i> (n=10). | 91 |
| Médias (μm) dos espécimes de comparação de espécies de <i>Habranthus</i> e <i>Zephyranthes</i> em vista polar e equatorial (n=10). | 92 |
| Matriz de dados com caracteres quantitativos e suas respectivas numerações de espécies de <i>Habranthus</i> e <i>Zephyranthes</i> . | 93 |
| Variância acumulativa e valores dos vetores da análise de componente principal (PCA) | 94 |
| Medidas (μm) dos grãos de pólen de espécies de <i>Hippeastrum</i> (n=25) em vista polar. | 141 |
| Medidas (μm) dos grãos de pólen de espécies de <i>Hippeastrum</i> (n=10) em vista equatorial: diâmetro polar (DP) e diâmetro equatorial (DE). | 143 |

| | |
|--|-----|
| Médias (μm) das camadas da exina dos grãos de pólen de espécies de <i>Hippeastrum</i> (n=10). | 144 |
| Médias (μm) dos espécimes de comparação de espécies de <i>Hippeastrum</i> e em vista polar e equatorial (n=10). | 146 |
| Matriz de dados com caracteres quantitativos de espécies de <i>Hippeastrum</i> . | 150 |
| Variância acumulativa e valores dos vetores da análise de componente principal (PCA) | 152 |

SUMÁRIO

| | |
|--|----|
| INTRODUÇÃO GERAL | 1 |
| 1. A subfamília Amaryllidoideae e a classificação intrafamiliar | 4 |
| 2. A tribo Hippeastreae Sweet sensu Meerow & Snijman | 8 |
| 3. A tribo Griffinieae Ravenna sensu Meerow | 11 |
| 4. Estudos Palinológicos em Amaryllidaceae | 12 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 15 |
| Capítulo 1: Palinologia de representantes do gênero <i>Hippeastrum</i> Herb. (Amaryllidoideae-Amaryllidaceae) aplicada à sistemática | 20 |
| RESUMO | 21 |
| ABSTRACT..... | 22 |
| 1. INTRODUÇÃO | 23 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS | 29 |
| 2.1. O grupo de estudo | 29 |
| 2.2. Levantamento das coleções nos Herbários..... | 29 |
| 2.3. Coleta do material polínico | 29 |
| 2.4. Microscopia de luz | 30 |
| 2.5. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)..... | 30 |
| 2.6. Medidas | 31 |
| 2.7. Análise Estatística | 31 |
| 2.8. Análise multivariada dos dados..... | 32 |
| 2.9. Terminologia | 33 |
| 3. RESULTADOS | 34 |
| 3.1. Descrição Polínica..... | 34 |
| 3.1.1. Tamanho..... | 34 |

| | |
|--|----|
| 3.1.2. Unidade de dispersão, polaridade, e contorno..... | 34 |
| 3.1.3. Abertura..... | 34 |
| 3.1.4. Estratificação e padrão de ornamentação da exina –..... | 35 |
| 3.3. Análises Multivariadas..... | 39 |
| 3.3.1. Análise de agrupamento hierárquico (HCA)..... | 39 |
| 3.3.2. Análise de componente principal (PCA)..... | 39 |
| 4. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO..... | 42 |
| 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 50 |
| Capítulo 2: Implicação da morfologia polínica na delimitação específica de representantes da subtribo <i>Zephyranthinea sensu Meerow</i> (Amaryllidoideae-Amaryllidaceae)..... | 84 |
| RESUMO..... | 84 |
| ABSTRACT..... | 84 |
| 1. INTRODUÇÃO..... | 86 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS..... | 90 |
| 2.1. O grupo de estudo..... | 90 |
| 2.2. Levantamento das coleções nos Herbários..... | 90 |
| 2.3. Coleta do material polínico..... | 90 |
| 2.4. Microscopia de luz..... | 91 |
| 2.5. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)..... | 91 |
| 2.6. Medidas..... | 92 |
| 2.7. Análise Estatística..... | 93 |
| 2.8. Análise multivariada dos dados..... | 93 |
| 2.9. Terminologia..... | 94 |
| 3. RESULTADOS..... | 95 |
| 3.1. Descrição Polínica..... | 95 |
| 3.1.1. Tamanho..... | 95 |

| | |
|---|-----|
| 3.1.2. Unidade de dispersão, polaridade, e contorno..... | 95 |
| 3.1.3. Abertura..... | 95 |
| 3.1.4. Estratificação e padrão de ornamentação da exina..... | 96 |
| 3.3. Análises Multivariadas..... | 100 |
| 3.3.1. Análise de agrupamento hierárquico (HCA)..... | 100 |
| 4. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO..... | 102 |
| 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 107 |
| Capítulo 3: Morfologia Polínica de representantes da tribo Griffinieae Ravenna (Amaryllidoideae-Amaryllidaceae) aplicada à sistemática..... | 131 |
| RESUMO..... | 132 |
| ABSTRACT..... | 133 |
| Keywords: <i>Griffinia</i> , Palynology, Taxonomy, <i>Worsleya</i> | 133 |
| 1. INTRODUÇÃO..... | 134 |
| 2. MATERIAL E MÉTODOS..... | 138 |
| 2.1. O grupo de estudo..... | 138 |
| 2.2. Levantamento das coleções nos Herbários..... | 138 |
| 2.3. Coleta do material polínico..... | 138 |
| 2.4. Microscopia de luz..... | 139 |
| 2.5. Microscopia eletrônica de varredura (MEV)..... | 139 |
| 2.6. Medidas..... | 140 |
| 2.7. Análise Estatística..... | 140 |
| 2.8. Análise multivariada dos dados..... | 141 |
| 2.9. Terminologia..... | 142 |
| 3. RESULTADOS..... | 143 |
| 3.1. Descrição Polínica..... | 143 |
| 3.1.1. Tamanho..... | 143 |

| | |
|--|-----|
| 3.1.2. Unidade de dispersão, polaridade, contorno –..... | 143 |
| 3.1.3. Abertura –..... | 143 |
| 3.1.4. Estratificação e padrão de ornamentação da exina –..... | 144 |
| 3.3. Análises Multivariadas..... | 148 |
| 3.3.1. Análise de agrupamento hierárquico (HCA)..... | 148 |
| 3.3.2. Análise de componente principal (PCA)..... | 148 |
| 4. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO..... | 150 |
| 5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 157 |
| CONSIDERAÇÕES FINAIS..... | 176 |
| REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS..... | 184 |

ESTRUTURA DA TESE

O presente estudo tem como principal objetivo a descrição palinológica de espécies brasileiras distribuídas nas tribos Hippeastreae e Griffinieae de Amaryllidaceae e posterior análise dos atributos polínicos descritos visando avaliar o potencial dessa estrutura como marcador morfológico para sustentar ou diferenciar categorias taxômicas existentes, bem como, delimitar gêneros e espécies. Desta forma, fornecer dados que auxiliem no estudo sistemático da família.

Tendo em vista o enfoque deste trabalho, a tese foi redigida da seguinte forma: Introdução geral e três capítulos seguidos das considerações finais.

Capítulo I: Palinologia de representantes do gênero *Hippeastrum* Herb. (Amaryllidoideae-Amaryllidaceae) aplicada à sistemática

Neste capítulo foi realizado o estudo da morfologia polínica de espécies do gênero *Hippeastrum* subordinadas a cinco subgêneros ocorrentes em território nacional.

Capítulo II: Implicação da morfologia polínica à delimitação específica de representantes da subtribo *Zephyranthinea sensu Meerow*

Neste capítulo foram tratadas sob o ponto de vista palinológico espécies dos gêneros *Habranthus* e *Zephyranthes* ocorrentes no Brasil.

Capítulo III: Morfologia Polínica de representantes da tribo Griffinieae Ravenna (Amaryllidoideae-Amaryllidaceae) aplicada à sistemática

Neste capítulo foi apresentada a morfologia polínica de espécies do gênero *Griffinia* subordinadas a dois subgêneros e do gênero monoespecífico *Worsleya*, todas endêmicas do território brasileiro.

Considerações finais: Todos os resultados foram analisados em conjunto a fim de estabelecer tipos polínicos, que facilitem a delimitação taxonômica dos gêneros.

INTRODUÇÃO GERAL

Asparagales é monofilética e congrega 14 famílias, 1.122 gêneros e cerca de 36.205 espécies (Stevens 2001). Esta ordem pode ter a maior taxa de diversificação das monocotiledôneas (Magallón & Castillo 2009). Dentre os caracteres que sustentam a ordem, incluem-se as características das sementes, que apresentam a epiderme da testa obliterada (na maioria das espécies com fruto carnoso), ou exibem a testa com uma crosta preta e carbonácea de fitomelanina na maior parte das espécies com fruto seco (Stevens 2001). Entre as famílias pertencentes a Asparagales posiciona-se Amaryllidaceae com cerca de 73 gêneros e 1.605 espécies, distribuídas em três subfamílias, Allioideae, Agapanthoideae e Amaryllidoideae (Stevens 2001).

A relação filogenética entre as espécies pertencentes a atual Amaryllidaceae tem sido discutida ao longo do tempo por alguns autores (Fay & Chase 1996, Meerow *et al.* 1999, Fay *et al.* 2000, Graham *et al.* 2006).

No passado, Alliaceae foi posicionada como subfamília (Allioideae) de Amaryllidaceae (Traub 1963), e posteriormente ambas as famílias, juntamente com Alstroemeriaceae, Asparagaceae, Hyacinthaceae e Hypoxidaceae, dentre outras, foram reunidas no grande táxon Liliaceae (Cronquist 1981).

Baseados em dados moleculares Amaryllidaceae, Agapanthaceae e Alliaceae formaram um grupo monofilético (Fay & Chase 1996). Posteriormente, Amaryllidaceae, Alliaceae e Agapanthaceae, foram subordinadas à Alliaceae mostrando que os três táxons são monofiléticos, e proximamente relacionados (APG II 2003).

Apesar de Alliaceae ser o nome mais antigo, recentemente Amaryllidaceae tornou-se um nome conservado pela proposta de Meerow *et al.* (2007) e a partir de APG III (2009) ocorreu a mudança de níveis hierárquicos sendo proposto o *status* de

subfamília para Amaryllidoideae, Agapanthoideae e Allioideae que foram agrupadas sob o nome Amaryllidaceae (Fig.1). A proposta de agrupamento destas subfamílias é sustentada por um caráter morfológico – a presença de inflorescências em umbelas envoltas por um par de brácteas. O uso das subfamílias Agaphantoideae, Allioideae e Amaryllidoideae em Amaryllidaceae foi recomendado por Chase *et al.* (2009) para que as descrições se tornassem mais fáceis e bem suportadas.

Neste trabalho trataremos de Amaryllidaceae conforme seu posicionamento atual na ordem Asparagales com três subfamílias Agaphantoideae, Allioideae e Amaryllidoideae (APG IV 2016).

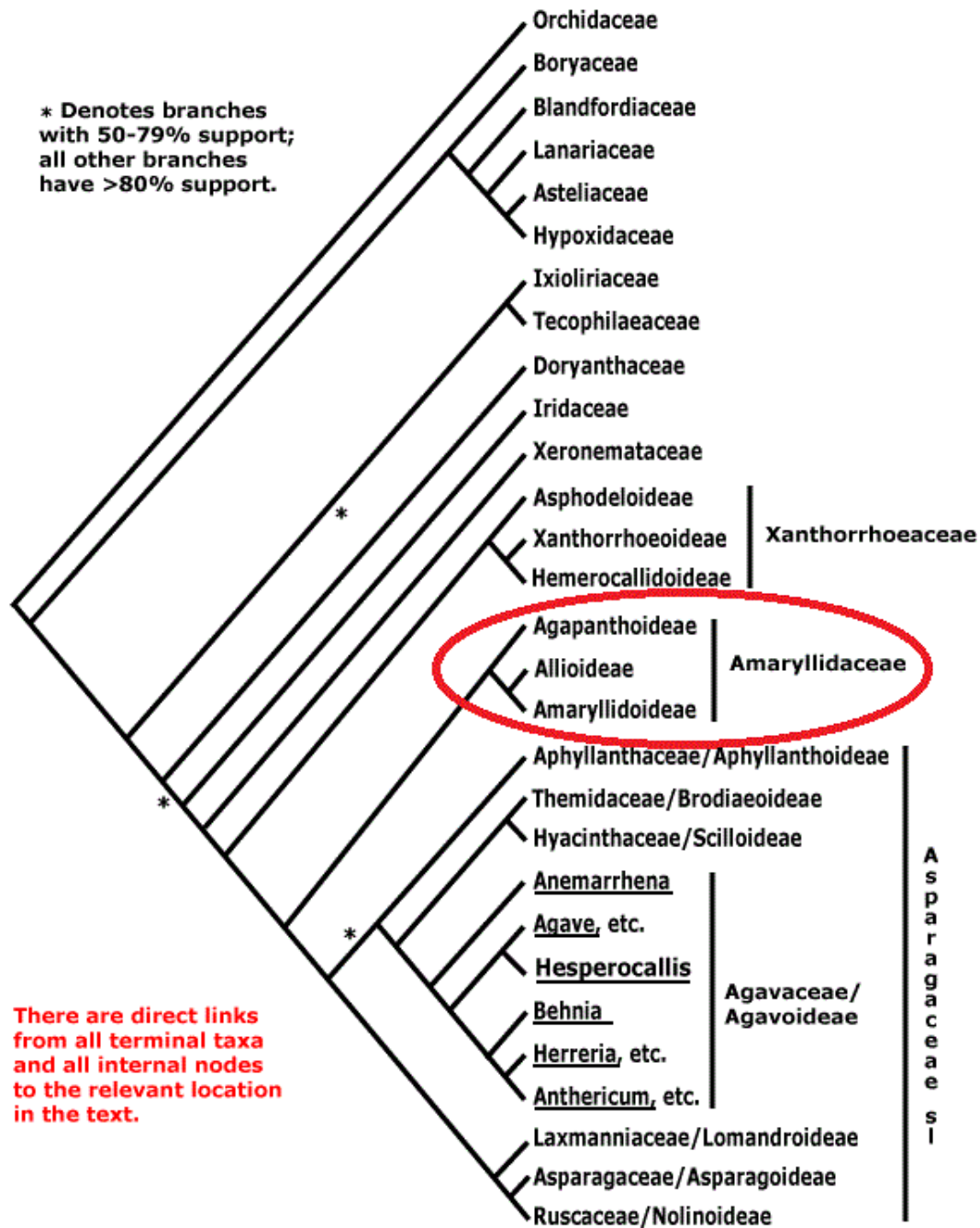


Figura 1: Cladograma demonstrando a atual classificação da família Amaryllidaceae, segundo APGIV. [créditos da imagem: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>, em 20/04/2017]

1. A subfamília Amaryllidoideae e a classificação intrafamiliar

Amaryllidoideae Burnett é caracterizada por possuir folhas em espiral, vernação plana ou revoluta; brácteas equitantes, flores grandes, ovário ínfero, estigma capitado a profundamente trifido; raiz primária bem desenvolvida, contrátil (Stevens 2001).

A subfamília tem distribuição bastante ampla (Fig. 2), sendo encontrada nas áreas temperadas até as tropicais. A América do Sul, África do Sul e a região do mediterrâneo, são as mais representativas. Possui 59 gêneros com aproximadamente 800 espécies reconhecidas no mundo, das quais 385 ocorrem na América do Sul (Meerow & Snijman 1998). No Brasil encontram-se 14 gêneros nativos e 136 espécies, ocorrendo em todas as regiões e domínios geográficos (Dutilh & Oliveira 2015).

Amaryllidoideae tem se apresentado como um grupo monofilético, com as seguintes sinapomorfias: alcaloides específicos “norbelladine”, ovário ínfero, e por evidências de sequenciamento de *rbcL* e *trnL-F*, que a separa das outras subfamílias (Merrow *et al* 1999).

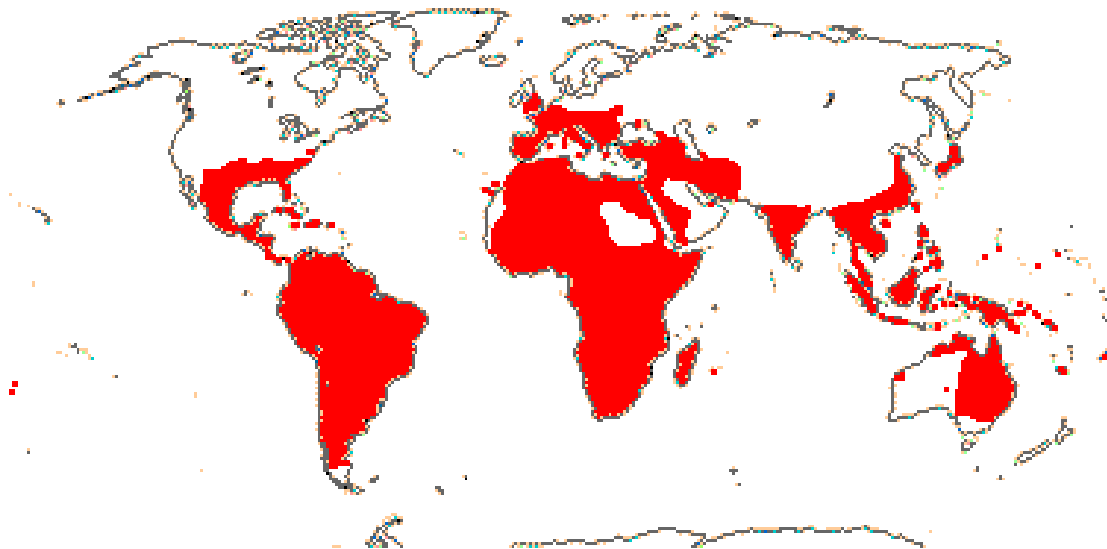


Figura 2: Mapa da distribuição geográfica da subfamília Amaryllidoideae [créditos da imagem: <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>, em 20/04/2017]

Sua importância econômica reside no fato de possuir numerosos gêneros ornamentais: *Amaryllis* L., *Crinum* L., *Cyrtanthus* Aiton, *Eucharis* Planch., *Galanthus* L., *Haemanthus* L., *Hippeastrum* Herb., *Narcissus* L., *Nerine* Herb., e *Zephyranthes* Herb. (Judd *et al.* 2009), sendo *Hippeastrum* e *Zephyranthes* com ocorrência no Brasil (Meerow & Snijman 1998).

Amaryllidoideae já apresentou quatro classificações infrafamiliares ao longo do tempo (Traub 1963; Dahlgren *et al.* 1985; Müller-Doblies & Müller-Doblies 1996; Meerow & Snijman 1998). Esta última considerou a subfamília dividida em 14 tribos (Amaryllideae, Haemantheae, Cyrtantheae, Gethyllideae, Calostemmateae, Lycorideae, Narcisseae, Galantheae, Pancratieae, Hippeastreae, Eucharideae, Hymenocallideae, Stenomessaeae, Eustephieae), destas as cinco últimas são americanas.

A partir da análise filogenética baseada em dados moleculares (ITS, nrDNA) realizada por Meerow *et al.* (2000) com representantes das tribos americanas da subfamília Amaryllioideae, estes formaram dois grandes clados: Andino abrangendo as tribos Eucharideae, Hymenocallideae, Stenomessaeae, Eustephieae (Fig. 3) e o “Hippeastroide” que compreendeu a tribo Hippeastreae (Fig. 4). Neste mesmo trabalho (Meerow *et al.* 2000) os autores identificaram que *Griffinia* e *Worsleya* são gêneros irmãos e formaram um clado bem suportado, denominado como tribo Griffineae, inserida na clado “Hippeastroide” (Fig. 4).

Atualmente são reconhecidas 15 tribos para a subfamília, as mesmas 14 tribos descritas por Meerow & Snijman (1998) mais a tribo Griffineae que é endêmica do Brasil e forma o clado “Hippeastroide” juntamente com Hippeastreae (clado extra-andino) (Meerow *et al.* 2000).

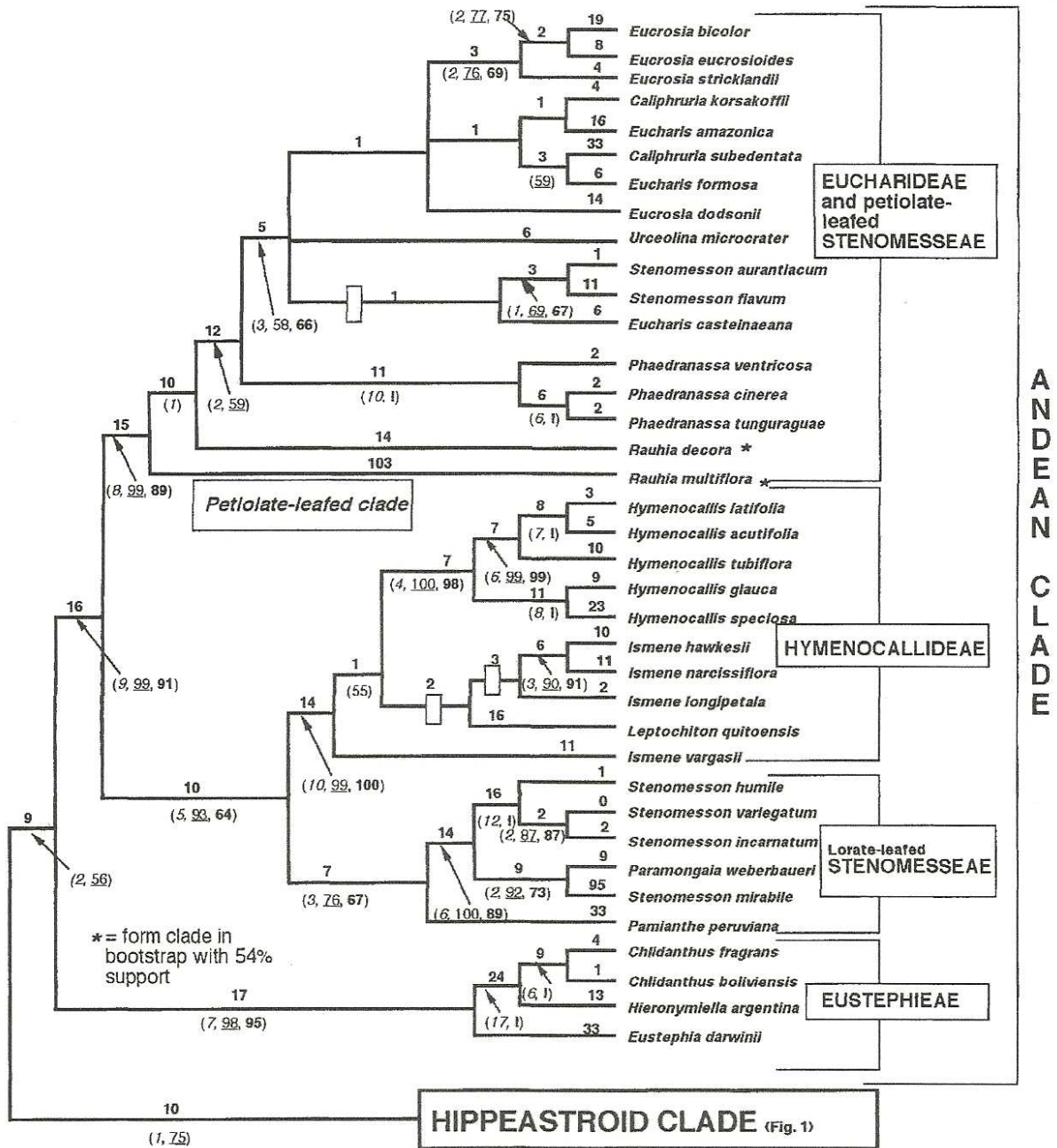


Figura 3: Cladograma demonstrando o posicionamento das tribos americanas incluídas no clado andino (Meerow *et al.* 2000).

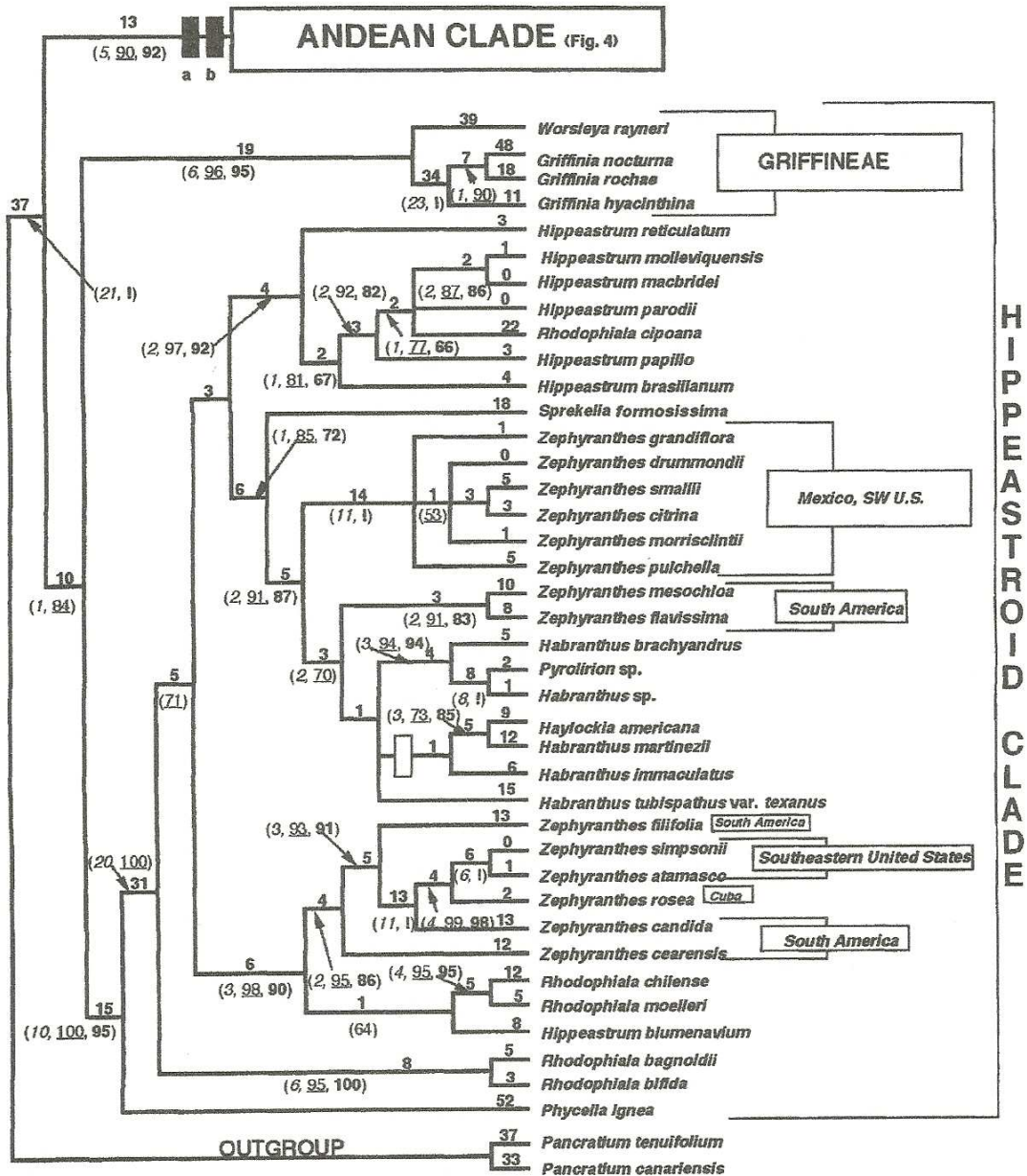


Figura 4: Cladograma demonstrando o posicionamento dos gêneros das tribos Hippeastreae e Griffineae incluídas no clado Hippeastroide (Meerow *et al.* 2000).

2. A tribo Hippeastreae Sweet *sensu* Meerow & Snijman

Hippeastreae é inteiramente americana, com a maioria dos representantes ocorrendo na América do Sul (Fig. 5). A tribo tem como principais características: o escapo fistuloso na maioria dos gêneros; flores infundibuliformes geralmente zigomorfas com corona frequentemente presente; estames livres de diferentes tamanhos e declinados; fruto cápsula loculicida, sementes discóides com fitomelanina carbônica (Meerow & Snijman 1998).

Os gêneros tratados por Meerow & Snijman (1998) como parte de Hippeastreae (Fig. 5) são resolvidos como um clado monofilético bem suportado em todas as análises realizadas por Meerow *et al.* (1999) com exceção de dois gêneros que se encontram fora deste clado: *Worsleya* Traub e *Griffinia* Ker Gawler, que se destacam por serem endêmicos do Brasil e exibirem uma característica rara de pigmentação azul nas flores.

A monofilia da tribo Hippeastreae é indicada pelos trabalhos de Meerow *et al.* (1999, 2000a, 2000b) e Ito *et al.* (1999). A tribo compreende aproximadamente 200 espécies distribuídas em nove gêneros, sendo *Hippeastrum* Herb. o maior em número de espécies descritas (Meerow & Snijman 1998) e pela proposta filogenética de Meerow *et al.* (2000b), baseada na seqüência ITS de nrDNA, também é monofilético.

Em um estudo sistemático da família Amaryllidaceae baseado em dados moleculares (Meerow *et al.* 1999) é apresentado a partir do clado da tribo Hippeastreae, um subclado representando a subtribo Zephyranthinae formada pelos gêneros *Zephyranthes* Herb., *Habranthus* Herb. e *Sprekelia* Heist. este último sem ocorrência no Brasil (Fig. 6), porém, para os autores este subclado é fracamente suportado e as relações entre seus representantes ainda não estão bem resolvidas.

Os representantes da subtribo Zephyranthinae subordinada a Hippeastreae (Müller-Doblies & Müller-Doblies 1996) se mostraram claramente polifiléticos na filogenia molecular realizada por Meerow *et al.* (2000b).

| Tribo Hippeastreae | Gêneros | Nº de Espécies/ Nº spp. no Brasil | Distribuição Geográfica |
|---------------------------|---------------------|--|---|
| | <i>Hippeastrum</i> | 55/30 | Argentina, Bolívia, Brasil, México e Peru |
| | <i>Rhodophiala</i> | 30/1 | Argentina, Bolívia, Brasil, Chile e Uruguai |
| | <i>Zephyranthes</i> | 50/17 | Argentina, Brasil e Estados Unidos |
| | <i>Habranthus</i> | 50/18 | Estados Unidos, Brasil e México |
| | <i>Sprekelia</i> | 2/0 | México |
| | <i>Pylolirion</i> | 5-10/0 | Peru e Bolívia |
| | <i>Placea</i> | 1/0 | Chile |
| | <i>Traubia</i> | 1/0 | Chile |
| | <i>Phycella</i> | 6/0 | Chile, Argentina e Uruguai |

Figura 5: Quadro dos gêneros subordinados à tribo Hippeastreae, com seus respectivos número de espécies, número de espécies no Brasil e distribuição geográfica. (Meerow & Snijman 1998; Dutilh & Oliveira *Amaryllidaceae* in **Lista de Espécies da Flora do Brasil**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB40606>>. Acesso em: 06 mai. 2017)

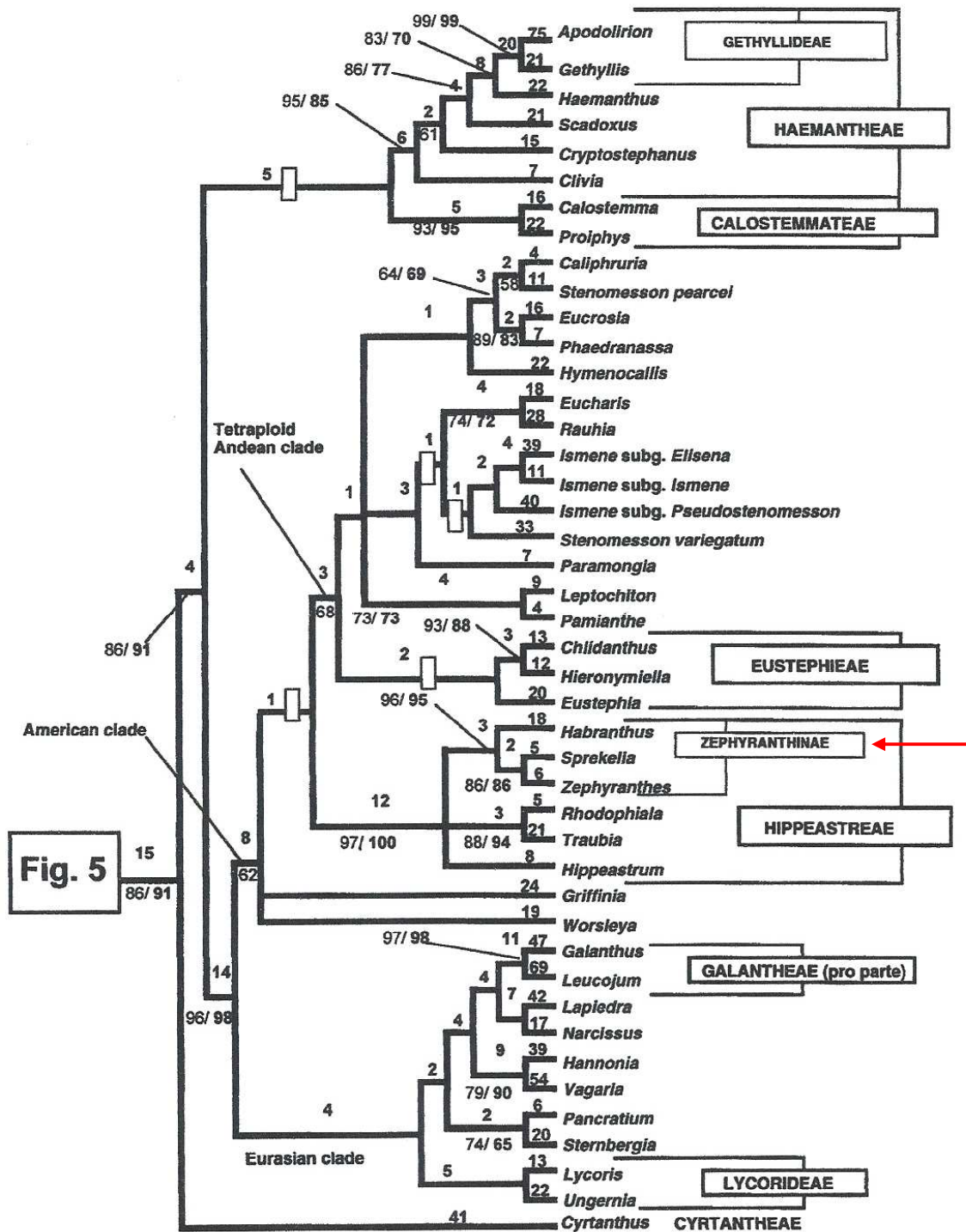


Figura 6. Inferência filogenética de Amaryllidaceae com sequência combinada de *rbcL* e *trnL-F*. Ilustração adaptada do trabalho de Meerow *et al.* (1999). Subtribo Zephyranthinae (seta).

3. A tribo Griffinieae *Ravenna sensu* Meerow

Griffinieae é formada pelos gêneros *Worsleya* e *Griffinia* cujo posicionamento mostra-se variável em muitas análises feitas no estudo de Meerow *et al.* (1999), o que lança dúvidas sobre a inserção de *Worsleya* no gênero *Hippeastrum*, proposta por Müller-Doblies & Müller-Doblies (1996) e enfraquece a ideia de Meerow & Snijman (1998) de subordinar ambos os gêneros na tribo Hippeastreae.

Griffinia e *Worsleya* são endêmicos do Brasil, considerados gêneros irmãos e formam um clado bem suportado, denominado como tribo Griffinieae (Fig. 4). Juntos, esses táxons parecem representar um elemento isolado de diversificação da família na região neotropical brasileira. A análise cladística demonstrou uma possibilidade persistente de que Griffinieae seja a linhagem mais antiga das Américas e possivelmente irmã da tribo Hippeastreae e do clado andino (Meerow *et al.* 2000).

O reconhecimento de grupos monofiléticos é fundamental no paradigma da Sistemática Vegetal atual. Nesse sentido, o monofiletismo da tribo Hippeastreae é fortemente sustentado em filogenias embasadas por dados moleculares (Meerow *et al.* 1999; Meerow *et al.* 2000a). No entanto, tão importante quanto confirmar linhagens monofiléticas é determinar caracteres morfológicos para reconhecê-las. Esse tem sido um dos principais desafios para grupos monofiléticos sustentados por dados moleculares.

4. Estudos Palinológicos em Amaryllidaceae

O estudo polínico realizado com espécies de Amaryllidoideae é limitado, e na maioria das vezes, faz parte de catálogos e de floras.

Em 1842, Hassal comentou sobre a importância da utilização de caracteres como tipo de abertura, estrutura e ornamentação da exina para a classificação de grupos de plantas.

Erdtman (1952) analisou a morfologia polínica de 90 espécies subordinadas a 60 gêneros, estes identificados como representantes de Amaryllidaceae.

A análise da estrutura dos grãos de pólen de espécies tropicais asiáticas de Amaryllidaceae foi realizada por Sharman (1967), Huang (1972) e Rao & Ling (1974).

Walker & Doyle (1975) caracterizaram os grãos de pólen da família Amaryllidaceae quanto ao tamanho, à forma e ao padrão de ornamentação da exina.

Zavada (1983) comparou grãos de pólen de representantes de várias ordens de monocotiledôneas e sugeriu prováveis linhas evolutivas relacionadas aos tipos de aberturas, à estrutura e ornamentação da exina.

Segundo Dahlgren *et al.* (1985), a maioria dos gêneros de Amaryllidaceae apresenta grãos de pólen sulcados, porém a tribo Amaryllideae possui os grãos de pólen bissulcados que são dispersados normalmente em estágio de “duas células” (díades).

A morfologia polínica de três espécies subordinadas a três gêneros da família Amaryllidaceae ocorrentes na Ilha Barro Colorado, Panamá foi examinada por Roubik & Moreno (1991) e mostrou grãos de pólen em mônade, heteropolar, com exina variando de tectada a intectada (clavada, equinada) ou semitectada (reticulada).

Dönmez & Isik (2008) analisaram a morfologia polínica de 19 táxons subordinados a cinco gêneros de Amaryllidaceae nativos da Turquia. Este trabalho

mostrou que, na maioria dos gêneros, os grãos de pólen são monossulcados e semitectado-columelados.

Sobre as espécies sul-americanas da família poucos são os trabalhos investigativos com relação à morfologia polínica. Meerow & Dehgan (1985) analisaram os grãos de pólen de *Hymenocallis quitoensis* Herb. quanto à estrutura da exina e às suas implicações taxonômicas e a análise da estrutura e ornamentação da exina de grãos de pólen em tétrade de *Stenomesson elwesii* foi realizada por Meerow *et al.* (1986).

Alves-Araújo & Santos (2007) caracterizaram os grãos de pólen de dez espécies subordinadas a seis gêneros de Amaryllidaceae ocorrentes no nordeste brasileiro e afirmaram que os táxons estudados apresentaram bons caracteres que podem ser utilizados na delimitação taxonômica, dentre eles são considerados como os mais relevantes a ornamentação da exina e seus arranjos e a espessura da sexina.

Candido *et al.* (2013) analisaram a morfologia polínica de cinco espécies de *Hippeastrum* ocorrentes nas restingas do estado do Rio de Janeiro e concluíram que as espécies puderam ser diferenciadas por características palinológicas tais como: o tamanho do grão de pólen, a forma, a escultura da exina, o comprimento da abertura e o padrão de ornamentação da sexina.

Estudos palinológicos existentes confirmam a diversidade polínica de representantes de Hippeastreae (Alves-Araújo & Santos 2007; Candido *et al.* 2013), e o fato do grão de pólen ser uma estrutura relativamente protegida nas anteras, e menos vulnerável a variações morfológicas por pressões ambientais, faz com que a morfologia polínica surja como uma potencial fonte de informação à taxonomia vegetal (Melhem *et al.* 2003).

Desta maneira, diante da grande lacuna existente no conhecimento palinológico dos representantes brasileiros da família Amaryllidaceae, com ênfase nas tribos Hippeastreae e Grffinieae e considerando seu efetivo potencial para uso em estudos taxonômicos e filogenéticos, os objetivos do presente trabalho são descrever e relacionar a morfologia polínica dos representantes das tribos em questão, analisando se esta condiz com a sistemática atualmente aceita para as tribos, subtribos, gêneros e subgêneros, e desta forma ampliar o potencial dessa estrutura (grão de pólen) como marcador morfológico para sustentar clados e diferenciar táxons relacionados ou circunscrever grupos taxonômicos.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves-Araújo, A., Santos, F. de A. R. dos. 2007. Caracterização palinológica das espécies de Amaryllidaceae sensu stricto ocorrentes no nordeste brasileiro. *Acta Botanica Brasílica* 21(4): 967-976.
- APG II. The Angiosperm Phylogeny Group. 2003. An update of the angiosperm phylogeny group classification for the orders and families of flowering plants: APG II. *Botanical Journal of the Linnean Society* 141: 399-436.
- APG III. The Angiosperm Phylogeny Group. 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.
- APG IV. The Angiosperm Phylogeny Group. 2016. An update of the Angiosperm Phylogeny Group classification for the orders and families of flowering plants: APG IV. *Botanical Journal of the Linnean Society* 181: 1-20.
- Candido, R. S., Fourny, A. C. da S., Gonçalves-Esteves, V., Lopes, R. C. 2013. *Hippeastrum* species in áreas of restinga in the state of the Rio de Janeiro, Brazil: pollen characters. *Acta Botânica Brasílica* 27(4): 661-668.
- Chase, M. W., Reveal J. L., Fay, M.F. 2009. A subfamilial classification for the expanded asparagalean families, Amaryllidaceae, Asparagaceae and Xanthorrhoeaceae. *Botanical Journal of the Linnean Society* 161: 132–136.
- Cronquist, A. 1981. An integrated system of classification of flowering plants. Columbia Univ. Press. New York.
- Dahlgren, R. M. T., Clifford, H. T. & Yeo, P. F. 1985. The families of the monocotyledons. Springer-Verlag, Berlin.

- Dönmez, E. O. & Isik, S. 2008. Pollen morphology of Turkish Amaryllidaceae, Ixioliriaceae and Iridaceae. *Grana* 47(1): 15-38.
- Dutilh, J.H.A.; Oliveira, R.S. 2015. *Amaryllidaceae* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB43>)
- Erdtman, G. 1952. Pollen morphology and plant taxonomy - Angiosperms. Upsala. Almqvist e Wiksell. 539p., 261 figs.
- Fay, M. F., & M. W. Chase. 1996. Resurrection of Themidaceae for the *Brodiaea* alliance, and recircumscription of Alliaceae, Amaryllidaceae and Agapanthoideae. *Taxon* 45: 441–451.
- Fay, M. F., Rudall, P., Sullivan, S., Stobart, K. L., Bruijn, A. Y. De, Reeves G., Qamaruz-Zaman F. 2000. Phylogenetic studies of Asparagales based on four plastid DNA regions. *In* K. L. Wilson and D. A. Morrison [eds.], *Monocots: Systematics and evolution*, 360–371. CSIRO, Collingwood, Australia.
- Graham, S.W., Zgurski, J.M., Mcpherson, M.A., Cherniawsky, D.M., Saarela, J.M., Horne, E.F.C., Smith, S.Y., Wong, W.A., O'brien, H.E., Brion, V.L., Pires, J.C., Olmstead, R.G., Chase, M.W. & Rai, H.S. 2006. Robust inference of monocot deep phylogeny using an expanded multigene plastid data set. *In* J.T. Columbus, E.A. Friar, J.M. Porter, L.M. Prince & M.G. Simpson (eds.) *Monocots. Comparative biology and evolution. Excluding Poales*. Rancho Santa Ana Botanic Garden. California, p. 3-21.
- Hassal, A. H. 1842. Observations on the structure of the pollen granule, considered principally in reference to its eligibility as a means of classification. *Annals and Magazine Natural History* 8: 92-108.
- Huang, T. C. 1972. Pollen flora of Taiwan. National Taiwan University Botany Department Press. Taiwan. 297p.

- Ito, M., Kawamoto, A., Kita, Y., Yukawa, T., Kurita, S. 1999. Phylogenetic relationships of Amaryllidaceae based on *matK* sequence data. *Journal Plant Research* 112: 207-216.
- Judd, W.S., Campbell, C.S., Kellogg, E.A., Stevens, P.F., Donoghue, M.J. 2009. *Sistemática Vegetal: Um Enfoque Filogenético*. 3. ed. Porto Alegre: Artmed, 612p.
- Magallón, S. & Castillo, A. 2009. Angiosperm Diversification Through Time. *American Journal of Botany* 96(1): 349–365
- Meerow, A.W. & Dehgan, B. 1985. The auriculate pollen grain of *Hymenocallis quitoensis* Herb. (Amaryllidaceae) and its systematic implications. *American Journal of Botany* 72(4): 540-547.
- Meerow, A. W.; Dehgan, N. B. & Dehgan, B. 1986. Pollen tetrads in *Stenomesson elwesii* (Amaryllidaceae). *American Journal of Botany* 73(11):1642-1644.
- Meerow, A.W. 1995. Towards a phylogeny of the Amaryllidaceae. *In* P. J. Rudall, P. J. Cribb, D. F. Cutler, and C. J. Humphries [eds.], *Monocotyledons: systematics and evolution*, 169–179. Royal Botanic Gardens, Kew.
- Meerow, A. W. & Snijman, D. A. 1998. Amaryllidaceae. *In* K. Kubitzki (ed.). *The families and genera of vascular plants. Monocotyledons – Lilianae (except Orchidaceae)*. Hamburg, Germany. 83-110p.
- Meerow, A. W., Fay, M.F., Guy, C.L., Li, Q-B., Zaman, F.Q., Chase, M.W. 1999. Systematics of Amaryllidaceae based on cladistics analysis of plastid *rbcL* and *trnL-F* sequence data. *American Journal of Botany* 86: 1325-1345.

- Meerow, A. W., Fay, M. F., Chase, M. W., Guy, C. L., Li, Q.-B., Snijman, D. A., Yan, S.-L. 2000a. Phylogeny of Amaryllidaceae: Molecules and Morphology, in: Wilson, L.; Morrison, D. A. [eds.]. *Monocots: Systematics and Evolution*. Pp. 372-386. CSIRO. Publishing. Australia.
- Meerow, A. W., Guy, C. L., Li, Q.-B., Yang, S. L. 2000b. Phylogeny of the American Amaryllidaceae based on nrDNA ITS sequences. *Systematic Botany* 25(4): 708-726.
- Meerow, A. W.; Reveal, J. L.; Snijman, D. A.; Dutilh, J. H. 2007. Superconservation proposal to conserve Amaryllidaceae (1805) over Alliaceae (1797). *Taxon* 56: 1299-1300.
- Müller-Doblies, D. & Müller-Doblies, U. 1996. Tribes and subtribes and some species combinations in Amaryllidaceae J. St.-Hil. emend. R. Dahlgren et al. 1985. *Feddes Repertorium* 107 (5-6): S.c. 1-9.
- Rao, A. N. & Ling, L. F. 1974. Pollen morphology of certain tropical plants. *Reinwardtia* 9(1): 153-176.
- Roubik, D. W. & J. E. Moreno. 1991. Pollen and spores of Barro Colorado Island. St. Louis, Missouri Botanical Garden.
- Sharman, M. 1967. Pollen morphology of Indian monocotyledons. *Journal of Palynology*, Special volume: 1-98.
- Stevens, P.F. 2001 onwards. Site Angiosperm Phylogeny. Versão 12, Julho 2012 [e mais ou menos continuamente atualizado]. Acessado 20 junho de 2017. <http://www.mobot.org/MOBOT/research/APweb/>.
- Traub, H. P. 1963. The genera of Amaryllidaceae. 8pp. Ed. 1. The American Plant. Life Society. Jolla, California.

Walker, J. W. & Doyle, J. A. 1975. The bases of angiosperm phylogeny: Palynology. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 62: 664-723.

Zavada, M.S. 1983. Comparative morphology of monocot pollen and evolutionary trends of apertures and wall structures. *Botanical Review* 49(4): 331-379.

Capítulo 1:

**Palinologia de representantes do gênero *Hippeastrum* Herb.
(Amaryllidoideae-Amaryllidaceae) aplicada à sistemática**

RESUMO

No presente trabalho foram analisados os grãos de pólen de 21 táxons do gênero *Hippeastrum* Herb. que é americano, tem distribuição do México até a Argentina e no Brasil está representado por cerca de 30 espécies. O objetivo foi avaliar se a morfologia polínica dos representantes deste gênero possuem divergências morfológicas que forneçam subsídios para a melhor delimitação e detalhamento dos subgêneros e espécies subordinadas. Os grãos de pólen após acetólise láctica a 40% foram analisados, medidos, descritos e fotomicrografados, e grãos de pólen não acetolisados foram analisados por meio de microscopia eletrônica de varredura. As espécies apresentaram grãos de pólen grandes a muito grandes, em mônades, com contorno elíptico em vista polar, monossulcados, sexina reticulada ou retipilada. As espécies que exibiram sexina retipilada puderam ser separadas pelas características e organização dos pilos e as reticuladas foram diferenciadas pelas características dos muros, lumens e columelas, desta forma foi possível a elaboração de uma chave palinológica. As análises qualitativa e quantitativa utilizadas evidenciaram que a morfologia polínica apresentou diferenças morfológicas entre as espécies do gênero, no entanto, os caracteres polínicos entre os subgêneros de *Hippeastrum* são, em geral, bastante uniforme, devido ao compartilhamento de muitos atributos. Contudo, os atributos polínicos foram informativos à circunscrição e detalhamento das espécies.

Palavras-chave: *Hippeastrum*, Pólen, Taxonomia

ABSTRACT

In the present work the pollen grains of 21 taxa of the genus *Hippeastrum* Herb were analyzed. which is American, has distribution from Mexico to Argentina and in Brazil is represented by about 30 species. The objective was to evaluate if the pollen morphology of the representatives of this genus have morphological divergences that provide subsidies for the better delimitation and detailing of the subgenus and subordinate species. Pollen grains after 40% lactic acetolysis were analyzed, measured, described and photomicrographed, and non-acetolysed pollen grains were analyzed by scanning electron microscopy. The species presented pollen grains large to very large, in monads, with elliptical contour in polar view, monosulcado, sexina reticulada or retipilada. The species that exhibited retipylated sexina could be separated by the characteristics and organization of the piles and the reticulated ones were differentiated by the characteristics of the walls, lumens and columelas, in this way it was possible to elaborate a palynological key. The qualitative and quantitative analyzes used showed that the pollen morphology presented morphological differences among the species of the genus, however, the pollen characters among the subgenres of *Hippeastrum* are, in general, very uniform, due to the sharing of many attributes. However, the pollen attributes were informative to the circumscription and detail of the species.

Keywords: *Hippeastrum*, Pollen, Taxonomy

1. INTRODUÇÃO

Hippeastrum Herb. compreende de 55 a 75 espécies. É americano e tem distribuição do México até a Argentina (Meerow & Snijman 1998). No Brasil está representado por cerca de 30 espécies ocorrentes em todos os tipos de vegetação, de florestas a campos, e nos mais diferentes substratos (Dutilh & Oliveira 2015).

Pela última inferência filogenética das tribos americanas de Amaryllidaceae com base em sequência de ITS-nrDNA (Meerow *et al.* 2000), *Hippeastrum* é dos poucos gêneros da tribo Hippeastreae que se mostrou monofilético (Fig. A).

Hippeastrum foi descrito inicialmente com 15 espécies, que segundo Herbert (1821) apresentava uma grande variação morfológica. Desde então, já foram descritas mais de 130 espécies para o gênero. Segundo Worsley (1896), há certa dificuldade em dividir o gênero em subgêneros porque as diferenças específicas não são suficientemente seguras. O autor ainda ressaltou que entre as espécies raramente há variações suficientes nas flores para constituir, sem outra confirmação, divergência específica.

A morfologia externa de *Hippeastrum* é pouco estudada, sendo abordada em alguns trabalhos florísticos, citotaxonômicos e sistemáticos realizados no Brasil (Dutilh 1987, 1996, 2005; Amaral 2007; Alves-Araújo *et al.* 2009; Candido *et al.* 2014) e nas américas (Boterenbrood 1932-1947; López-Ferrari & Espejo-Serna 2002).

Um problema recorrente no grupo é o uso indevido do nome genérico *Amaryllis* L. para as espécies americanas. Estabelecido em 1757 por Linnaeus, *Amaryllis* é um gênero africano e monotípico (*Amaryllis belladonna* L.), subordinado a tribo Amaryllideae, caracterizado por apresentar flores zigomorfas sem tubo, estames muito

curtos, conados na base, óvulos ca. 8 por lóculo, sementes comprimidas a globosas de cor branca a rosa (Meerow & Snijman 1998).

Em 1821, Herbert considerando *Amaryllis* como gênero africano, estabelece o gênero *Hippeastrum* sob o tipo *H. puniceum* (Lam.) Kuntze (= *H. equestre* Herb.) para as espécies americanas. Porém alguns autores não consideraram *Amaryllis* como gênero africano (Traub & Moldenke 1949; Traub 1958; Tjarden 1981). Portanto, para por um fim nesta questão, o Bureal Internacional de Taxonomia Vegetal, publicou em 1954 um parecer oficial considerando *Amaryllis belladonna* L. (tipo) como espécie africana, originária da região do Cabo e determinando *Hippeastrum* como epíteto genérico para as espécies americanas (Dandy & Fosberg 1954).

Apesar de *Hippeastrum* ser o nome oficial para as espécies americanas, ainda há uma falta de consenso sobre o epíteto correto do gênero entre os especialistas do grupo (Traub 1983, Dutilh 1987). Em 1987 a posição oficial foi novamente reiterada pelo Comitê de Espermatófitas sob o artigo 15 do Código Internacional de Nomenclatura Botânica. (Brummitt 1987, Greuter *et al.* 1988). Meerow *et al.* (1997) fizeram a transferência de 42 espécies americanas do gênero *Amaryllis* para *Hippeastrum* e suas respectivas combinações novas.

Muitas espécies americanas, entretanto, que foram descritas como *Amaryllis*, até o momento, não tiveram a nova combinação feita para *Hippeastrum*. Algumas publicações recentes ainda adotam a nomenclatura indevida, como é o caso do trabalho realizado na Marambaia (Menezes *et al.* 2005) onde são citadas duas espécies de *Hippeastrum* com o nome *Amaryllis*.

Estudos taxonômicos apontam uma tendência a considerar *Hippeastrum* em subgêneros desde Baker (1888) que o dividiu em sete subgêneros. Outros autores também reconheceram o gênero *Hippeastrum* segmentado em subgêneros: Bentham (1883) e Pax & Hoffman (1930) (4 subgêneros); Traub & Uphof (1938) (8 subgêneros); Traub & Uphof (1940) (9 subgêneros); Traub & Moldenke (1949) (8 subgêneros); Traub (1958), (1980) e (1983) (5 generos).

Na última revisão taxonômica feita em 1958, Traub equivocadamente utilizou o epíteto genérico *Amaryllis* para se referir às espécies americanas, aceitando cinco subgêneros: *Macropodastrum* Baker, *Lais* (Salisb.) Baker, *Amaryllis* L., *Omphalissa* (Salisb.) Baker e *Sealyana* Traub. Meerow & Snijman (1998) apontam que alguns subgêneros e seções foram propostos para *Hippeastrum*, mas não pareceram ser de fato bem fundamentados.

Atualmente são reconhecidos cinco subgêneros que apresentam as seguintes características diagnósticas: ***Macropodastrum*** Baker flores brancas e de tubo do hipanto muito longo (> 7,0 cm de comprimento), corona ausente ou incospícua, estigma trifido ou capitado; ***Lais*** (Salisb.) Baker tubo do hipanto curto, corona ausente ou de fímbrias, estigma trifido; ***Aschamia*** (Salisb.) Baker estigma capitado, corona quando presente formada de fímbrias não unidas (não fechando a fauce do tubo); ***Omphalissa*** (Salisb.) Baker corona fechando o tubo do hipanto (fímbrias unidas ou em placa) e estigma trifido (Traub 1958); e o subgênero ***Caephaleaeon*** Traub corona fechando o tubo do hipanto e estigma trilobado (Traub 1983).

Algumas espécies de *Hippeastrum* descobertas e descritas posteriormente ao trabalho de Traub (1983) não foram classificadas em subgêneros até o presente momento (Fig. B.).

Um estudo recente investigou as relações entre as espécies brasileiras a fim de verificar o monofiletismo de *Hippeastrum* e de seus subgêneros com base em dados de sequencia de DNA e concluiu que não há correlação entre os subgêneros tradicionalmente propostos e os padrões encontrados com dados moleculares, considerando assim, os subgêneros polifiléticos (Oliveira 2012).

Em relação ao estudo palinológico de espécies de *Hippeastrum*, este é bastante limitado e poucos são os trabalhos encontrados na literatura referentes às espécies brasileiras.

A caracterização palinológica de duas espécies do gênero *Hippeastrum* ocorrentes no nordeste do Brasil, foi realizada por Alves-Araújo & Santos (2007), neste estudo, os autores afirmam que os táxons estudados apresentaram bons caracteres que podem ser utilizados na delimitação taxonômica dos mesmos.

Cinco espécies de *Hippeastrum* encontradas nas restingas do estado do Rio de Janeiro puderam ser distinguidas de acordo com as características palinológicas, com destaque para a ornamentação da exina (Candido *et al.* 2013).

Embora os estudos sejam escassos, no que se refere à palinologia de *Hippeastrum*, todos eles enfatizam a importância dos caracteres polínicos para a taxonomia do grupo.

Portanto, o presente trabalho tem como objetivo avaliar se a morfologia polínica dos representantes do gênero *Hippeastrum* possuem divergências morfológicas que forneçam subsídios para a melhor delimitação e detalhamento dos subgêneros e espécies em questão.

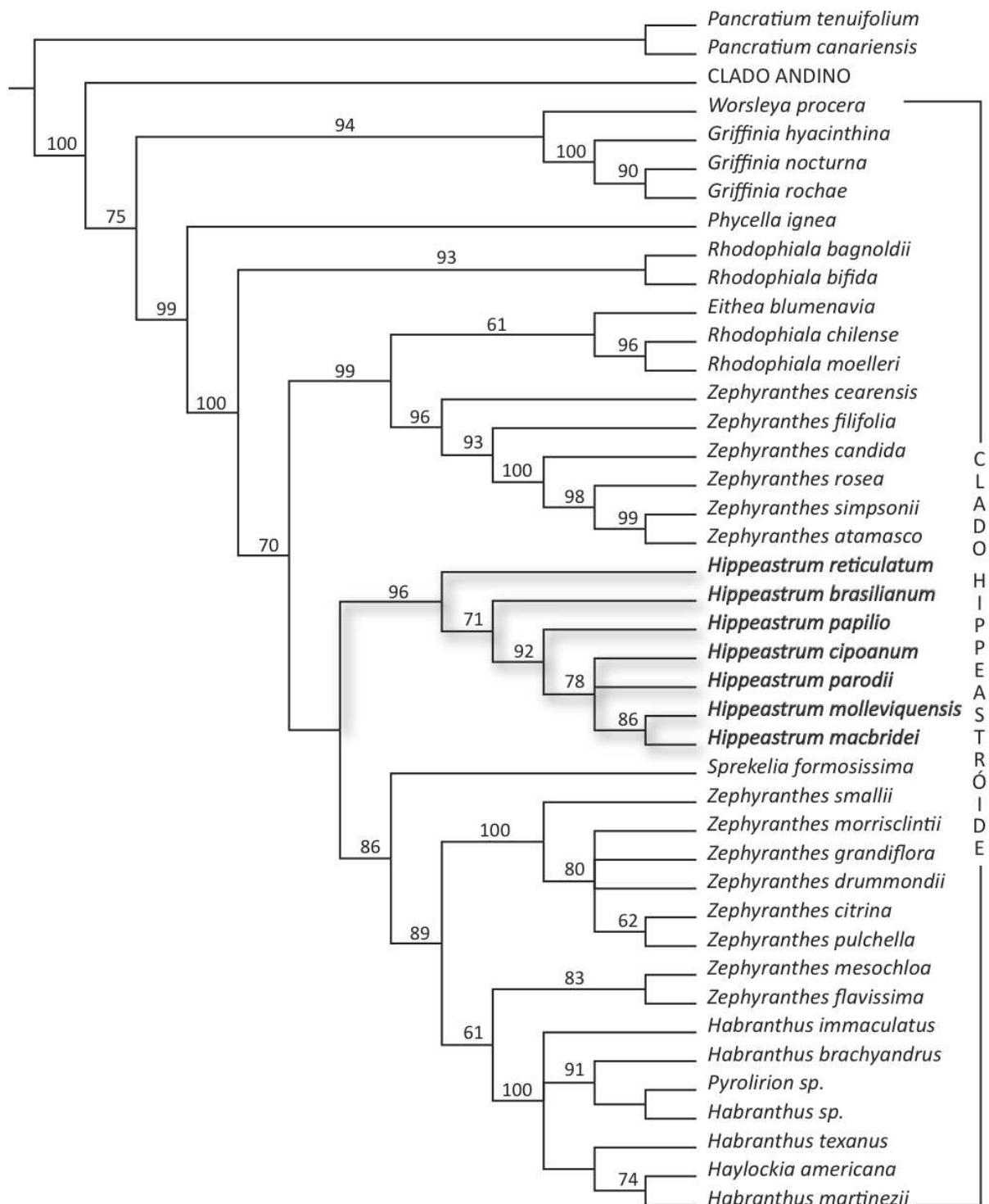


Figura A. Inferência filogenética das tribos americanas de Amaryllidaceae com sequência de ITS rDNA. Ilustração adaptada por Oliveira (2012) a partir do trabalho de Meerow *et al.* (2000).

| Gênero | Subgêneros | Espécies | |
|--------------------|-----------------------|---------------------------|---|
| <i>Hippeastrum</i> | <i>Aschamia</i> | <i>H. puniceum</i> | |
| | | <i>H. reginae</i> | |
| | | <i>H. reticulatum</i> | |
| | | <i>H. stylosum</i> | |
| | <i>Caephaleaeon</i> | <i>H. glaucescens</i> | |
| | | <i>H. morelianum</i> | |
| | <i>Lais</i> | <i>H. blossfeldiae</i> | |
| | | <i>H. breviflorum</i> | |
| | | <i>H. striatum</i> | |
| | | <i>H. vittatum</i> | |
| | <i>Macropodastrum</i> | <i>H. brasilianum</i> | |
| | | <i>H. elegans</i> | |
| | | <i>H. goianum</i> | |
| | <i>Omphalissa</i> | <i>H. angustifolium</i> | |
| | | <i>H. aulicum</i> | |
| | | <i>H. calyptratum</i> | |
| | | <i>H. papilio</i> | |
| | | | * <i>H. aulicum</i> var. <i>glaucophyllum</i> |
| | | | * <i>H. canastrense</i> |
| | | | * <i>H. cipoanum</i> |
| | | * <i>H. santacatarina</i> | |

*Espécies descritas após 1983, portanto não classificadas em subgêneros.

Figura B. Subgêneros de *Hippeastrum* Herb. (Traub 1983) e classificação das espécies analisadas no presente estudo.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. O grupo de estudo

Estudos palinológicos foram realizados em 21 táxons do gênero *Hippeastrum* a fim de analisar comparativamente os seus atributos polínicos. Procurou-se analisar o maior número possível de espécies do gênero para melhor representá-lo. Foi fator limitante a disponibilidade de material nos herbários assim como as condições ideais para coleta das flores/anteras.

2.2. Levantamento das coleções nos Herbários

Realizou-se um levantamento prévio da distribuição da coleção de todos os gêneros através do *Species Link* (sblink.cria.org.br/), com o objetivo de definir os principais herbários a serem visitados ou terem sua coleção solicitada para empréstimo. A partir dessa relação foram priorizados os herbários com maior representatividade e variedade de espécies do gênero *Hippeastrum*.

2.3. 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 GUA, HB, HUEFS, IAC, ICN, PACA, R, RB, RFA, SPSF, UB, UEC e VIES as siglas estão de acordo com o Index Herbariorum (Thiers continuamente atualizado). Priorizou-se material identificado pelos taxonomistas da família, a fim de, evitar equívocos durante as análises palinológicas. 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 morfométrica dos espécimes. O material

examinado é discriminado em ordem alfabética para estado e município e em seguida são adicionadas informações de localidade, data de coleta, nome e número do coletor e sigla do herbário entre parênteses.

2.4. Microscopia de luz

Para a realização do estudo em microscopia de luz, o material foi processado segundo o método da acetólise láctica 40%, estabelecida por Raynal & Raynal (1971), pelo fato de os grãos de pólen se mostrar pouco resistentes à acetólise tradicional.

Para a montagem das lâminas foi utilizada gelatina glicerinada preparada segundo Kisser (1935 *apud* Erdtman 1952) e cortada em pequenos cubos. Foram colocadas esferas de massa de modelar (ca. 1 mm de diâm.) entre a lâmina e a lamínula para evitar o amassamento dos grãos de pólen (Reitsma 1969). As fotomicrografias dos grãos de pólen em microscopia de luz foram realizadas com auxílio de câmera digital Canon Power Shot G6 acoplada ao microscópio Zeiss Axiostar Plus, na objetiva 100X.

2.3. 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 estiletes 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, analisado em aparelho JEOL JSM 6390 LV do Laboratório de Microscopia Eletrônica de Invertebrados do Museu Nacional/UFRJ e em aparelho Zeiss DMS 960, localizado no Laboratório Ultraestrutura Celular Hertha Meyer do Instituto de Biofísica/UFRJ.

As eletromicrografias de cada espécie foram organizadas em pranchas elaboradas no programa CorelDraw 17. A chave polínica foi elaborada com base nas características observadas em microscopia de luz e eletrônica de varredura.

2.6. Medidas

Do material padrão foram mensurados grãos do pólen em vistas polar e equatorial, tomados aleatoriamente, em pelo menos três lâminas a fim de homogeneizar a amostra (Salgado-Labouriau 1973). Foram feitas, ao acaso, 25 medidas em microscópio, dos diâmetros maior (DM) e menor (Dm) quando em vista polar, 10 medidas dos diâmetros polar (DP) e equatorial (DE), quando em vista equatorial; das camadas da exina (sexina e nexina), da abertura (comprimento e largura), do diâmetro do lúmen do retículo (ornamentação), quando for possível de ser medido. Devido à queda do grão de pólen na lâmina, preferencialmente, em vista polar, tornou-se difícil a obtenção de grãos de pólen em vista equatorial, razão pela qual procurou-se obter apenas 10 medidas desta vista. De cada espécime foi montado um mínimo de três lâminas permanentes com os grãos de pólen acetolisados de forma a uniformizar 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 (Melhem *et al.* 2003). 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.

2.7. Análise Estatística

Foi realizado um tratamento estatístico específico com os resultados das amostras com 25 medidas, onde parâmetros foram estabelecidos como média aritmética

(\bar{x}), desvio padrão da média (s_x), intervalo de confiança a 95% (IC 95%) e faixa de variação. Os resultados do tratamento estatístico foram apresentados em forma de tabelas.

2.8. Análise multivariada dos dados

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 8 variáveis, para melhor organização dos dados nos gráficos elaborados, abreviou-se o nome das espécies com as primeiras três letras dos epítetos e os atributos polínicos (variáveis) foram expressos pelas iniciais das palavras que os definem.

As variáveis incluídas nas análises multivariadas foram: DM (Diâmetro Maior), Dm (Diâmetro menor), DP (Diâmetro Polar), DE (Diâmetro Equatorial), LS (Largura do Sulco), CS (Comprimento do Sulco), DL (Diâmetro do Lúmen) e LM (Largura do Muro).

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, coordenadas 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.

Foi realizada a análise de agrupamento (Cluster-AHC) com o objetivo de classificar as espécies 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 dendograma usando a medida de distância euclidiana (Caccavari *et al.* 2008), com método de linkage Ward's.

2.9. Terminologia

A terminologia adotada para a descrição dos grãos de pólen foi a de Punt *et al.* (2007) levando-se em consideração o tamanho, a forma e o padrão de ornamentação da sexina.

Para a classificação dos grãos quanto ao tamanho foram utilizados os seguintes parâmetros: muito pequeno (< 10 μm); pequeno (10-25 μm); médio (25-50 μm); grande (50-100 μm); muito grande (100-200 μm) e gigante (>200 μm) (Erdtman 1952).

3. RESULTADOS

Foram analisados 21 taxons sendo uma variedade do gênero *Hippeastrum* (Tab. 1). A descrição palinológica está organizada de acordo com os seguintes caracteres polínicos: tamanho, polaridade, unidade de dispersão, forma, tipo e número de abertura e padrão de ornamentação da sexina (Barth & Melhem 1988).

3.1. Descrição Polínica

3.1.1. Tamanho – A maioria das espécies analisada de *Hippeastrum* apresenta grãos de pólen grandes. Pólen muito grandes são registrados apenas em *H. aulicum* que em vista polar tem o diâmetro maior (DM) = 104,7 μm . Nos grãos de pólen grandes, as menores dimensões do diâmetro maior (DM), em vista polar, foram registradas em *H. santacatarina* ($x= 55,9 \mu\text{m}$) e as maiores em *H. calyptratum* ($x= 91,5 \mu\text{m}$) (Tab. 1).

As medidas dos grãos de pólen dos espécimes de comparação (Tabela 4) estão dentro do intervalo de confiança dos respectivos materiais padrão ou de suas faixas de variação.

3.1.2. Unidade de dispersão, polaridade, e contorno – Todas as espécies analisadas apresentam grãos de pólen em mônades, heteropolares, contorno elíptico em vista polar, em vista equatorial os grãos de pólen podem ter a face proximal plana (Fig. 1B, 3B, 4Q), côncava (Fig. 1I, 3I) ou convexa (Fig. 2N, 4J, 5L, 6A, L) e a distal é sempre convexa (Fig. 1I, Q, 2J).

3.1.3. Abertura – Monosulcados em todas as espécies, sulcos longos, com extremidades agudas ou arredondadas (Fig. 1E, L, 2C, E, Q, 3E, M, 4F, N, 5C, I, P, 6D,

O, 7C, K, 8B). Os maiores valores de comprimento foram encontrados em *H. aulicum* (ca. 101,2 μm) e os menores em *H. reticulatum* (ca. 41,0 μm). A membrana apertural foi de difícil visualização na maioria das espécies e psilada em *H. aulicum* var. *glaucophyllum* (Fig. 2E), *H. blossfeldiae* (Fig. 2K), *H. brasilianum* (Fig. 2Q), *H. cipoanum* (Fig. 4F), *H. stylosum* (Fig. 7Q, 8B) e *H. vittatum* (Fig. 8I).

3.1.4. Estratificação e padrão de ornamentação da exina – Na maioria das espécies a sexina se apresentou tão espessa quanto à nexina e mais espessa que a nexina em *H. puniceum*, *H. reticulatum* e *H. striatum* com destaque para *H. reticulatum* onde a sexina foi mais espessa (1,6x1,0 μm) (Tab. 3).

O padrão de ornamentação da exina variou de intectada retipilada a semitectada reticulada.

a) Sexina retipilada foi registrada em *H. elegans*, *H. goianum*, *H. puniceum* e *H. reginae*. Os pilos possuem superfície lisa e diminuem gradativamente de diâmetro, assim como os “lumens” tornando-se mais densamente agrupados em direção às extremidades e próximo da abertura (Fig. 4M, N, 5I, J, 6I, J, O, P). Em *H. elegans* os pilos se unem pela parte superior (cabeça), agrupados esparsamente, formando pequenos “cordões” que em algumas regiões fecham malhas lembrando um retículo (Fig. 4M, N, O), em *H. goianum* os pilos se unem na parte superior (cabeça), de forma organizada lembrando as malhas de um retículo, o “lúmen” não foi mensurado devido ao agrupamento denso dos pilos (Fig. 5I, J); em *H. puniceum* os pilos são arredondados e de diferentes diâmetros (Fig. 6I, J), organizados em fileira dupla e os “lumens” apresentam grânulos esparsos; em *H. reginae* observam-se “pontes” de sexina unindo os

pilos pela base (Fig. 6Q) formando cordões organizados na forma de retículos com lumens bem definidos.

b) *Sexina reticulada*, heterobrocada foi encontrada na maioria das espécies. A superfície reticulada, com lumens de diâmetros maiores, fica restrita a uma faixa mediana bem demarcada no grão de pólen, as extremidades possuem ornamentação microrreticulada em *H. aulicum*, *H. aulicum* var. *glaucophylum*, *H. calyptratum*, *H. papilo*, *H. stylosum* (Fig. 1N, 2C, D, 3L, M, 6E, 7Q, 8A) ou os lumens da superfície reticulada diminuem gradativamente de diâmetro em direção às extremidades e próximo da abertura nas demais espécies (Fig. 1F, 2Q, 3E, F, Q, 4F, G, 5C, O, P, 7C, F, G, K, 8H, I); **os muros** são estreitos (0,6 -1,0 μm) em todos os táxons, apresentam perfurações esparsas e são retos, na maioria das espécies ou sinuosos em *H. blossfeldiae*, *H. breviflorum* e em *H. vittatum*, columelas não aparentes, ou visíveis em *H. aulicum*, *H. aulicum* var. *glaucophylum*, *H. calyptratum*, *H. glaucescens*, *H. morelianum*, *H. papilo*, *H. striatum*, *H. stylosum*, os muros apresentam interrupções esparsas chegando a formar lumens com diâmetros maiores em *H. angustifolium* (Fig. 1G) e *H. cipoanum* Fig. 4G, H), lumens menores ao redor de outros maiores foi registrado nas espécies *H. aulicum*, *H. blossfeldiae*, *H. brasilianum*, *H. breviflorum*, *H. calyptratum*, *H. morelianum*, *H. papilo*, *H. reticulatum*, *H. santacatariana*, *H. striatum*, *H. stylosum* (Fig. 1O, 2L, R, 3G, N, 5Q, 6F, 7D, H, L, 8C). Os lumens podem ou não ter ornamentação (Fig. 2L, R, 4A, H), quando presente, são grânulos conspícuos densamente organizados em *H. angustifolium* (Fig. 1g), *H. glaucescens* (Fig. 5D) e *H. morelianum* (Fig. 5Q) ou inconspícuos esparsos na maioria das espécies.

3.2. Chave Polínica para identificação das espécies do Gênero

Hippeastrum

1. Sexina retipilada

2. Lumens bem definidos, pilos unidos pela base por “pontes” de exina.....*H. regineae*

2. Lumens não definidos, pilos não unidos pela base

3. Pilos organizados em fileira dupla.....*H. puniceum*

3. Pilos não organizados em fileira dupla

4. Pilos agrupados esparsamente formando pequenos “cordões”.....*H. elegans*

4. Pilos agrupados densamente sem formar pequenos “cordões”.....*H. goianum*

1. Sexina reticulada heterobrocada

5. Muros com interrupções esparsas

6. Lumens com grânulos conspícuos, densamente organizados.....*H. angustifolium*

6. Lumens com grânulos inconspícuos esparsos.....*H. cipoanum*

5. Muros sem interrupções

7. Retículo, com lumens de diâmetro maiores, restrito à porção mediana bem demarcada do grão de pólen com extremidades microrreticuladas

8. Ausência de lumens menores ao redor de outros maiores.....*H. aulicum* var. *glaucophyllum*

8. Presença de lumens menores ao redor de outros maiores

9. Lumens maiores ca. 6,0 μm *H. calyptratum*

9. Lumens maiores < 5,0 μm

10. Grãos de pólen muito grandes.....*H. aulicum*

10. Grãos de pólen grandes.....*H. papilio*, *H. stylosum*

7. Retículo, com lumens que diminuem gradativamente de diâmetro em direção às extremidades

11. Muros sinuosos

12. Presença de lumens menores ao redor de outros maiores.....*H. blossfeldiae*, *H. breviflorum*

12. Ausência de lumens menores ao redor de outros maiores.....*H. vittatum*

11. Muros retos

13. Columelas visíveis.....*H. glaucescens*, *H. morelianum*, *H. striatum*

13. Columelas não visíveis.....*H. brasilianum*, *H. canastrense*, *H. reticulatum*, *H. santacatariana*

3.3. Análises Multivariadas

3.3.1. Análise de agrupamento hierárquico (HCA)

As relações entre as espécies de *Hippeastrum* produziu um dendrograma com 14,71% de encadeamento de explicação dos dados. Ao levar em consideração o percentual de informações (variáveis) e a quantidade final de grupos formados, observou-se a formação de três grupos, quando analisado 50% das informações remanescentes. O grupo 1 foi formado pelas espécies *H. angustifolium* (*H.* subg. *Omphalissa*), *H. elegans* (*H.* subg. *Macropodastrum*), *H. reginae*, *H. stylosum*, *H. puniceum*, *H. reticulatum* (*H.* subg. *Aschamia*) *H. blossfeldiae*, *H. breviflorum*, *H. striatum* (*H.* subg. *Lais*), *H. canastrensis* e *H. santacatarina*. No grupo 2 encontraram-se as espécies *H. aulicum* var. *glaucophyllum*, *H. glauscescens*, *H. brasilianum*, *H. papilio*, *H. cipoanum*, *H. morelianum*, *H. vittatum* e *H. goiamum* distribuídas pelos subgêneros *Caephaleaeon*, *Macropodastrum*, *Omphalissa* e *Lais*. As espécies *H. aulicum* e *H. calyptratum* subordinadas ao subgênero *Omphalissa* formaram o grupo 3. Ao ampliar a quantidade de variáveis analisadas (75% de informações remanescentes) o grupo 1 subdividiu-se em outros três grupos 1' (*H. angustifolium*, *H. elegans*, *H. reginae*, *H. blossfeldiae*, *H. stylosum*, *H. breviflorum*, *H. puniceum*), 2' (*H. canastrensis*, *H. santacatarina* e *H. reticulatum*) e 3' (*H. striatum*), o grupo 2 compreende os grupos 4' formado por *H. aulicum* var. *glaucophyllum*, *H. glauscescens*, *H. brasilianum*, *H. papilio*, *H. cipoanum*, *H. morelianum*, *H. vittatum* e 5' constituído apenas por *H. goiamum* que se separa das demais espécies. O grupo 3 permaneceu inalterado (Fig.13).

3.3.2. Análise de componente principal (PCA)

O resultado do PCA explicou 75,99% do total da variância. Os dois primeiros eixos principais foram significativos, com 63,06% e 12,93% de variância respectivamente. O

comprimento do sulco (CS), o diâmetro maior (DM), diâmetro equatorial (DE), foram as variáveis mais significativas do primeiro componente principal. No segundo eixo as variáveis que apresentaram maiores valores foram: diâmetro do lúmen (DL), largura do muro (LM) e diâmetro polar (DP) (Tab. 6).

O eixo 1 apresenta espécies bastante dispersas entre os polos positivos e negativos, o mesmo resultado não foi observado ao analisar o eixo 2 onde as espécies estão menos dispersas no polo positivo, com exceção da espécie *H. goianum* que se destacou das demais no extremo polo negativo deste eixo por apresentar o menor valor de DL (diâmetro do lúmen).

A disposição das espécies facilita a formação de grupos, isso se deve ao fato de tais espécies apresentarem poucas características que as diferencie entre si (Fig.14).

É possível observar a separação das espécies, inicialmente em 3 grupos. Um grupo deslocado para o polo negativo do eixo 1 formado pelas espécies *H. angustifolium*, *H. canastrense*, *H. reginae*, *H. reticulatum*, *H. santacatarina* e *H. striatum*, que apresentaram-se menos dispersas e compartilharam os menores valores de CS (comprimento do sulco).

O outro grupo localizado à esquerda do eixo 2 e bem próximo a ele foi formado por *H. elegans*, *H. blossfeldiae*, *H. breviflorum*, *H. morelianum*, *H. stylosum*, *H. vittatum*, estas espécies encontraram-se próximas pois mostraram valores de DE (diâmetro equatorial) e DM (diâmetro maior) semelhantes.

O terceiro grupo encontra-se à direita do eixo 2 e também próximo a ele, neste grupo as espécies *H. aulicum* var. *glaucophyllum*, *H. brasilianum*, *H. cipoanum*, *H. glaucescens*, *H. papilio* e *H. puniceum* estão mais dispersas entre si, e distanciaram-se das demais pelos valores de DP (diâmetro polar).

As espécies *H. aulicum* e *H. calytratum* exibem-se polarizadas em relação às demais por apresentar os maiores valores de DM, Dm, DP, DE e CS entre todas as espécies analisadas (Fig.14).

4. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

O conjunto dos resultados obtidos possibilitou a construção de uma chave polínica, inicialmente dividida em dois grandes grupos de acordo com o padrão de ornamentação da exina. As características dos elementos de ornamentação e o tamanho foram os atributos polínicos utilizados subsequentemente para identificar os táxons. Os demais aspectos da morfologia polínica como número e tipo de abertura (monossulcado), unidade de dispersão (mônades) e polaridade (heteropolar) mostraram homogeneidade e desta forma não foram usados na construção da chave.

As espécies *Hippeastrum papilio*⁵ e *H. stylosum*¹; *H. blossfeldiae*³ e *H. breviflorum*³; *H. glaucescens*, *H. morelianum* e *H. striatum* e *H. brasilianum*, *H. canastrense*, *H. reticulatum* e *H. santacatarina* não puderam ser separadas na chave elaborada, demonstrando assim o compartilhamento de características polínicas, isso não refletiu necessariamente a separação em subgêneros, uma vez que espécies de subgêneros distintos demonstraram semelhanças na morfologia polínica.

O tamanho dos grãos de pólen permitiu separar a espécie *H. aulicum* (muito grande) das demais, que apresentaram polens grandes. Estas informações foram compatíveis com a análise realizada por Alves-Araújo & Santos (2007) que encontraram grãos de pólen grandes a muito grandes para o gênero *Hippeastrum* a partir da análise de duas espécies (*H. puniceum* e *H. stylosum*), ambas tratadas no presente estudo.

O padrão de ornamentação da exina foi um atributo bastante importante para a diferenciação dos táxons e variou entre: retipilada e reticulada. As espécies *H. elegans*, *H. goiamum*, *H. puniceum* e *H. reginae* apresentaram grãos de pólen retipilados. Sexina reticulada foi identificada nas demais espécies, conforme apresentado na chave polínica.

De acordo com Walker & Doyle (1975) a arquitetura da parede do grão de pólen oferece um grande potencial como fonte de informações filogenéticas e a tendência evolutiva sugerida pelos autores aponta exina tectada imperforada a menos derivada, passando pela semitectada e chegando a exina intectada como a mais derivada. Desta forma *H. elegans*, *H. goianum*, *H. puniceum* e *H. reginae* apresentaram grãos de pólen mais derivados entre as espécies estudadas.

As espécies que exibiram sexina retipilada puderam ser separadas pelas características e organização dos pilos. Entre as espécies reticuladas destacam-se *H. aulicum*, *H. aulicum* var. *glaucophyllum*, *H. calyptratum*, *H. papilio* e *H. stylosum* que apresentaram retículo, com lumens de diâmetro maiores, restrito à porção mediana bem demarcada do grão de pólen com extremidades microrreticuladas. Os demais táxons com exina reticulada foram diferenciados pelas características dos muros, lumens e columelas.

Esse padrão de organização do retículo (dimórfico) observado no presente estudo já foi evidenciado por Erdtman (1952) para alguns gêneros da família Amaryllidaceae *Hymenocallis* Salisb. e *Lycoris* Herb.. Meerow & Dehgan (1985) também visualizaram a diferenciação do retículo em áreas finas na extremidade e grosseiras na região mediana (retículo dimórfico) em *Caliphruria* Herb. e *Eucharis* Planch. & Linden e descreveram uma tendência evolutiva do retículo dimórfico para retículo homogêneo entre os subgêneros de *Hymenocallis*, sugerindo que o retículo homogêneo é uma característica derivada.

Ao analisar a espécie *Hippeastrum stylosum*, Alves-Araújo & Santos (2007) constataram que a exina reticulada heterobrocada formou uma calota psilado-perfurada na região equatorial aguda, compondo assim, um retículo dimórfico nas extremidades

da região equatorial. Os resultados aqui encontrados para *H. stylosum* confirmam o padrão dimórfico, divergindo, entretanto, em relação ao tipo de ornamentação, uma vez que foi relatado microrretículo nas extremidades (equador) dos grãos de pólen, esta divergência pode ser explicada pela qualidade do material ou do processamento para visualização em microscopia eletrônica de varredura.

Ainda considerando a exina, Alves-Araújo & Santos (2007) caracterizaram os grãos de pólen de *Hippastrum puniceum* como semi-tectada reticulada e ressaltaram a transparência do teto, porém não realizaram análise sob microscopia eletrônica de varredura (MEV). No presente estudo a espécie *H. puniceum* foi observada sob microscopia de luz e eletrônica de varredura e descrita como intectada retipilada com pilos organizados em dupla fileira, corroborando a análise realizada por Candido *et al.* (2013) para esta mesma espécie.

A análise hierárquica de cluster realizada (AHC) revelou grupos compostos por espécies dos diferentes subgêneros e a disposição dos pontos (representando as espécies) ao longo do gráfico na análise de componentes principais (PCA) permitiu a individualização de táxons. Observou-se, no entanto, dificuldade na delimitação de grupos ao longo dos eixos de ordenação revelando o compartilhamento de atributos polínicos e a similaridade de algumas espécies subordinadas a subgêneros diferentes. O que, em tese, coloca em dúvida mais uma vez esta classificação em subgêneros de *Hippeastrum*.

A maioria das espécies pertencentes a *Hippeastrum* subgênero *Aschamia*, são encontradas no mesmo grupo (1) quando observada HCA, porém não aparecem próximas umas das outras na análise de componente principal (PCA). Ao analisar o dendrograma observa-se que apenas *H. puniceum* emergiu separadamente das demais

espécies do grupo. Tal informação é corroborada pelo PCA, onde é possível visualizar *H. puniceum* no polo positivo do eixo 1. Essa separação se deve ao fato desta espécie apresentar os maiores valores de DM (diâmetro maior), DE (diâmetro equatorial) e CS (comprimento do sulco) diferentemente das demais do mesmo subgênero.

Em contrapartida as espécies dos demais subgêneros de *Hippeastrum* ficaram dispersas pelos grupos quando observada a HCA, o mesmo ocorre analisando o gráfico de PCA indicando que os subgêneros de *Hippeastrum* não puderam ser delimitados pela morfologia polínica.

As espécies que formaram o grupo 2 (HCA) estão subordinadas a diferentes subgêneros: *Hippeastrum glaucescens* e *H. morelianum* (*H.* subg. *Caephaleaeon*); *H. brasilianum* e *H. goianum* (*H.* subg. *Macropodastrum*); *H. papilio* (*H.* subg. *Omphalissa*) e *H. vittatum* (*H.* subg. *Lais*) e apresentam-se bastante dispersas na análise do componente principal (PCA), com destaque para *H. goianum* que se distanciou das demais espécies analisadas por apresentar o menor valor de DL (diâmetro do lúmen).

O grupo 3 (HCA) foi formado pelas espécies *H. aulicum* e *H. calyaptratum*, ambas subordinadas ao subgênero *Omphalissa*, que se distanciaram das demais no polo positivo do eixo 1 (PCA) pois apresentaram os maiores valores de DM (diâmetro maior), Dm (diâmetro menor), DP (diâmetro polar), DE (diâmetro equatorial) e CS (comprimento do sulco) entre todas as espécies analisadas.

Uma investigação sobre a morfologia polínica de 66 espécies subordinadas a 19 famílias de monocotiledôneas, dentre elas um representante da família Amaryllidaceae, foi realizada por Ghosh & Karmakar (2017), os autores concluíram que as espécies que apresentaram polens monossulcados puderam ser diferenciadas taxonomicamente pelas

características da exina, natureza do sulco ou ainda pelos comprimentos dos eixos polares e equatoriais. A maioria das espécies do presente trabalho foi diferenciada pelo padrão de ornamentação da exina.

Grãos de pólen grandes, elípticos, monossulcados com exina reticulada constitui a morfologia polínica mais comum encontrada nas Amaryllidaceae (Erdtman 1952; Walker & Doyle 1975; Meerow & Dehgan 1985, 1988; Meerow *et al.* 1986). Esta morfologia polínica aparece como o tipo básico para a maioria das monocotiledôneas (Doyle, 1973). Os resultados encontrados no presente estudo corroboram este padrão.

Apesar de outros tipos de pólen terem sido descritos para Amaryllidaceae, como abertura dissulcada (*Amaryllis belladonna* L., *Crinum* L., *Nerine* Herb, *Strumaria* Jacq.) com uma exina intectada-columelada (Erdtman 1952, Meerow & Dehgan, 1985; Meerow & Snijman, 1998), polen monossulcado com exina semi-tectada pode ser considerado uma sinapomorfia para a família (Dönmez & Isik 2008).

Embora *Hippeastrum* seja um dos maiores gêneros da família Amaryllidaceae, apenas dois trabalhos foram encontrados na literatura com contribuições sobre dados palinológicos envolvendo seus representantes, são eles: Alves-Araújo & Santos (2007) e Candido *et al.* (2013).

Alves-Araújo & Santos (2007) realizaram a caracterização palinológica de duas espécies de *Hippeastrum* com ocorrência para o nordeste brasileiro e Candido *et al.* (2013) caracterizaram a morfologia polínica de cinco espécies ocorrentes nas restingas do estado do Rio de Janeiro. Ambos os trabalhos destacaram que os táxons estudados apresentaram bons caracteres que podem ser utilizados na delimitação taxonômica, com destaque para a ornamentação da exina e seus arranjos, embora nenhum deles tenha feito referência aos subgêneros.

As espécies de *Hippeastrum* ocorrentes no Brasil foram tratadas por Oliveira (2012) num estudo taxonômico e muitos taxons apresentaram elementos com características intermediárias.

A morfologia externa de *H. aulicum* e *H. morelianum* são semelhantes. *H. calyptratum* e *H. aulicum* também são próximas, pela morfologia da folha e pela presença de corona em placas (Oliveira 2012). Em relação ao estudo palinológico *H. aulicum* diferenciou-se de *H. morelianum* por possuir retículo, com lumens de diâmetros maiores, restrito à porção mediana bem demarcada do grão de pólen com extremidades microrreticuladas e polens muito grandes. *H. calyptratum* demonstrou maior semelhança com *H. aulicum* e foi diferenciada desta espécie apenas pela medida dos lumens (ca. 6,0 μ m), como pode ser observado na chave polínica.

A proximidade entre as espécies *H. aulicum* e *H. calyptratum* em relação à morfologia polínica também pôde ser constatada na análise de HCA onde essas espécies formaram o grupo 3 e se distanciaram das demais espécies na análise do componente principal (PCA).

Hippeastrum blossfeldiae é uma espécie bastante reconhecida pela morfologia externa próxima a *H. striatum* (Oliveira 2012). A morfologia polínica revelou divergências entre as espécies, os muros que formam o retículo foram sinuosos em *Hippeastrum blossfeldiae* e retos em *H. striatum*. Na análise de cluster (HCA) estas espécies ficaram em grupos distintos, *H. blossfeldiae* (grupo 1') e *H. striatum* isolada no grupo 3'. As espécies se distanciaram no PCA, pois *H. blossfeldiae* apresentou valores maiores de DM (diâmetro maior) e DP (diâmetro polar), destacando o caráter quantitativo destas duas últimas análises.

A espécie *H. brasilianum* demonstrou ser muito parecida com *H. elegans* que em material vivo pode ser distinguido pelo padrão de cor; em material herborizado, pela forma do tubo, que em *H. brasilianum* é mais aberto. *H. elegans* também apresentou variações de cor e sobreposições morfológicas com *H. goianum* e *H. vittatum* (Oliveira 2012). No presente estudo as espécies *H. elegans* e *H. goianum* divergiram de *H. brasilianum* e *H. vittatum*, pois as duas primeiras apresentaram exina retipilada. *H. brasilianum* e *H. vittatum* mostraram exina reticulada com divergência em relação ao muro, enquanto que *H. elegans* e *H. goianum* divergiram na organização dos pilos, evidenciado na chave polínica. A análise do componente principal (PCA) mostrou as espécies em questão ficaram bastante dispersas pelos polos positivos e negativos do eixo 2 influenciadas pelos valores de DL (diâmetro do lúmen).

Hippeastrum puniceum apresentou formas intermediárias, em relação à morfologia externa, com *H. reginae*, por vezes indistinguíveis. Geralmente apresenta tubo do hipanto proporcionalmente mais comprido, e padrões de cores diferentes (Oliveira 2012). Ambas as espécies exibiram exina retipilada evidenciando, em tese, a proximidade entre elas, mas também foram diferenciadas na chave polínica pela organização dos elementos de ornamentação. Essa proximidade foi confirmada pela análise de cluster (HCA) onde as espécies permaneceram no mesmo grupo (1') e apresentaram valores de DP (diâmetro polar) e LS (largura do sulco) semelhantes.

Cabe ressaltar que as espécies *Hippeastrum angustifolium*, *H. aulicum* var. *glaucophyllum*, *H. blossfeldiae*, *H. brasilianum*, *H. breviflorum*, *H. calyptratum*, *H. canastrensis*, *H. cipoanum*, *H. elegans*, *H. goianum*, *H. morelianum*, *H. papilio*, *H. reginae*, *H. santacatarina*, *H. vittatum* tiveram sua morfologia polínica caracterizada pela primeira vez no presente trabalho.

Os resultados encontrados apresentaram valor taxonômico e sistemático, dado que possibilitaram distinguir alguns táxons por caracteres pontuais, inclusive espécies estritamente relacionadas, embora não tenham corroborado a delimitação dos subgêneros propostos para *Hippeastrum*.

Conclui-se que, os grãos de pólen das espécies do gênero *Hippeastrum* analisadas apresentaram variações morfológicas dentre as quais o padrão de ornamentação da exina, as características dos elementos de ornamentação e o tamanho permitiram a distinção dos táxons. Dois grupos principais foram estabelecidos considerando o padrão de ornamentação da exina: repilada e reticulada. No entanto, não foram encontrados caracteres polínicos exclusivos para cada subgênero devido ao compartilhamento dos mesmos. Portanto, os atributos polínicos fornecem subsídios para melhor circunscrição e detalhamento das espécies de *Hippeastrum*, no entanto não corrobora a atual delimitação em subgêneros.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves-Araújo, A., Dutilh, J. A. H. & Alves, M. 2009. Amaryllidaceae s.s. e Alliaceae s.s. no nordeste brasileiro. *Rodriguésia* 60 (2): 311-331.
- Alves-Araújo, A. & Santos, F. de A. R. dos, 2007. Caracterização palinológica das espécies de Amaryllidaceae sensu stricto ocorrentes no nordeste brasileiro. *Acta Botanica Brasílica* 21(4): 967-976.
- Amaral, A. C. 2007. Amaryllidaceae Jaume St.-Hil.: levantamento das espécies do Distrito Federal, Brasil, e estudos de multiplicação *in vitro*. Brasília, Dissertação de Mestrado, Universidade de Brasília. 115p.
- Barth, O.M. & Melhem, T.S. 1988. Glossário ilustrado de Palinologia. Campinas, Ed. UNICAMP. 75 p.
- Baker, J. G. 1888. Handbook of Amaryllideae. George Bell & Sons, London.
- Bentham, G. 1883. Amaryllidaceae in: Bentham, G. e Hooker, J.D. (eds.) *Genera Plantarum*. 3(2): 710-740.
- Boterenbrood, M. J. A. 1932-1947. Amaryllidaceae in: Pulle, A. (ed) *Flora of Suriname (Netherlands Guyana)*. Amsterdam, Koninklijke Vereeniging Indich Instituut. 1(1): 443-454.
- Brummitt, R. K. 1987. Report for the Comité for Spermatophyta. *Taxon* 36(4): 734-739.
- 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.

- Candido, R. S., Fourny, A. C. da S., Gonçalves-Esteves, V., Lopes, R. C. 2013. *Hippeastrum* species in áreas of restinga in the state of the Rio de Janeiro, Brazil: pollen characters. *Acta Botânica Brasílica* 27(4): 661-668.
- Candido, R. S., Gonçalves-Esteves, V., Lopes, R. C. 2014. *Hippeastrum* (Amaryllidoideae - Amaryllidaceae) das Restingas do Estado do Rio de Janeiro: Flora e Conservação. *Botânica* 65: 49-65.
- Dandy, J. E. & Fosberg, F. R. 1954. The type of *Amaryllis belladonna* L. *Taxon* 3(2): 231-232.
- Dönmez, E. O. & Isik, S. 2008. Pollen morphology of Turkish Amaryllidaceae, Ixioliriaceae and Iridaceae. *Grana* 47(1): 15-38.
- Doyle, J. A. 1973. The monocotyledons: their evolution and comparative biology. V. Fossil evidence on early evolution of the monocotyledons. *The Quarterly Review of Biology* 48: 399-413.
- Dutilh, J. H. A. 1987. Investigações citotaxonomicas em populações brasileiras de *Hippeastrum* Herb. São Paulo, Dissertação de Mestrado, São Paulo, Universidade Estadual de Campinas. 131p.
- Dutilh, J. H. A. 1996. Biosistemática de quatro espécies de *Hippeastrum* Herb. (Amaryllidaceae). São Paulo, Tese de Doutorado, São Paulo, Instituto de Biologia, Universidade Estadual de Campinas. 153p.
- Dutilh, J. H. A. 2005. Amaryllidaceae in: Wanderley, M.G.L., Shepherd, G. J. Melhem, T.S. & A.M. Giulietti (ed) *Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo*. São Paulo, Instituto de Botânica. 4: 244-256.
- Dutilh, J.H.A.; Oliveira, R.S. 2015. *Amaryllidaceae* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB43>)

- Erdtman, G. 1952. Pollen morphology and plant taxonomy - Angiosperms. Upsala. Almqvist e Wiksell. 539p., 261 figs.
- Ghosh, A.& Karmakar, P. 2017. Monocot pollen flora of Paschim Medinipur District, West Bengal, with a note on pollen dispersal mechanism Current Botany 8: 41-54
- Greuter, W., Burdet, H. M., Chaloner, W. G., Demoulin, V., Grollier, R., Hawksworth, D. L., Nicolson, D. H., Silva, P.C., Stafleau, F.A., Voss, E. G. 1988. Internacional Code of Botanical Nomenclature Regnum Vegetabile 118,178p.
- Herbert, W. H. 1821. An Appendix. Bot. Mag. James and Ridway Sons. London.
- Herbert, W. H. 1837. Amaryllidaceae. James and Ridway Sons. London.
- Linnaeus, C. 1757. Species Plantarum. Londres.
- López-Ferrari, A.R., Espejo-Sena, A. 2002. Amaryllidaceae in: Rodrigues, L. C., Escamilla, M., Moreno, N. P., Mejía-Saulés, M. T., Nee, M., Nevling, L. I., Rzedowski, J., Sosa, V. (Eds). Flora de Vera Cruz. Instituto de Ecología, México, fasc. 128. 1-32.
- McCune B, Mefford M J., 2011. PC-ORD. Multivariate Analysis of Ecological Data. Version 6. MjM Software, Gleneden Beach, Oregon, U.S.A.
- Meerow, A.W. & Dehgan, B. 1985. The auriculate pollen grain of *Hymenocallis quitoensis* Herb. (Amaryllidaceae) and its systematic implications. American Journal of Botany 72(4): 540-547.
- Meerow, A.W. & Dehgan, B. 1988. Pollen morphology of the Eucharidae (Amaryllidaceae). American Journal of Botany 75(12): 1857-1870.

- Meerow, A. W.; Dehgan, N. B. & Dehgan, B. 1986. Pollen tetrads in *Stenomesson elwesii* (Amaryllidaceae). *American Journal of Botany* 73(11):1642-1644.
- Meerow, A. W., Scheepen, J. V., Dutilh, J. H. A. 1997. Transfers from *Amaryllis* to *Hippeastrum* (Amaryllidaceae). *Taxon* 46: 15-19.
- Meerow, A. W. & Snijman, D. A. 1998. Amaryllidaceae. In K. Kubitzki (ed.). *The families and genera of vascular plants. Monocotyledons – Lilianae (except Orchidaceae)*. Hamburg, Germany. 83-110p.
- Meerow, A. W., Fay, M. F., Chase, M. W., Guy, C. L., Li, Q. B., Snijman, D., Yang, S. L. 2000. Phylogeny of Amaryllidaceae: molecules and morphology. In Wilson, K. L., Morrison, D. A. ed(s). *Monocots: systematics and evolution*. Collingwood, Australia: CSIRO pp. 372-386.
- Melhem, T. S., Cruz-Barros, M. A. V., Corrêa, A. M. S., Makino-Watanabe, H., Silvestre-Capelato, M. S. F. & Gonçalves-Esteves, V. 2003. Morfologia polínica em plantas de Campos do Jordão (São Paulo, Brasil). *Boletim do Instituto de Botânica* 16:1-104.
- Menezes, L. F. T. de, Peixoto, A. L., Araujo, D. S. D. 2005. *História Natural da Marambaia*. Rio de Janeiro, UFRRJ Ed. 288p.
- Oliveira, R. S. de. 2012. O gênero *Hippeastrum* Herb. (Amaryllidaceae) no Brasil: evidência de evolução reticulada e análise de caracteres florais. Campinas, São Paulo, Tese de Doutorado, Universidade Estadual de Campinas. 252p.
- Pax, F.; Hoffman, K. 1930. Amaryllidaceae. In: A. Engler, & K. Prantl, *Di Natürlichen Pflanzenfamilien*. Ed. 2 15a:391-430. Wilhelm Engelmann. Leipzig.
- Punt, W.; Blackmore, S.; Nilsson, S. & Le Thomas, A. 2007. Glossary of pollen and spore terminology. *Review of Paleobotany and Palynology* 143: 1-81.

- Raynal, A. & Raynal, J. 1971. Une technique de preparation des grains de pollen fragilis. *Adansônia* 11(1): 77-79.
- Reitsma, T. 1969. Size modification of recent pollen grains under different treatments. *Review of Paleobotany and Palynology*. Amsterdam. 9: 175-202.
- 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.
- Salgado-Labouriau, M. L. 1973. Contribuição à palinologia dos cerrados. Academia Brasileira de Ciências. Rio de Janeiro. 291p.
- Specieslink. Disponível em: <<http://slink.cria.org.br/>>. Acesso em junho de 2013.
- Thiers, B. Index herbariorum: a global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. <http://sweetgum.nybg.org/ih/.2013>
- Traub, H. P. & Moldenke, H. N. 1949. *Amaryllidaceae: Tribe Amaryllidae*. Stanford, California. 194p.
- Traub, H. P. 1958. *The Amaryllis manual*. Macmillan, New York.
- Traub, H. P. 1980. The Subgenera of the Genus *Amaryllis*. *Pl. Life* , 36:43-45.
- Traub, H.P. 1983. The lectotypificação of *Amaryllis belladonna* L. (1753) *Taxon* 32(2): 253-267.
- Traub, H. P.; Uphof, J. C. 1938. Tentative Revision of the genus *Amaryllis* (Linn. ex parte) (syn. *Hippeastrum* Herb.). *Herbertia* 5:114-131. 94

- Traub, H. P.; Uphof, J. C. 1940. Critical Review of Sealy's "*Amaryllis* and *Hippeastrum*". *Herbertia* , 6:163-166.
- Tjarden, W. L. 1981. *Amaryllis belladonna* L. Species Plantarum 293, 1753. taxon 30: 294-298.
- Walker, J.W. & Doyle, J.A. 1975. The bases of angiosperm phylogeny: Palynology. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 62: 664-723.
- Wanderley, M.G.L. & Melhem, T.S. 1991. Flora polínica da Reserva do Parque Estadual das Fontes do Ipiranga (São Paulo, Brasil). Família: 178 Bromeliaceae. *Hoehnea* 18 (1): 5-42.
- Worsley, A. 1896. The genus *Hippeastrum*. A monograph. W. Wesley & Son, London.

Tabela 1. Medidas (μm) dos grãos de pólen de espécies de *Hippeastrum* (n=25) em vista polar.

| Espécies | Diâmetro maior | | | Diâmetro menor | | |
|--|-------------------|-----------------|-------------|-------------------|----------------|-----------|
| | Faixa de Variação | $x \pm sx$ | I.C. 95% | Faixa de Variação | $x \pm sx$ | I.C. 95% |
| <i>H. angustifolium</i> | 52,5-60,0 | 56,2 \pm 0,4 | 55,3-57,1 | 32,5-42,5 | 38,4 \pm 0,5 | 37,4-39,5 |
| <i>H. aulicum</i> | 100,0-110,0 | 104,7 \pm 0,6 | 103,5-105,9 | 50,0-60,0 | 53,0 \pm 0,6 | 51,8-54,2 |
| <i>H. aulicum</i> var. <i>glaucophyllum</i> | 67,5-75,0 | 72,3 \pm 0,5 | 71,3-73,3 | 40,0-47,5 | 45,7 \pm 0,4 | 44,8-46,6 |
| <i>H. blossfeldiae</i> | 65,0-68,7 | 66,7 \pm 0,3 | 66,1-67,4 | 37,5-43,7 | 41,5 \pm 0,3 | 40,8-42,2 |
| <i>H. brasilianum</i> | 70,0-75,0 | 71,3 \pm 0,2 | 70,7-71,8 | 46,3-56,3 | 50,2 \pm 0,5 | 49,2-51,2 |
| <i>H. breviflorum</i> | 67,5-72,5 | 70,3 \pm 0,3 | 69,5-71,0 | 32,5-37,5 | 34,7 \pm 0,3 | 34,1-35,3 |
| <i>H. calypratrum</i> | 87,5-93,7 | 91,5 \pm 0,3 | 90,8-92,1 | 55,0-61,3 | 57,4 \pm 0,4 | 56,6-58,2 |
| <i>H. canastrense</i> | 50,0-60,0 | 56,5 \pm 0,4 | 55,5-57,4 | 42,5-52,5 | 47,6 \pm 0,4 | 46,7-48,6 |
| <i>H. cipoanum</i> | 65,0-71,2 | 68,5 \pm 0,3 | 67,9-69,2 | 43,7-50,0 | 47,5 \pm 0,4 | 46,7-48,3 |
| <i>H. elegans</i> | 62,5-67,5 | 64,2 \pm 0,3 | 63,6-64,8 | 37,5-41,2 | 39,0 \pm 0,2 | 38,5-39,5 |
| <i>H. glauscesens</i> | 72,5-77,5 | 74,3 \pm 0,4 | 73,5-75,1 | 45,0-50,0 | 47,4 \pm 0,4 | 46,6-48,2 |
| <i>H. goianum</i> | 75,0-82,5 | 77,3 \pm 0,4 | 77,1-79,0 | 45,0-55,0 | 48,3 \pm 0,6 | 46,9-49,6 |
| <i>H. morelianum</i> | 60,0-70,0 | 65,0 \pm 0,5 | 64,0-66,0 | 45,0-52,5 | 48,4 \pm 0,4 | 47,6-49,3 |
| <i>H. papilo</i> | 78,7-82,5 | 81,0 \pm 0,2 | 80,4-81,5 | 52,5-47,5 | 49,6 \pm 0,3 | 49,0-50,3 |
| <i>H. puniceum</i> | 75,0-82,5 | 79,3 \pm 0,5 | 78,3-80,3 | 32,5-42,5 | 36,9 \pm 0,6 | 35,7-38,1 |
| <i>H. reginae</i> | 55,0-60,0 | 58,1 \pm 0,3 | 57,5-58,7 | 37,5-43,7 | 40,5 \pm 0,3 | 39,7-41,2 |
| <i>H. reticulatum</i> | 62,5-70,0 | 65,5 \pm 0,4 | 64,7-66,3 | 40,0-46,2 | 42,2 \pm 0,4 | 41,4-43,0 |
| <i>H. santacatarina</i> | 50,0-57,5 | 55,9 \pm 0,4 | 55,1-56,7 | 45,0-50,0 | 46,5 \pm 0,3 | 47,2-45,9 |

| 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>H. striatum</i> | 57,5-62,5 | 60,6±0,3 | 60,0-61,2 | 40,0-43,7 | 41,8±0,3 | 41,2-42,4 |
| <i>H. stylosum</i> | 62,5-68,8 | 64,9±0,4 | 64,1-65,8 | 37,5-45,0 | 40,7±0,4 | 39,8-41,5 |
| <i>H. vittatum</i> | 62,5-70,0 | 67,2±0,4 | 66,3-68,0 | 42,5-50,0 | 46,3±0,5 | 45,3-47,3 |

\bar{x} - média aritmética; s_x – desvio padrão da média; I.C.- intervalo de confiança

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

| Espécie | Diâmetro Polar | | Diâmetro Equatorial | |
|--|-------------------|------|---------------------|-------|
| | Faixa de Variação | x | Faixa de Variação | x |
| <i>H. angustifolium</i> | 30,0-37,5 | 34,8 | 60,0-62,5 | 60,8 |
| <i>H. aulicum</i> | 50,0-57,5 | 54,7 | 105,0-110,0 | 106,7 |
| <i>H. aulicum</i> var. <i>glaucophyllum</i> | 42,5-46,3 | 44,2 | 67,5-72,5 | 70,0 |
| <i>H. blossfeldiae</i> | 37,5-43,7 | 41,5 | 65,0-70,0 | 67,3 |
| <i>H. brasilianum</i> | 42,5-47,5 | 45,7 | 67,5-72,5 | 70,9 |
| <i>H. breviflorum</i> | 33,8-37,5 | 35,9 | 67,5-72,5 | 70,6 |
| <i>H. calyptratum</i> | 47,5-55,0 | 52,2 | 87,5-95,0 | 92,2 |
| <i>H. canastrense</i> | 42,5-46,2 | 43,9 | 55,0-58,7 | 56,5 |
| <i>H. cipoanum</i> | 45,0-47,5 | 46,2 | 66,2-70,0 | 68,1 |
| <i>H. elegans</i> | 37,5-40,0 | 39,4 | 65,0-70,0 | 67,0 |
| <i>H. glauscesens</i> | 42,5-47,5 | 45,7 | 70,0-75,0 | 72,7 |
| <i>H. goianum</i> | 33,8-40,0 | 36,1 | 72,5-82,5 | 80,0 |
| <i>H. morelianum</i> | 40,0-50,0 | 44,2 | 65,0-70,0 | 67,2 |
| <i>H. papilo</i> | 45,0-55,0 | 48,6 | 77,5-80,0 | 79,2 |
| <i>H. puniceum</i> | 32,5-37,5 | 35,7 | 70,0-80,0 | 73,6 |
| <i>H. reginae</i> | 37,5-42,5 | 39,9 | 55,0-58,8 | 56,3 |
| <i>H. reticulatum</i> | 37,5-42,5 | 40,0 | 65,0-70,0 | 67,4 |
| <i>H. santacatarina</i> | 45,0-47,5 | 46,0 | 50,0-55,0 | 52,9 |
| <i>H. striatum</i> | 32,5-40,0 | 37,5 | 60,0-65,0 | 62,0 |
| <i>H. stylosum</i> | 35,0-40,0 | 38,3 | 62,5-70,0 | 66,7 |
| <i>H. vittatum</i> | 45,0-50,0 | 47,1 | 65,0-70,0 | 67,8 |

x- média aritmética

Tabela 3. Médias (μm) das camadas da exina dos grãos de pólen de espécies de *Hippeastrum* (n=10).

| Espécies | Sulco | | Espessura da Exina | | | Lúmen | Muro |
|--|-------|-------|--------------------|--------|--------|----------|---------|
| | Comp. | Larg. | Exina | Sexina | Nexina | Diâmetro | Largura |
| <i>H. angustifolium</i> | 56,0 | 9,6 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | 4,7 | 0,7 |
| <i>H. aulicum</i> | 101,2 | 8,2 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | 3,5 | 0,6 |
| <i>H. aulicum</i> var. <i>glaucophyllum</i> | 68,2 | 8,0 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | 5,8 | 1,0 |
| <i>H. blossomfeldiae</i> | 59,5 | 9,5 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | 3,2 | 1,0 |
| <i>H. brasilianum</i> | 66,4 | 7,4 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | 2,8 | 1,0 |
| <i>H. breviflorum</i> | 64,5 | 6,7 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | 3,7 | 0,9 |
| <i>H. calyptratium</i> | 85,5 | 7,5 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | 6,0 | 0,9 |
| <i>H. canastrense</i> | 48,5 | 8,4 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | 1,2 | 1,0 |
| <i>H. cipoanum</i> | 64,5 | 9,0 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | 3,5 | 0,7 |
| <i>H. elegans</i> | 57,6 | 10,1 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | 3,4 | — |
| <i>H. glauscesens</i> | 70,0 | 7,5 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | 4,6 | 0,6 |
| <i>H. goianum</i> | 74,5 | 14,5 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | — | — |
| <i>H. morelianum</i> | 61,6 | 11,1 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | 4,1 | 1,0 |
| <i>H. papilo</i> | 75,0 | 9,2 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | 4,3 | 0,8 |
| <i>H. puniceum</i> | 70,0 | 10,0 | 2,4 | 1,4 | 1,0 | 5,9 | — |
| <i>H. reginae</i> | 52,7 | 7,2 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | 3,7 | — |
| <i>H. reticulatum</i> | 41,0 | 9,7 | 2,6 | 1,6 | 1,0 | 2,4 | 0,8 |
| <i>H. santacatarina</i> | 44,4 | 9,4 | 1,0 | 1,0 | 1,0 | 2,0 | 0,6 |
| <i>H. striatum</i> | 51,3 | 20,5 | 2,2 | 1,2 | 1,0 | 4,9 | 0,7 |
| <i>H. stylosum</i> | 61,2 | 7,4 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | 2,7 | 0,7 |
| <i>H. vittatum</i> | 62,9 | 13,5 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | 4,6 | 0,7 |

Tabela 4. Médias (μm) dos espécimes de comparação de espécies de *Hippeastrum* e em vista polar e equatorial (n=10).

| Espécie | Vista Polar | | Vista Equatorial | |
|-----------------------------------|----------------|----------------|------------------|---------------------|
| | Diâmetro Maior | Diâmetro Menor | Diâmetro Polar | Diâmetro Equatorial |
| <i>H. angustifolium</i> | | | | |
| J. H. A. Dutilh 1987 | 62,1 | 37,6 | 37,5 | 62,5 |
| J. H. A. Dutilh 2024 | 56,2 | 38,5 | 36,2 | 61,0 |
| J. H. A. Dutilh s.n. (UEC 170541) | 57,0 | 36,8 | 35,8 | 62,3 |
| <i>H. aulicum</i> | | | | |
| M. R. Rodrigues s.n. (R 209581) | 85,5 | 46,7 | 47,2 | 87,5 |
| G. Hatschbach s.n. (HB16892) | 92,3 | 50,2 | 50,1 | 90,3 |
| J. B. Baitello 409 | 90,2 | 51,0 | 49,2 | 89,5 |
| <i>H. brasilianum</i> | | | | |
| R. C. Forzza 7655 | 66,7 | 44,9 | 42,9 | 69,1 |
| R. C. Forzza 5322 | 65,2 | 46,6 | 42,5 | 68,5 |
| R. C. Forzza 4704 | 69,6 | 50,3 | 43,5 | 69,6 |
| <i>H. cipoanum</i> | | | | |
| M. M. Toledo 1775 | 66,5 | 41,5 | 41,0 | 65,6 |
| N. M. Castro, s.n. (UEC 144266) | 62,1 | 37,6 | 38,5 | 63,5 |
| Ferre 138 | 64,3 | 38,7 | 39,0 | 64,3 |

| Espécie | Vista Polar | | Vista Equatorial | |
|-----------------------------------|----------------|----------------|------------------|---------------------|
| | Diâmetro Maior | Diâmetro Menor | Diâmetro Polar | Diâmetro Equatorial |
| <i>H. elegans</i> | | | | |
| E. P. Heringer 12055 | 65,7 | 40,5 | 40,4 | 65,4 |
| P. T. Sano 52316 | 64,5 | 39,2 | 38,9 | 65,8 |
| R.S. Oliveira s.n. (UEC 174107) | 65,2 | 40,0 | 39,3 | 66,5 |
| <i>H. glauscesens</i> | | | | |
| H. E. Strang 659 | 75,0 | 47,3 | 46,3 | 73,2 |
| J.H.A. Dutilh, s.n. (UEC 170598) | 74,2 | 46,8 | 45,5 | 74,3 |
| M. Honorina 50 | 72,7 | 46,8 | 47,0 | 72,2 |
| <i>H. goianum</i> | | | | |
| A. A. Santos et al. 3200 | 68,0 | 46,0 | 46,4 | 68,7 |
| N. Lima 11741 | 76,2 | 47,3 | 45,6 | 72,5 |
| J. P. do Amaral 9 | 75,5 | 48,2 | 44,8 | 71,8 |
| <i>H. morelianum</i> | | | | |
| J. H. A. Dutilh 215 | 67,4 | 47,9 | 41,9 | 67,0 |
| J. H. A. Dutilh s.n. (UEC 174129) | 65,7 | 48,5 | 45,1 | 66,2 |
| R. S. Candido 150 | 66,3 | 48,2 | 46,3 | 65,8 |
| <i>H. papilo</i> | | | | |
| H. Lorenzi 2698 | 74,0 | 46,9 | 48,0 | 75,7 |
| J. P. de Andrade s.n. (ICN149428) | 80,7 | 49,5 | 50,0 | 78,6 |

| Espécie | Vista Polar | | Vista Equatorial | |
|----------------------------------|----------------|----------------|------------------|---------------------|
| | Diâmetro Maior | Diâmetro Menor | Diâmetro Polar | Diâmetro Equatorial |
| <i>H. puniceum</i> | | | | |
| A. P. V. Paganotto 1039 | 72,7 | 35,7 | 35,5 | 73,0 |
| R. S. Candido 105 | 73,2 | 36,5 | 35,8 | 72,4 |
| R. C. Lopes 304 | 78,9 | 37,0 | 37,0 | 82,0 |
| <i>H. reginae</i> | | | | |
| A. C. Amaral 32 | 57,2 | 41,0 | 38,4 | 55,5 |
| E. P. Heringer 15889 | 58,3 | 40,6 | 39,1 | 56,1 |
| L. B. Bianchetti 1502 | 58,5 | 40,1 | 38,5 | 57,0 |
| <i>H. reticulatum</i> | | | | |
| C. A. L. de Oliveira 1042 | 50,7 | 36,0 | 36,2 | 51,5 |
| F. Pinheiro 783 | 68,0 | 40,2 | 35,2 | 63,2 |
| A. Lobão 273 | 66,2 | 42,4 | 38,5 | 65,0 |
| <i>H. santacatarina</i> | | | | |
| R. B. Giordani s.n. (ICN 149429) | 63,0 | 40,2 | 38,5 | 66,5 |
| M. B. Medeiros 11055 | 58,6 | 47,2 | 45,6 | 57,8 |
| <i>H. striatum</i> | | | | |
| R. S. Candido 86 | 64,7 | 40,0 | 37,5 | 61,7 |
| R. S. Candido 136 | 63,7 | 38,0 | 36,0 | 63,9 |
| R. S. Candido 110 | 65,9 | 32,0 | 32,7 | 64,7 |

Tabela 5. Matriz de dados com caracteres quantitativos de espécies de *Hippeastrum*.

| Espécies | Abreviações | DM | Dm | DP | DE | CS | LS | LM | DL |
|--------------------------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| <i>H. angustifolium</i> | ang | 56,2 | 38,4 | 34,8 | 60,8 | 56 | 9,6 | 0,7 | 4,7 |
| <i>H. aulicum</i> | aul | 104,7 | 53 | 54,7 | 106,7 | 101,2 | 8,2 | 0,6 | 3,5 |
| <i>H. aulicum var. glaucophyllum</i> | aul v. g | 72,3 | 45,7 | 44,2 | 70 | 68,2 | 8 | 1 | 5,8 |
| <i>H. blossfeldiae</i> | blo | 66,7 | 41,5 | 41,5 | 67,3 | 59,5 | 9,5 | 1 | 3,2 |
| <i>H. brasilianum</i> | bra | 71,3 | 50,2 | 45,7 | 70,9 | 66,4 | 7,4 | 1 | 2,8 |
| <i>H. breviflorum</i> | bre | 70,3 | 34,7 | 35,9 | 70,6 | 64,5 | 6,7 | 0,9 | 3,7 |
| <i>H. calyptratum</i> | cal | 91,5 | 57,4 | 52,2 | 92,2 | 85,5 | 7,5 | 0,9 | 6 |
| <i>H. canastrense</i> | can | 56,5 | 47,6 | 43,9 | 56,5 | 48,5 | 8,4 | 1 | 1,2 |
| <i>H. cipoanum</i> | cip | 68,5 | 47,5 | 46,2 | 68,1 | 64,5 | 9 | 3,5 | 3,5 |
| <i>H. elegans</i> | ele | 64,2 | 39 | 39,4 | 67 | 57,6 | 10,1 | 0 | 3,4 |
| <i>H. glauscesens</i> | gla | 74,3 | 47,4 | 45,7 | 72,7 | 70 | 7,5 | 0,6 | 4,6 |
| <i>H. goianum</i> | goi | 77,3 | 48,3 | 36,1 | 80 | 74,5 | 14,5 | 0 | 0 |
| <i>H. morelianum</i> | mor | 65 | 48,4 | 44,2 | 67,2 | 61,6 | 11,1 | 1 | 4,1 |
| <i>H. papilo</i> | pap | 81 | 49,6 | 48,6 | 79,2 | 75 | 9,2 | 0,8 | 4,3 |
| <i>H. puniceum</i> | pun | 79,3 | 36,9 | 35,7 | 73,6 | 70 | 10 | 0 | 5,9 |
| <i>H. reginae</i> | reg | 58,1 | 40,5 | 39,9 | 56,3 | 52,7 | 7,2 | 0 | 3,7 |
| <i>H. reticulatum</i> | ret | 65,5 | 42,2 | 40 | 67,4 | 41 | 9,7 | 0,8 | 2,4 |
| <i>H. santacatarina</i> | san | 55,9 | 46,5 | 46 | 52,9 | 44,4 | 9,4 | 0,6 | 2 |
| <i>H. striatum</i> | str | 60,6 | 41,8 | 37,5 | 62 | 51,3 | 20,5 | 0,7 | 4,9 |
| <i>H. stylosum</i> | sty | 64,9 | 40,7 | 38,3 | 66,7 | 61,2 | 7,4 | 0,7 | 2,7 |
| <i>H. vittatum</i> | vit | 67,2 | 46,3 | 47,1 | 67,8 | 62,9 | 13,5 | 0,7 | 4,6 |

*DM-diâmetro maior; Dm-diâmetro menor; DP-diâmetro maior; DE-diâmetro equatorial; CS-comprimento do sulco; LS-largura do sulco; LM-largura do muro; DL-diâmetro do lúmen

Tabela 6. Variância acumulativa e valores dos vetores da análise de componente principal (PCA)

| Eixo Principal | 1 | 2 |
|---------------------------|--------------|----------|
| Variância Acumulativa (%) | 63,06 | 12,93 |
| Caracteres | Eixos | |
| Diâmetro Maior | 0,5160 | -0,0884 |
| Diâmetro Menor | 0,1900 | 0,1281 |
| Diâmetro Polar | 0,1934 | 0,3489 |
| Diâmetro Equatorial | 0,5114 | -0,1433 |
| Comprimento do Sulco | 0,6225 | -0,0875 |
| Largura do Sulco | 0,0746 | -0,3179 |
| Largura do Muro | 0,0183 | 0,5369 |
| Diâmetro do Lúmen | 0,0727 | 0,6607 |

Figura 1: Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Hippeastrum*. A-G: *H. angustifolium* – A. vista polar, B. vista equatorial, C,D. análise de L.O., E. vista polar face distal: abertura (MEV), F. vista equatorial (MEV), G. detalhe da superfície (MEV); H-O: *H. aulicum* – H. vista polar, I. vista equatorial, J,K. análise de L.O., L. vista polar face distal (MEV), M. vista equatorial (MEV), N. vista polar face proximal (MEV), O. detalhe da superfície (MEV); P-Q: *H. aulicum* var. *glaucophyllum* – P. vista polar, Q. vista equatorial.

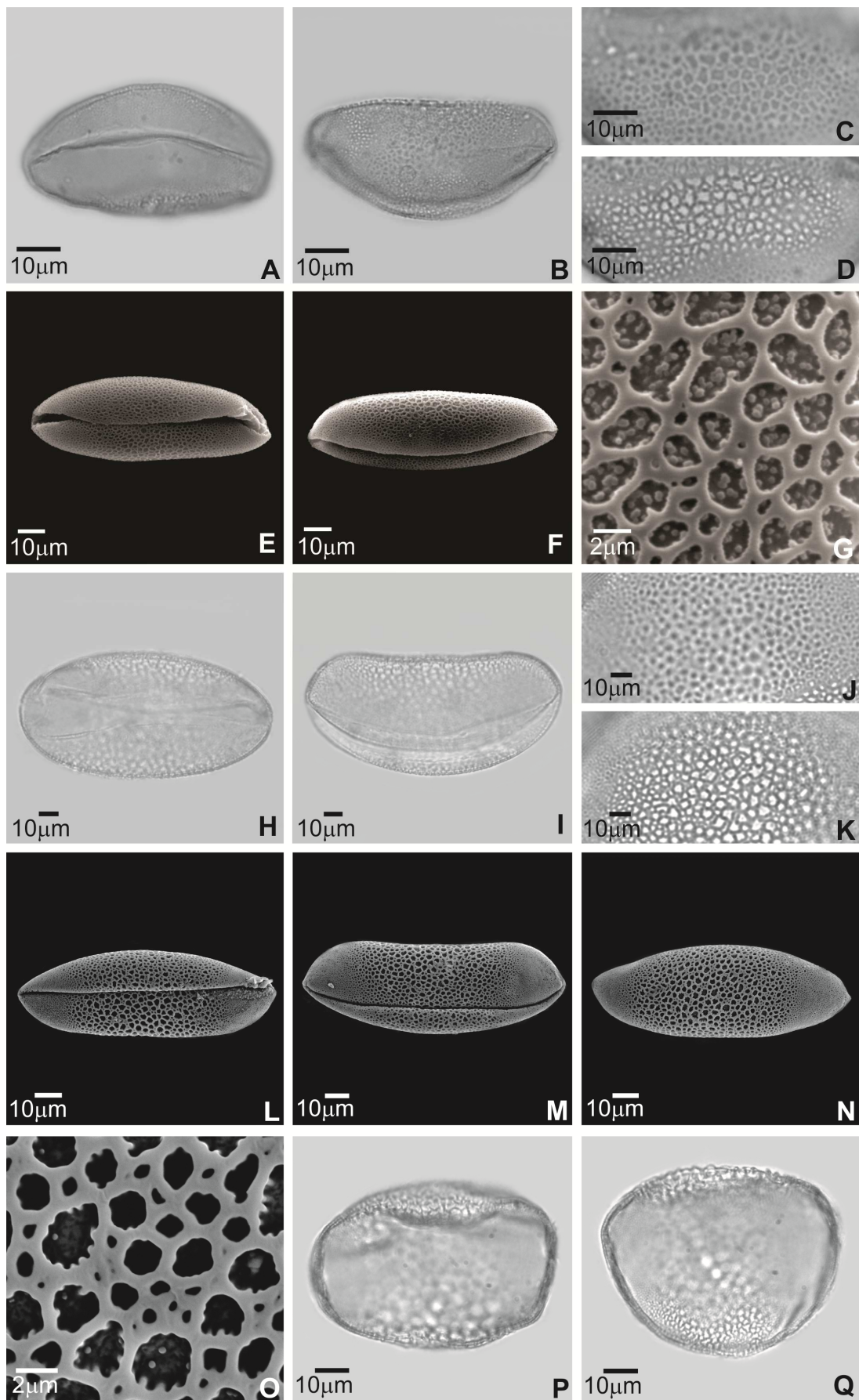


Figura 2: Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Hippeastrum*. A-F: *H. aulicum* var. *glaucophyllum* – A,B. análise de L.O., C. vista polar face distal: abertura (MEV), D. vista polar face distal (MEV), E. vista equatorial (MEV), F. detalhe da superfície (MEV); G-L: *H. blossfeldiae* – G. vista polar, H,I. análise de L.O., J. vista equatorial, K. vista polar face distal: abertura (MEV), L. detalhe da superfície; M-R: *H. brasilianum* – M. vista polar, N. vista equatorial, O,P. análise de L.O., Q. vista polar face distal: abertura (MEV), R. detalhe da superfície (MEV).

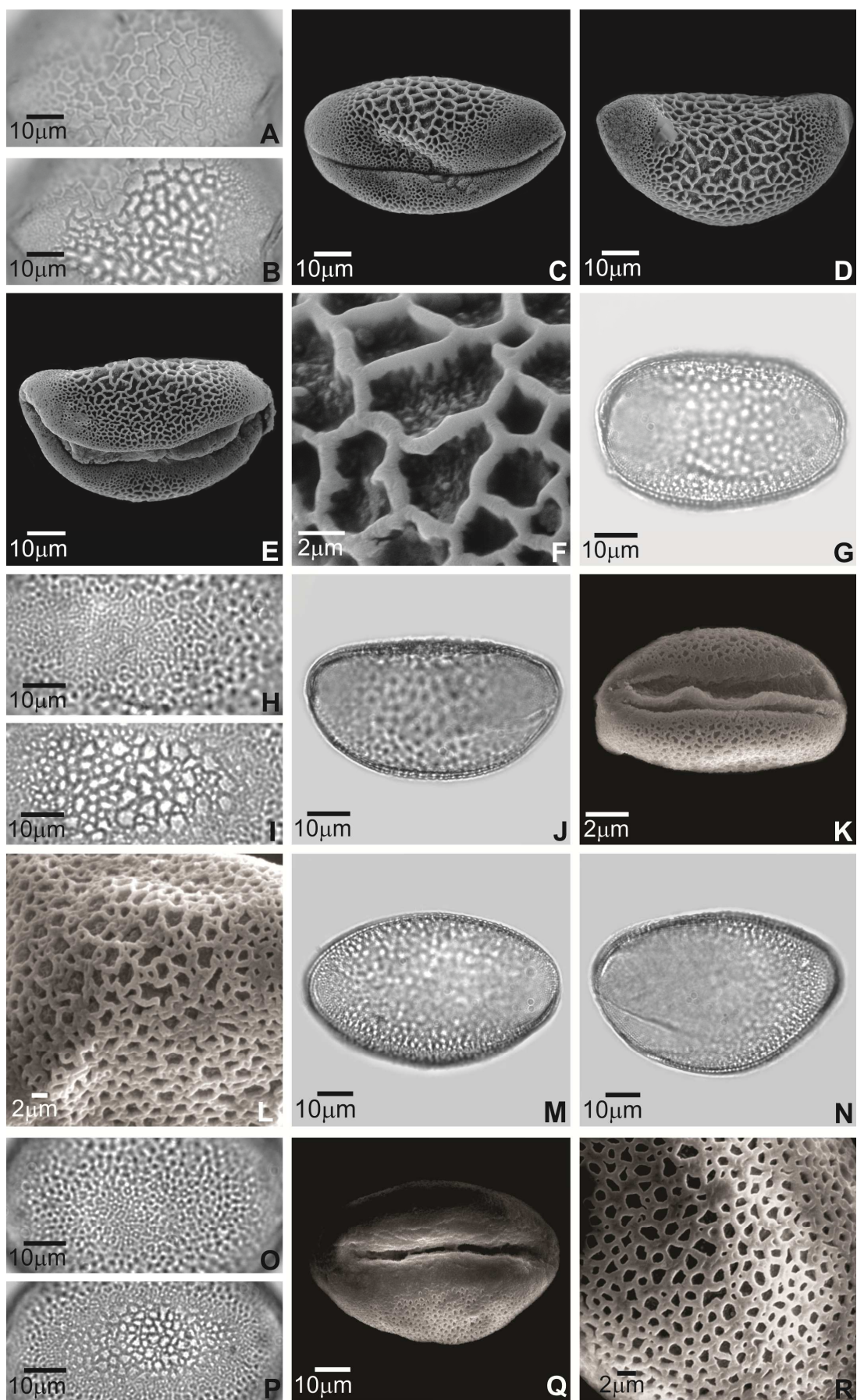


Figura 3: Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Hippeastrum*. A-G: *H. breviflorum* – A. vista polar, B. vista equatorial, C,D. análise de L.O., E. vista polar face distal: abertura (MEV), F. vista equatorial (MEV), G. detalhe da superfície(MEV); H-N: *H. calyptratum* – H. vista polar, I. vista equatorial, J,K. análise de L.O., L. vista polar face proximal (MEV), N. detalhe da superfície (MEV); O-P: *H. canastrense* – O. vista polar, P. vista equatorial, Q. vista polar face proximal.

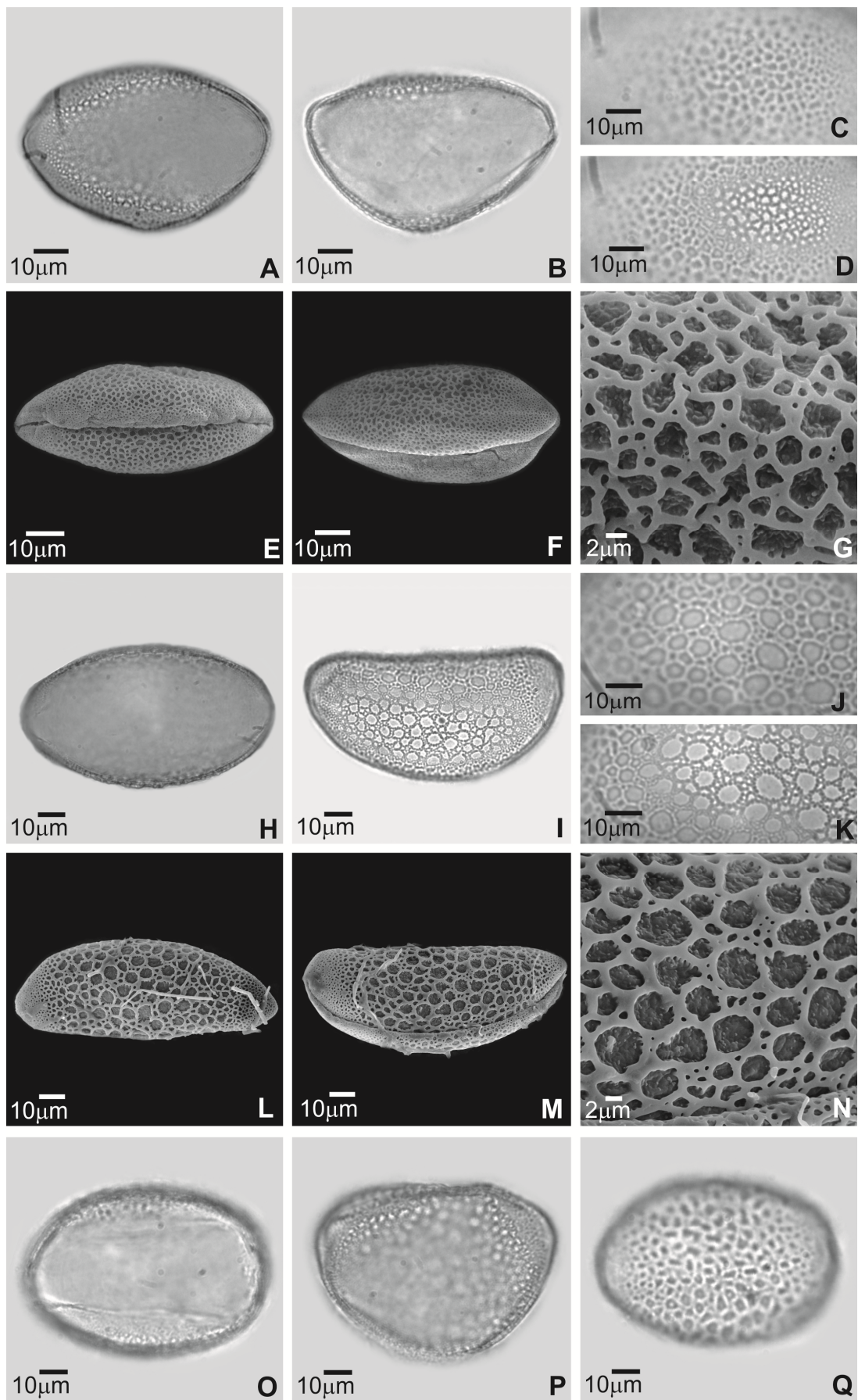


Figura 4: Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Hippeastrum*. A: *H. canastrense* – A. detalhe da superfície (MEV); B-H: *H. cipoanum* – B. vista polar, C. vista equatorial, D,E. análise de L.O., F. vista polar face distal: abertura (MEV), G. vista equatorial (MEV), H. detalhe da superfície (MEV); I-O: *H. elegans* – I. vista polar, J. vista equatorial, K,L. análise de L.O., M. vista polar face proximal (MEV), N. vista equatorial: abertura (MEV), O. detalhe da superfície (MEV); P-Q: *H. glaucescens* – P. vista polar, Q. vista equatorial.

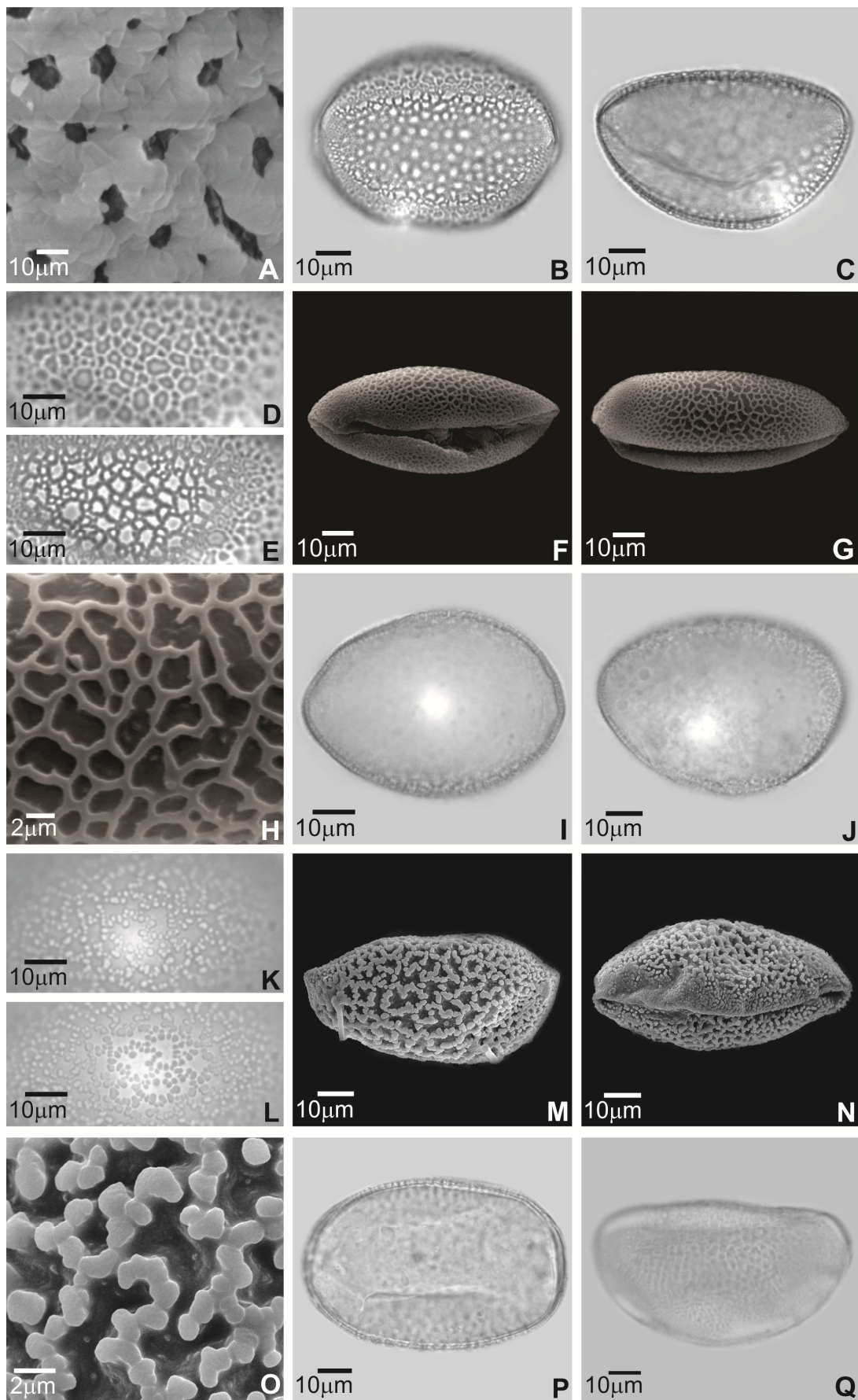


Figura 5: Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Hippeastrum*. A-D: *H. glaucescens* – A,B. análise de L.O., C. vista equatorial: abertura (MEV), D. detalhe da superfície (MEV); E-J: *H. goianum* – E. vista polar, F. vista equatorial, G,H. análise de L.O., I. vista polar face distal: abertura (MEV), J. detalhe da superfície (MEV); K-Q: *H. morelianum* – K. vista polar, L. vista equatorial, M,N. análise de L.O., O. vista polar face distal: abertura (MEV), P. vista equatorial (MEV), Q. detalhe da superfície (MEV); R: *H. papilio* – R. vista polar.

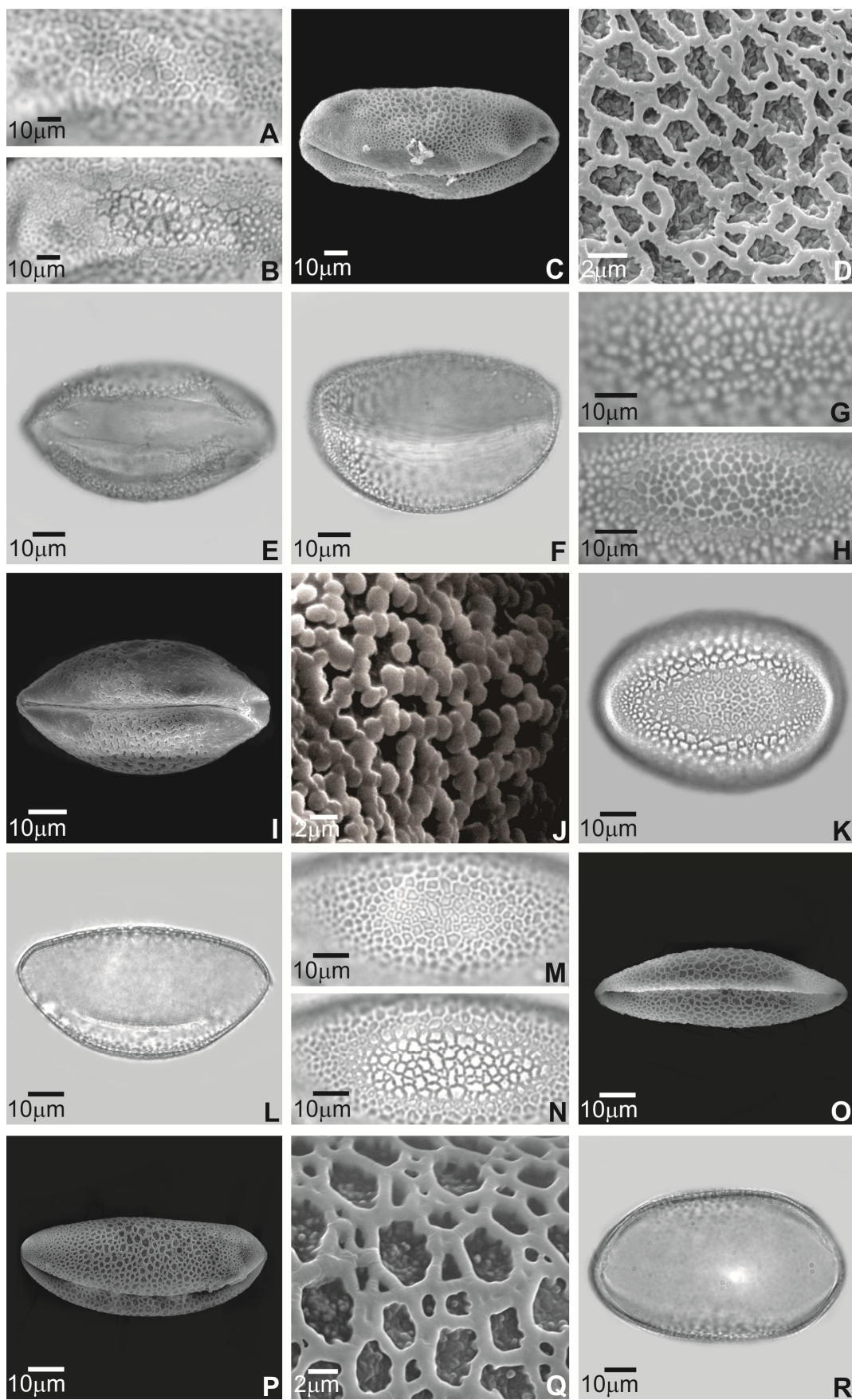


Figura 6: Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Hippeastrum*. A-F: *H. papilio* – A. vista equatorial, B, C. análise de L.O., D. vista polar face distal: abertura (MEV), E. vista equatorial (MEV), F. detalhe da superfície (MEV); G-J: *H. puniceum* – G. vista polar, H. vista equatorial, I. vista equatorial (MEV), J. detalhe da superfície (MEV); K-Q: *H. reginae* – K. vista polar, L. vista equatorial, M, N. análise de L.O., O. vista polar face distal: abertura (MEV), P. vista polar face proximal (MEV), Q. detalhe da superfície (MEV).

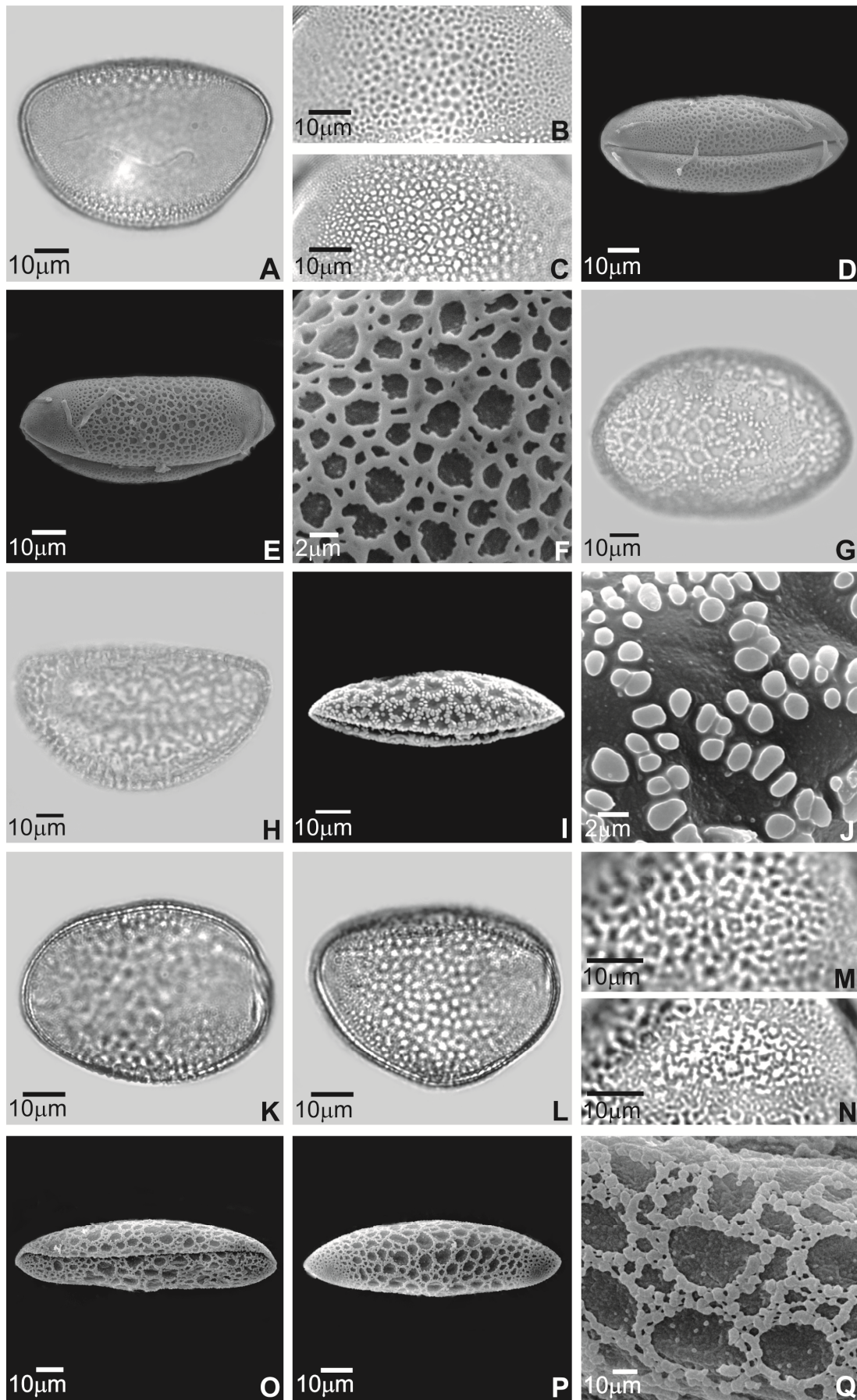
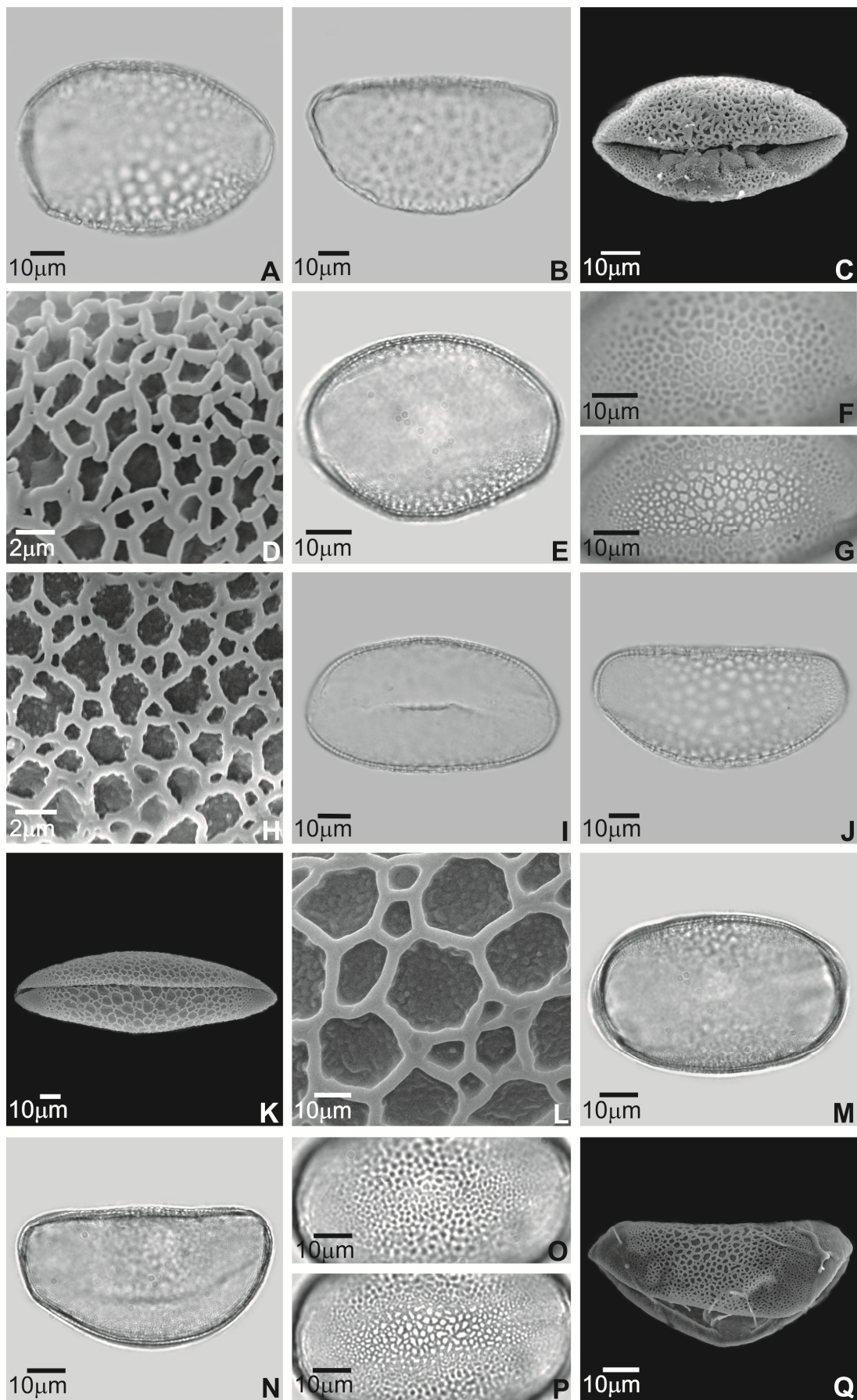


Figura 7: Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Hippeastrum*. A-E: *H. reticulatum* – A. vista polar, B. vista equatorial, C. vista polar face distal: abertura (MEV), D. detalhe da superfície (MEV); E-H: *H. santacatarina* – E. vista polar, F,G. análise de L.O., H. detalhe da superfície (MEV); I-L: *H. striatum* – I. vista polar, J. vista equatorial, K. vista polar face distal: abertura (MEV), L. detalhe da superfície (MEV); M-Q: *H. stylosum* – M. vista polar, N. vista equatorial, O,P. análise de L.O., Q. vista equatorial (MEV).



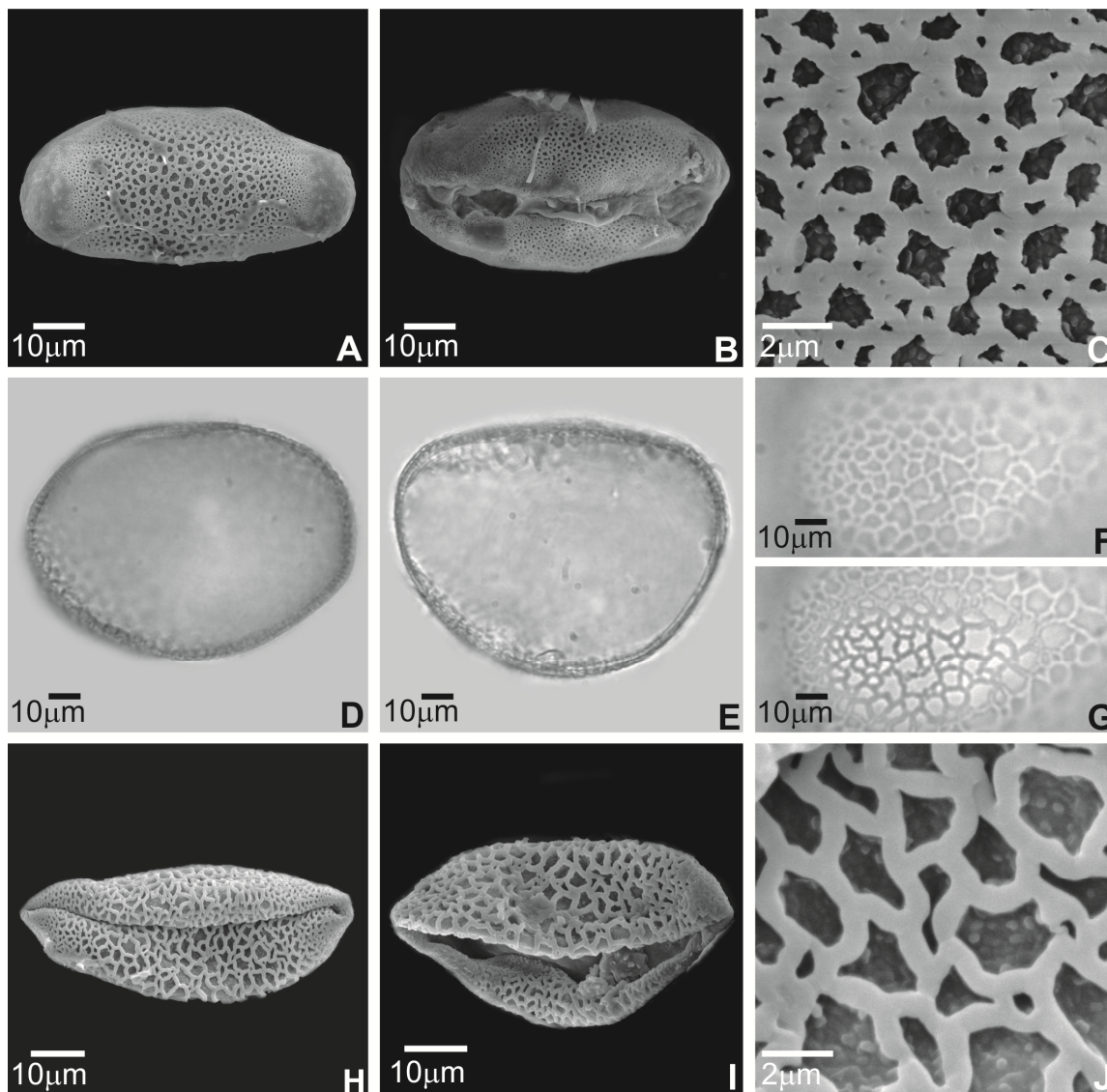


Figura 8: Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Hippeastrum*. A-C: *H. stylosum* – A. vista polar face proximal (MEV), B. vista polar face distal: abertura (MEV), C. detalhe da superfície (MEV); D-J: *H. vittatum* – D. vista polar, E. vista equatorial, F,G. análise de L.O., H. vista polar face distal (MEV), I. vista equatorial (MEV), J. detalhe da superfície (MEV).

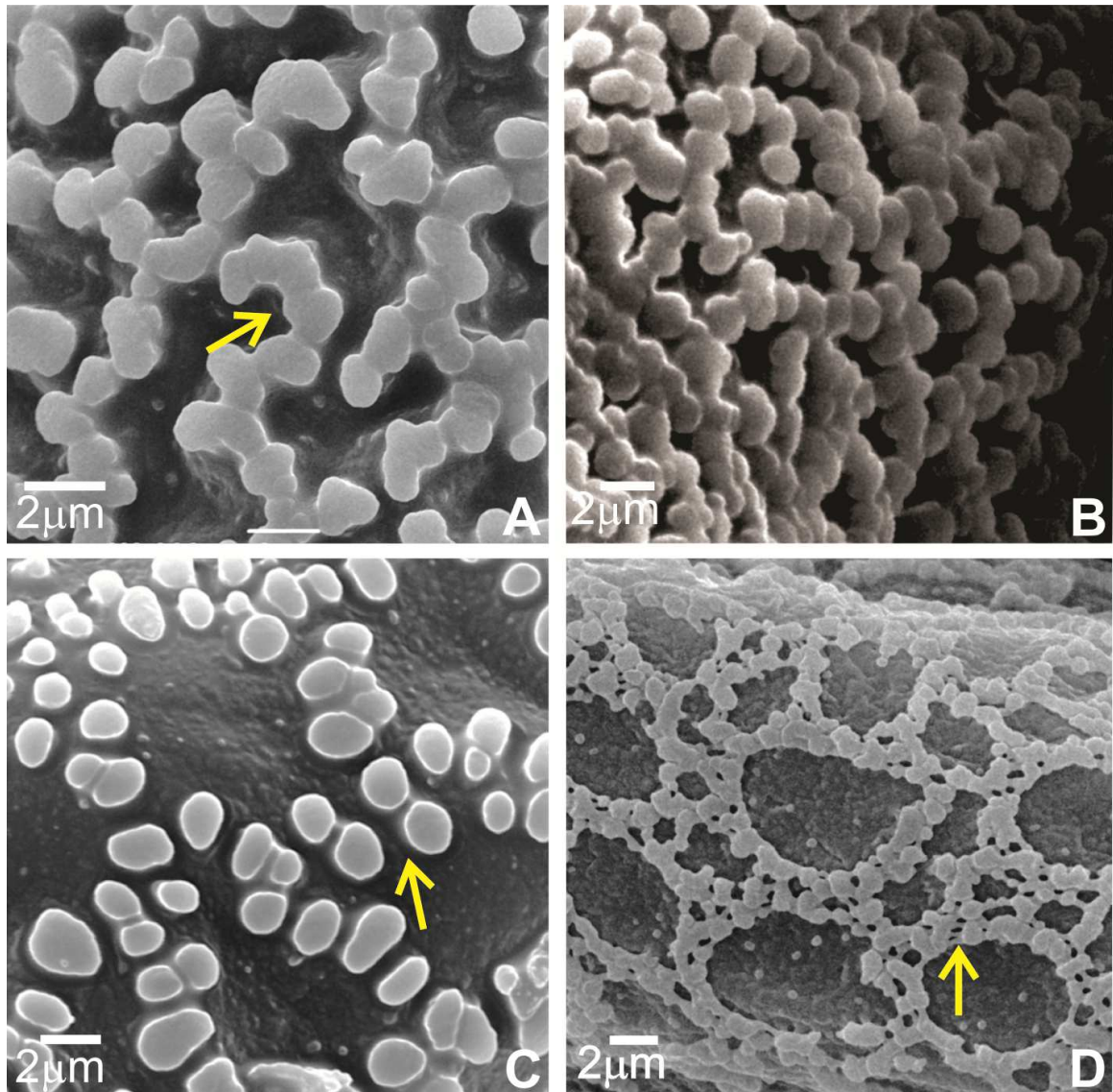


Figura 9: Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Hippeastrum*. A: *H. elegans* – detalhe da superfície: “cordões” (seta) (MEV), B: *H. goianum* – detalhe da superfície, C: *H. puniceum* – detalhe da superfície: fileira dupla (seta) (MEV), D: *H. reginae* – detalhe da superfície: “pontes” de exina (seta) (MEV).

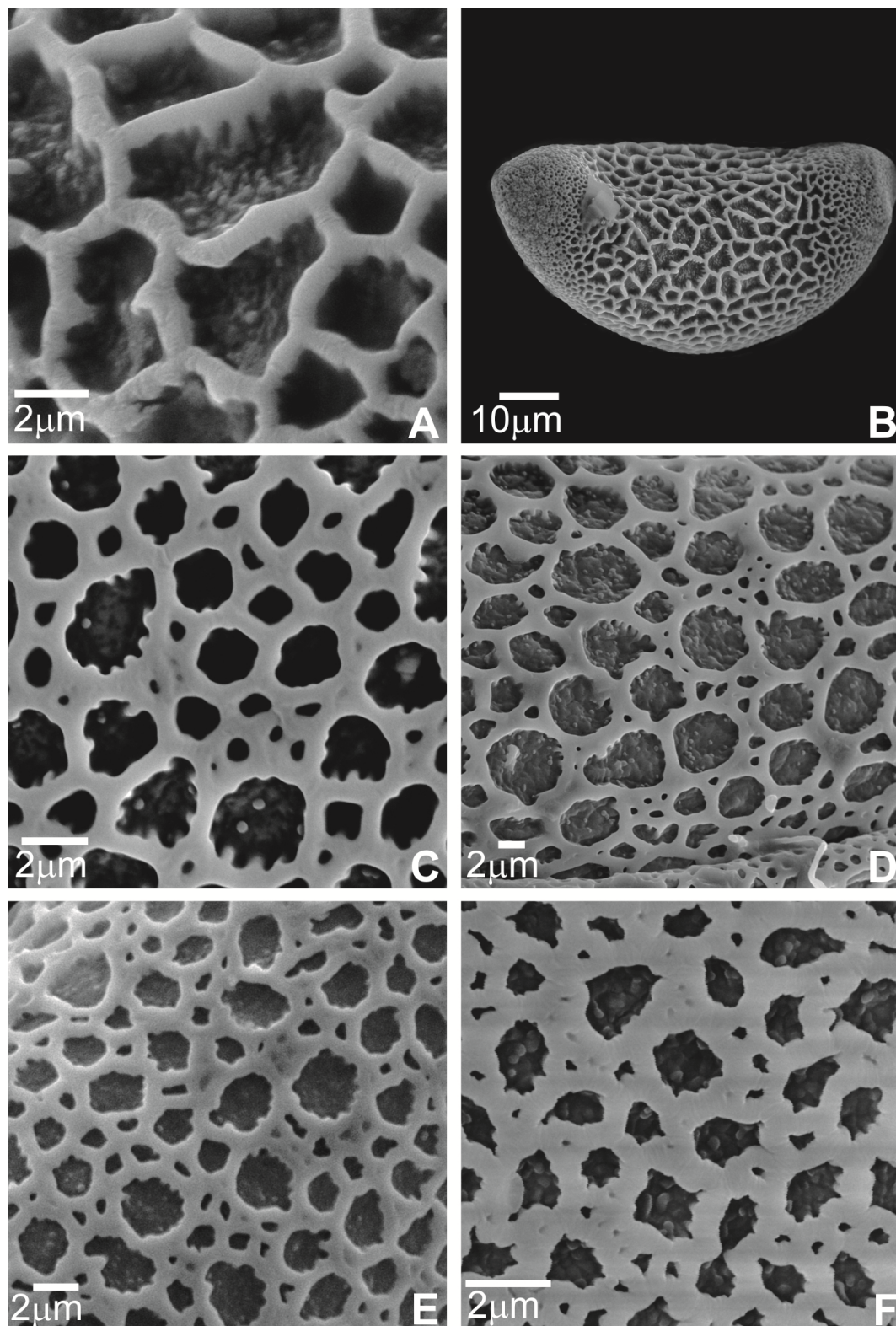


Figura 10: Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Hippeastrum*. A-B: *H. aulicum* var. *glaucophyllum* – A. detalhe da superfície (MEV), B. vista polar face proximal (MEV), C: *H. aulicum* – detalhe da superfície, D: *H. calytratum* – detalhe da superfície (MEV), E: *H. papilio* – detalhe da superfície (MEV) F: *H. stylosum* – detalhe da superfície (MEV).

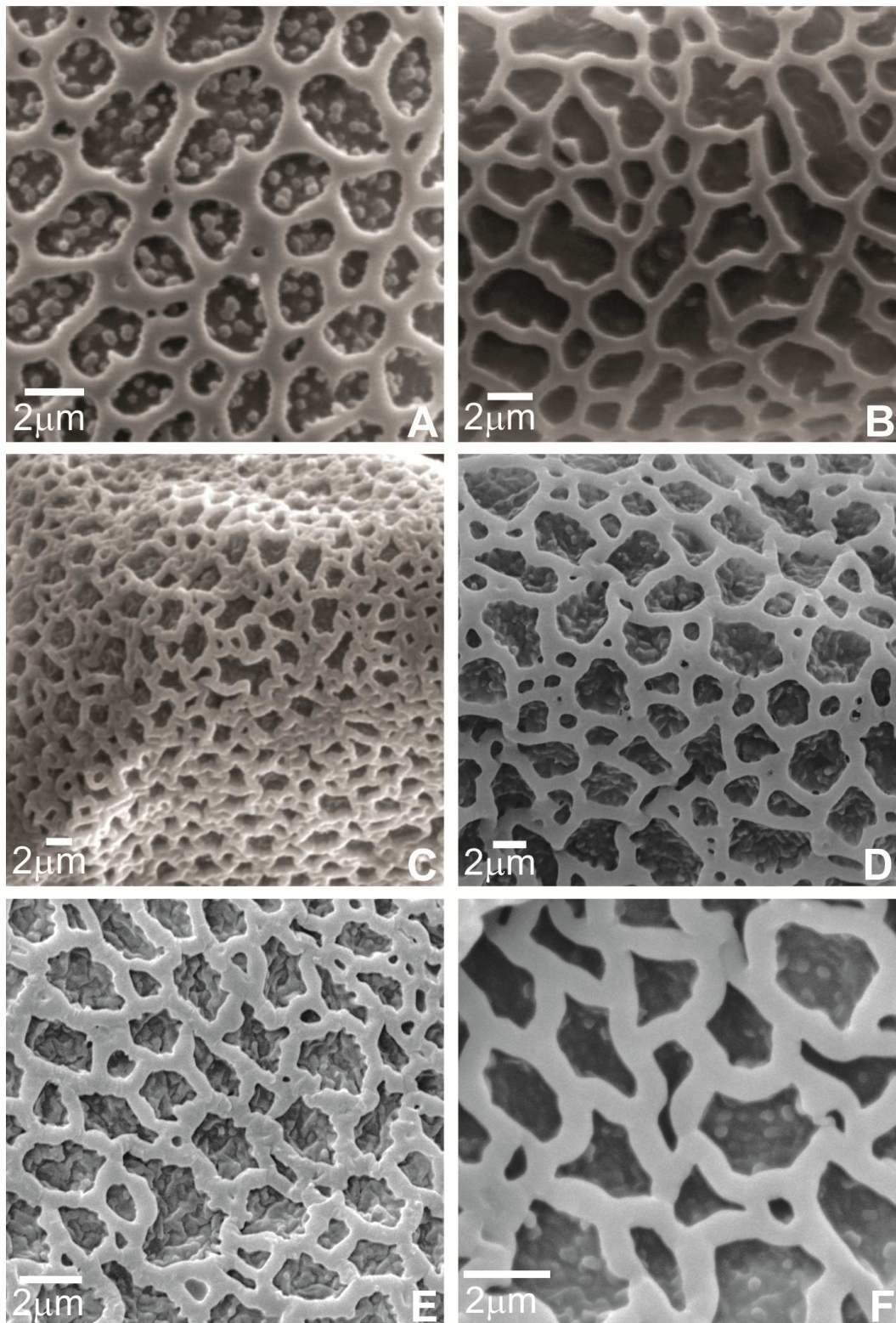


Figura 11: Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Hippeastrum*. A: *H. angustifolium* – detalhe da superfície (MEV); B: *H. cipoanum* – detalhe da superfície (MEV); C: *H. blossfeldiae* – detalhe da superfície (MEV); D: *H. breviflorum* – detalhe da superfície; E: *H. glaucescens* - detalhe da superfície (MEV); F: *H. vittatum* – detalhe da superfície (MEV).

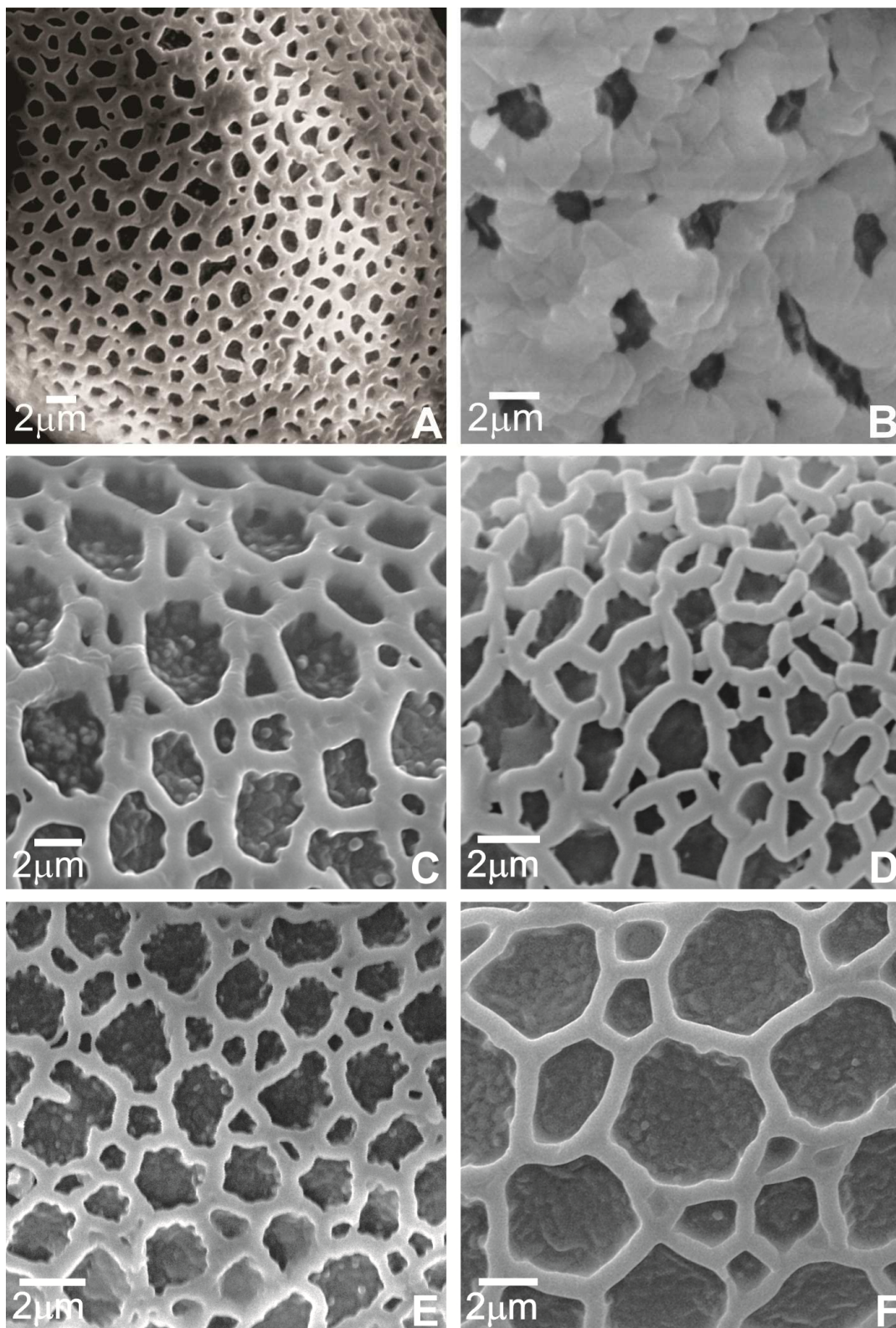


Figura 12: Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Hippeastrum*. A: *H. brasilianum* – detalhe da superfície (MEV); B: *H. canastrense* – detalhe da superfície (MEV); C: *H. morelianum* – detalhe da superfície (MEV); D: *H. reticulatum* – detalhe da superfície; E: *H. santacatarina* - detalhe da superfície (MEV); F: *H. striatum* – detalhe da superfície (MEV).

Figura 13: Dendrograma de dados quantitativos de espécies de *Hippeastrum* por análise hierárquica de aglomeração (AHC). Espécies indicadas pelas 3 primeiras letras do epíteto específico. ▲ *Omphalissa*, ▲ *Macropodastrum*, ▲ *Aschamia*, ▲ *Lais*, ▲ *Caephaleaeon* (subgêneros) e ▲ espécies não classificadas em subgêneros.

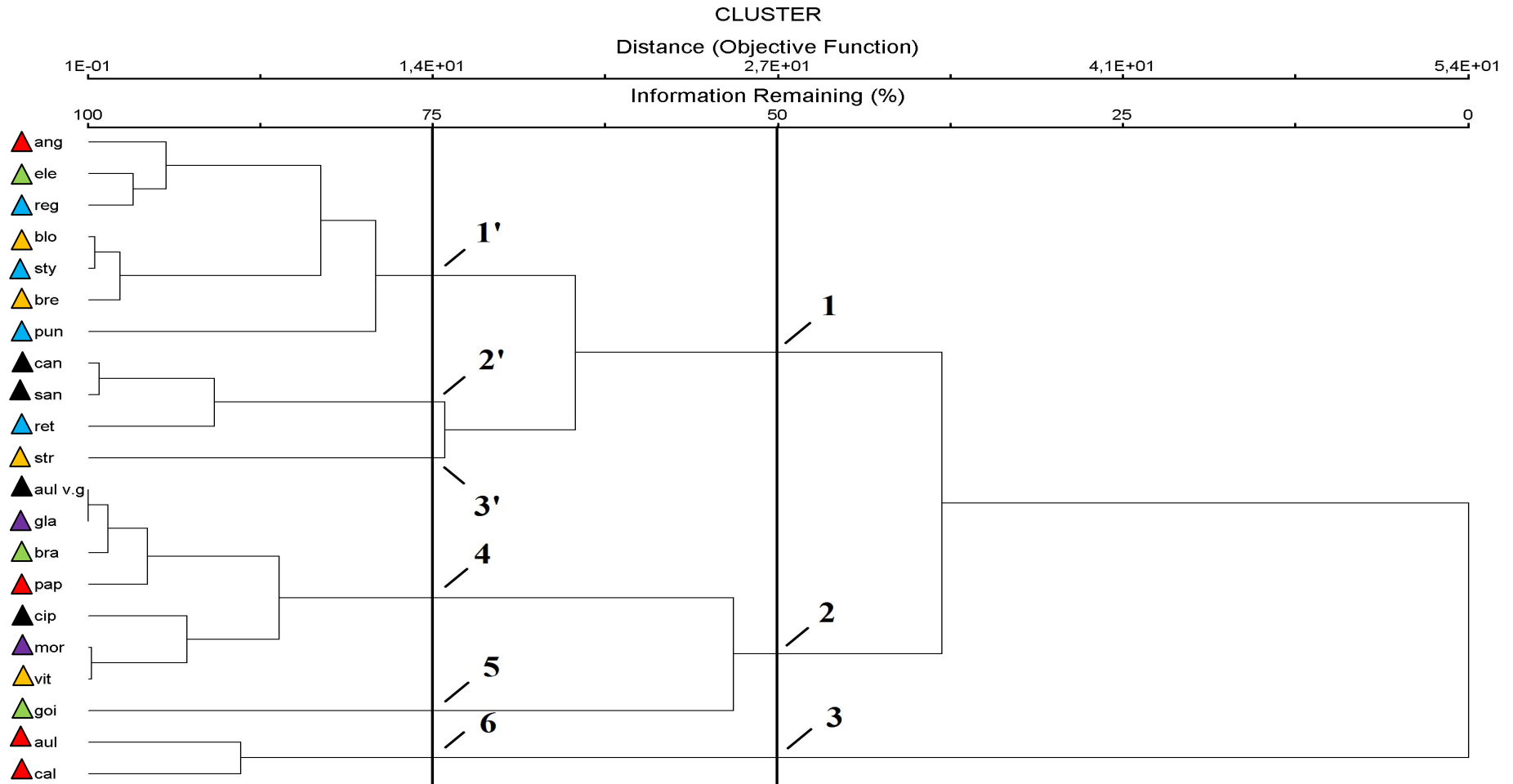
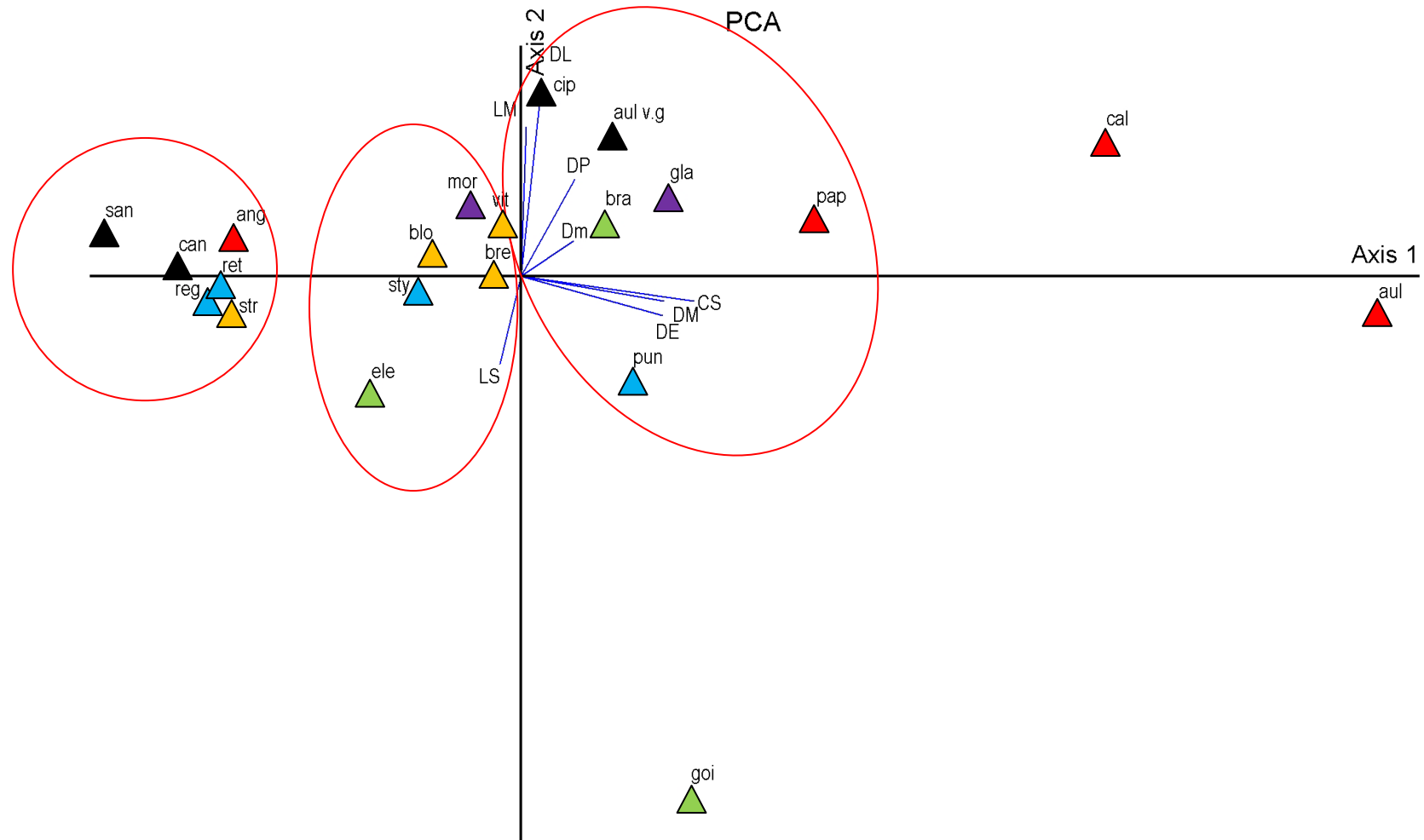


Figura14: Gráfico bidimensional representando as espécies do gênero *Hippeastrum* em PCA.



Apendice 1.

Hippeastrum angustifolium Pax – **Brasil. Rio Grande do Sul:** Quaraí, 05/11/1995, J.H.A. Dutilh* 1986 *et al.* (UEC). Santana do Livramento, BR 293, Km 546, 05/11/1995, J.H.A. Dutilh 1987 *et al.* (UEC). Santana do Livramento, Vila Palomas, 03/11/1995, J.H.A. Dutilh 2024 *et al.* (UEC). **São Paulo:** Avaré, 23/10/2001, J.H.A. Dutilh s.n. (UEC 170541). *Hippeastrum aulicum* (Ker Gawl.) Herb. – **Brasil. Paraná:** Campina Grande do Sul, Campininha, 30/04/1961, G.Hatschbach s.n. (HB16892). **Rio de Janeiro:** Teresópolis, Serra dos Órgãos, 12/01/1960, M.R. Rodrigues s.n. (R 209581). **São Paulo:** Biritiba Mirim, 15/05/2008, M. Peixoto* 114 (UEC). São Paulo, Serra da Cantareira, 21/05/1991, J. B. Baitello 409 (SPSF).

Hippeastrum aulicum var. glaucophyllum (Hook.) Herb. – **Brasil. Espírito Santo:** Castelo, Parque Estadual do Forno Grande, 02/05/2008, M. M. Saavedra* 1075 (UEC).

Hippeastrum blossfeldiae (Traub & L.J.Doran) Van Scheepen. – **Brasil. São Paulo:** Ubatuba, Picinguaba, 10/11/1993, E. Martins 29402 (UEC).

Hippeastrum brasilianum (Traub & L. J. Doran) Dutilh – **Brasil. Espírito Santo:** Castelo, Parque Estadual do Forno Grande, 06/08/2013, R. C. Forzza 7655 (RB). Castelo, Trilha para o Forninho, 14/10/2008, R. C. Forzza 5322 (RB). **Rio de Janeiro:** Santa Maria Madalena, Morro da Torre, 14/07/2007, R. C. Forzza 4704 (RB). **São Paulo:** Campinas, IAC (Coleção Seção Citologia), 09/09/1991, J. H. A Dutilh* 25674 *et al.* (UEC). *Hippeastrum breviflorum* Herb. – **Brasil. Santa Catarina:** Passo de Torres, 09/12/1993, A. Sciamarelli* 1248 (UEC). *Hippeastrum calyptratum* Herb. – **Brasil. Rio de Janeiro:** Nova Friburgo, Lumiar R. S. Candido* 147 (RFA).

Hippeastrum canastrense Dutilh & R. S. Oliveira – **Brasil. Minas Gerais:** São Roque de Minas, Parque Nacional da Serra da Canastra, 20/03/1998, A.C. Araújo* *et al.* 957

(UEC). *Hippeastrum cipoanum* (Ravenna) Meerow. – **Brasil. Minas Gerais:** Conceição do Mato Dentro, Santana do Riacho, 23/10/1982, N. M. Castro s.n. (UEC 144266). Capitólio, 05/11/2008, Ferre 138 (UEC). Diamantina, 14/11/2010, M.M. Toledo 1775 (UEC). Contagem, Fazenda Galheiros, 08/12/2012, J. Lovo* 415 (RB). *Hippeastrum elegans* (Spreng.) H. E. Moore – **Brasil. Bahia:** Abaíra, Campo do Cigano, 25/02/1992, P. T. Sano 52316 (UB). **Distrito Federal:** Brasília, Estação Experimental de Biologia da UnB, 1972, E. P. Heringer* 12207 (UB). **Minas Gerais:** Jaíba, Parque Estadual Furados, 22/10/2003, R.S. Oliveira s.n. (UEC 174107). **Pernambuco:** Estação Experimental de Biologia, 05/09/1974, E. P. Heringer 12055 (UB). *Hippeastrum glaucescens* (Mart.) Herb. – **Brasil. Paraná:** Castro, 15/08/2008, R. S. Oliveira* s.n. *et al.* (UEC 170594). **Rio de Janeiro:** Rio de Janeiro, Reserva Biológica de Jacarepaguá, 24/08/1965, H. E. Strang 659 (GUA). Rio de Janeiro, Recreio dos Bandeirantes, 13/09/1968, M. Honorina 50 (R). **São Paulo:** Pedregulho, Morro Solteiro, 18/08/2000, J.H.A. Dutilh, s.n. (UEC 170598). *Hippeastrum goianum* (Ravenna) Meerow - **Brasil. Distrito Federal:** Córrego Taquara, 01/09/1999, M. L. Fonseca* 2050 (RB). Brasília, Ceilândia, 29/09/2005, J. P. do Amaral 9 (UB). Brasília, 22/08/1968, N. Lima 11.741 (UB). **Tocantins:** Filadelfia, 21/09/2009, A. A. Santos 3200 *et al.* (UB). *Hippeastrum morelianum* Lem.– **Brasil. Minas Gerais:** Lavras, 22/11/1988, J. H. A. Dutilh 215 (UEC). Itutinga, 11/12/2000, J. H. A. Dutilh s.n. (UEC 174129). **Rio de Janeiro:** Resende, Agulhas Negras, 30/05/1969, D. Sucre* 5136 (RB). Rio de Janeiro, Parque Nacional do Itatiaia, 14/09/2013, R. S. Candido 150 (RFA). *Hippeastrum papilo* (Ravenna) Van Scheepen – **Brasil. Rio Grande do Sul:** Pedras Altas, 10/09/2003, H. Lorenzi 2698 (ICN). Caxias do Sul, 01/11/2003, J. P. de Andrade s.n. (ICN149428). **São Paulo:** Holambra, 05/09/2005, T. N. Lucon* s.n. (IAC 46818).

Hippeastrum puniceum (Lam.) Kuntze – **Brasil. Espírito Santo:** Anchieta, 10/09/1987, A. P. V. Paganotto 1039 (VIES). **Rio de Janeiro:** Campos Dos Goytacazes, Rodovia Campos-Farol, 18/09/2008, R. S. Candido* 104 *et al.* (RFA). Maricá, Praia da Barra, 25/09/2008, R. S. Candido 105 *et al.* (R). Maricá, Restinga de Itaipuaçu, 31/05/2007, R. C. Lopes 304 (RFA). *Hippeastrum reginae* (L.) Herb.– **Brasil. Distrito Federal:** Brasília, Estação Experimental de Biologia da UnB, 21/09/1974, E. P. Heringer* 12880 (UB). Brasília, 19/09/2006, A. C. Amaral 32 (UB). Brasília, 23/06/1976, E. P. Heringer 15889 (UB). **Goiás:** Colinas do Sul, 18/12/1996, L. B. Bianchetti 1502 *et al.* (UB). *Hippeastrum reticulatum* (L' Her.) Herb. – **Brasil. Rio de Janeiro:** Rio de Janeiro, Sepetiba, Bahia de Sepetiba, Ilha Furtada, 10/02/1969, D. Sucre* 4723 (RB). Angra dos Reis, Ilha Grande, Abraão, 08/08/1995, C. A. L. de Oliveira 1042 (GUA). Angra dos Reis, Ilha Grande, trilha para Parnaióca, 20/04/2001, F. Pinheiro 783 *et al.* (HB). Cabo Frio, Fazenda José Gonçalves, 22/10/1997, A. Lobão 273 (RB). *Hippeastrum santacatarina* (Traub) Dutilh – **Brasil. Rio Grande do Sul:** Vacaria, Passo do Socorro Encanado, 04/11/2006, M. B. Medeiros 11055 (UB). São Francisco de Paula, 01/03/2006, R. B. Giordani s.n. (ICN 149429). **Santa Catarina:** Capão Alto, 19/10/2006, N. F. Barbosa* 1155 *et al.* (UB). *Hippeastrum striatum* (Lam.) H. E. Moore – **Brasil. Rio de Janeiro:** Rio de Janeiro, Restinga de Grumari, 10/10/2007, R. S. Candido* s.n. (RFA 33705). Restinga de Grumari, 01/10/2008, R. S. Candido 110 *et al.* (R). Paraty, Praia do Sono, 12/12/2008, R. S. Candido 136 *et al.* (RFA). Rio Das Ostras, Restinga da Praia das Areias Negras, 28/08/2008, R. S. Candido 86 *et al.* (RFA). *Hippeastrum stylosum* Herb. – **Brasil. Bahia:** Nova Itarana, 30/08/1996, R. M. Harley 28211 (HUEFS). *Hippeastrum vittatum* (L'Her.) Herb. –

Brasil. Rio Grande do Sul: São Leopoldo, Morro das Cabras, 31/10/1966, A. Sehnem
8946 (PACA).

Capítulo 2:

**Implicação da morfologia polínica na delimitação específica
de representantes da subtribo *Zephyranthinea sensu Meerow*
(Amaryllidoideae-Amaryllidaceae)**

RESUMO

Neste estudo foram analisados os grãos de pólen de nove espécies do gênero *Habranthus* Herb. e quatro do gênero *Zephyranthes* Herb. ambos compõem a subtribo Zephyranthinea e mostram um centro de diversidade no México que se estende até as Antilhas passando pelos Estados Unidos. No Brasil *Habranthus* está representado por 18 espécies e *Zephyranthes* por 17 espécies ocorrendo em todas as regiões do país. O objetivo foi avaliar se a morfologia polínica dos representantes destes gêneros possuem divergências morfológicas que forneçam subsídios para a melhor delimitação e detalhamento dos gêneros e espécies subordinadas. Os grãos de pólen após acetólise láctica a 60% foram analisados, medidos, descritos e fotomicrografados, e grãos de pólen não acetolisados foram analisados por meio de microscopia eletrônica de varredura. As espécies apresentaram grãos de pólen médios a grandes, em mônades, monossulcados, sulcos recobertos por membrana ornamentada e/ou opérculo, contorno elíptico a esferoidal em vista polar, sexina reticulada, birreticulada ou pilada, as espécies que exibiram sexina pilada foram separadas pelas características e organização dos pilos e os demais táxons com exina reticulada foram diferenciados pelas características dos muros, lumens e columelas, desta forma foi possível a elaboração de uma chave palinológica. As análises multivariadas (PCA e Cluster) evidenciaram que a morfologia polínica apresentou divergências morfológicas entre as espécies dos diferentes gêneros, no entanto, os caracteres polínicos entre os gêneros *Habranthus* e *Zephyranthes* são, em geral, bastante uniformes, devido ao compartilhamento de muitos atributos, embora a presença de opérculo só tenha sido observada em *Habranthus*. Desta forma, os atributos polínicos foram informativos à circunscrição e detalhamento das espécies em cada um dos gêneros.

Palavras-chave: *Habranthus*, Palinologia, Pólen, Taxonomia, *Zephyranthes*

ABSTRACT

In this study the pollen grains of nine species of the genus *Habranthus* Herb were analyzed, and four of the genus *Zephyranthes* Herb, both make up the subtribe Zephyranthinea and show a center of diversity in Mexico that extends to the Antilles passing through the United States. In Brazil *Habranthus* is represented by 18 species and *Zephyranthes* by 17 species occurring in all regions of the country. The objective was to evaluate if the pollen morphology of the representatives of these genera have morphological divergences that provide subsidies for the better delimitation and detailing of the subordinate genera and species. Pollen grains after 60% lactic acetolysis were analyzed, measured, described and photomicrographed, and non-acetolysed pollen grains were analyzed by scanning electron microscopy. The species presented medium to large pollen grains, in monads, monosulcated, furrows covered by ornate membrane and / or operculum, elliptical contour to spheroidal in polar, reticulated sexine, biregulated or pilada, the species that exhibited sexina pilada were separated by the characteristics and the organization of the piles and the other taxa with reticulated exina were differentiated by the characteristics of the walls, lumens and columelles, in this way it was possible to elaborate a palynological key. The multivariate analyzes (PCA and Cluster) showed that the pollen morphology presented morphological divergences between the species of the different genera, however, the pollen characters between the genera *Habranthus* and *Zephyranthes* are generally quite uniform due to the sharing of many attributes, although the presence of operculum has only been observed in *Habranthus*. In this way, the pollen attributes were informative to the circumscription and detail of the species in each of the genera.

Keywords: *Habranthus*, Palynology, Pollen, Taxonomy, *Zephyranthes*

1. INTRODUÇÃO

Segundo Meerow *et al.* (1999) a subtribo Zephyranthinea é composta pelos gêneros *Habranthus* Herb., *Sprekelia* Heist. e *Zephyranthes* Herb., está subordinada a tribo Hippeastreae e as relações dentro do subclado que a representa ainda não estão bem resolvidas (Fig. A).

Habranthus e *Zephyranthes* mostram um centro de diversidade no México e se estende até as Antilhas e sudoeste e sudeste dos Estados Unidos (Meerow & Snijman 1998). No Brasil, *Habranthus* está representado por 18 espécies destas 10 endêmicas e *Zephyranthes*, por 17 espécies com apenas uma endêmica ocorrendo em todas as regiões do país (Dutilh & Oliveira 2015) e não há registro de ocorrência do gênero *Sprekelia* em território brasileiro.

Ao longo do tempo a circunscrição dos gêneros *Habranthus* e *Zephyranthes* foi alvo de controvérsias em relação ao estabelecimento de caracteres diagnósticos para cada um deles.

Em 1837 Herbert fez uma revisão da família Amaryllidaceae e considerou *Habranthus* e *Zephyranthes* como gêneros distintos. No mesmo ano Endlicher (1837) incluiu estes dois gêneros como sinônimos de *Hippeastrum* Herb..

Alguns autores consideravam as espécies descritas sob o gênero *Habranthus* como pertencentes parte a *Hippeastrum* e parte a *Zephyranthes* (Baker 1878, 1888; Grisebach 1879; Pax & Hoffmann 1930; Traub & Moldenke 1949). Enquanto, segundo Bentham (1883) *Habranthus* seria sinônimo do gênero *Zephyranthes*.

Sealy (1937), em sua revisão, considerou *Hippeastrum*, *Zephyranthes* e *Habranthus* como gêneros independentes usando, para delimitá-los, os mesmos caracteres florais utilizados por Herbert (1837).

Para Arroyo (1981) poder-se-ia considerar *Habranthus* e *Zephyranthes* como um único gênero, por possuírem anatomia muito parecida e algumas sobreposições em caracteres morfológicos florais.

Já em 1990, Arroyo, considerou confusa a delimitação de *Habranthus* bem como a circunscrição das espécies, principalmente por apresentarem folhas que aparecem após a floração. Assim, algumas descrições foram baseadas apenas na parte reprodutiva, a partir de material herborizado, que perde a cor e não permite a observação da posição dos estames, que tem valor taxonômico. O mesmo pode ser dito de *Zephyranthes*.

Os trabalhos que tratam dos gêneros não o fazem de forma global, ou seja, analisam apenas algumas espécies sem, contudo, promoverem uma revisão genérica.

A circunscrição mais atual dos gêneros *Habranthus* e *Zephyranthes* levou em consideração a simetria da flor, sendo *Zephyranthes* caracterizado por apresentar flores actinomorfas, eretas, com estames eretos de mesmo comprimento, enquanto *Habranthus* teria flores zigomorfas, declinadas, estames declinados e de diferentes comprimentos (Dutilh & Assis 2005).

Porém ainda há uma grande dúvida entre os estudiosos da família sobre a separação morfológica entre esses dois gêneros devido à similaridade na estrutura floral, ocorrência simpátrica e falta de caracteres satisfatórios para separá-los. Isso leva a diferentes delineamentos genéricos e infragenéricos e multiplicidade de transferências de espécies entre *Habranthus* e *Zephyranthes* (Amaral-Lopes & Cavalcanti 2015).

A delimitação de *Habranthus* e *Zephyranthes* ainda carece de maior detalhamento, o que deve começar no nível das espécies (Oliveira 2006).

Com relação ao estudo palinológico das espécies de *Habranthus*, só há referência na literatura para o trabalho realizado por Alves-Araújo & Santos (2007),

onde apresentam a caracterização palinológica de duas espécies do gênero ocorrentes no nordeste brasileiro.

A respeito de *Zephyranthes* são encontrados alguns trabalhos que tratam a morfologia polínica de espécies isoladas (Sharma 1967, Huang 1972, Rao & Ling 1974 e Alves-Araújo & Santos 2007).

Estudos envolvendo o grão de pólen de representantes dos gêneros *Habranthus* e *Zephyranthes* tratam na maioria das vezes de viabilidade polínica e polinização (Fernández *et al.* 2013, Chowdhury & Hubstenberger 2006).

O presente trabalho tem como objetivo caracterizar e avaliar sob o aspecto palinológico se os atributos polínicos dos representantes da subtribo Zephyranthinea apresentam divergências que possibilitem suportar esta classificação, e se a morfologia polínica dos representantes dos gêneros *Habranthus* e *Zephyranthes* apresenta divergências morfológicas que forneçam subsídios para a melhor delimitação e detalhamento destes gêneros.

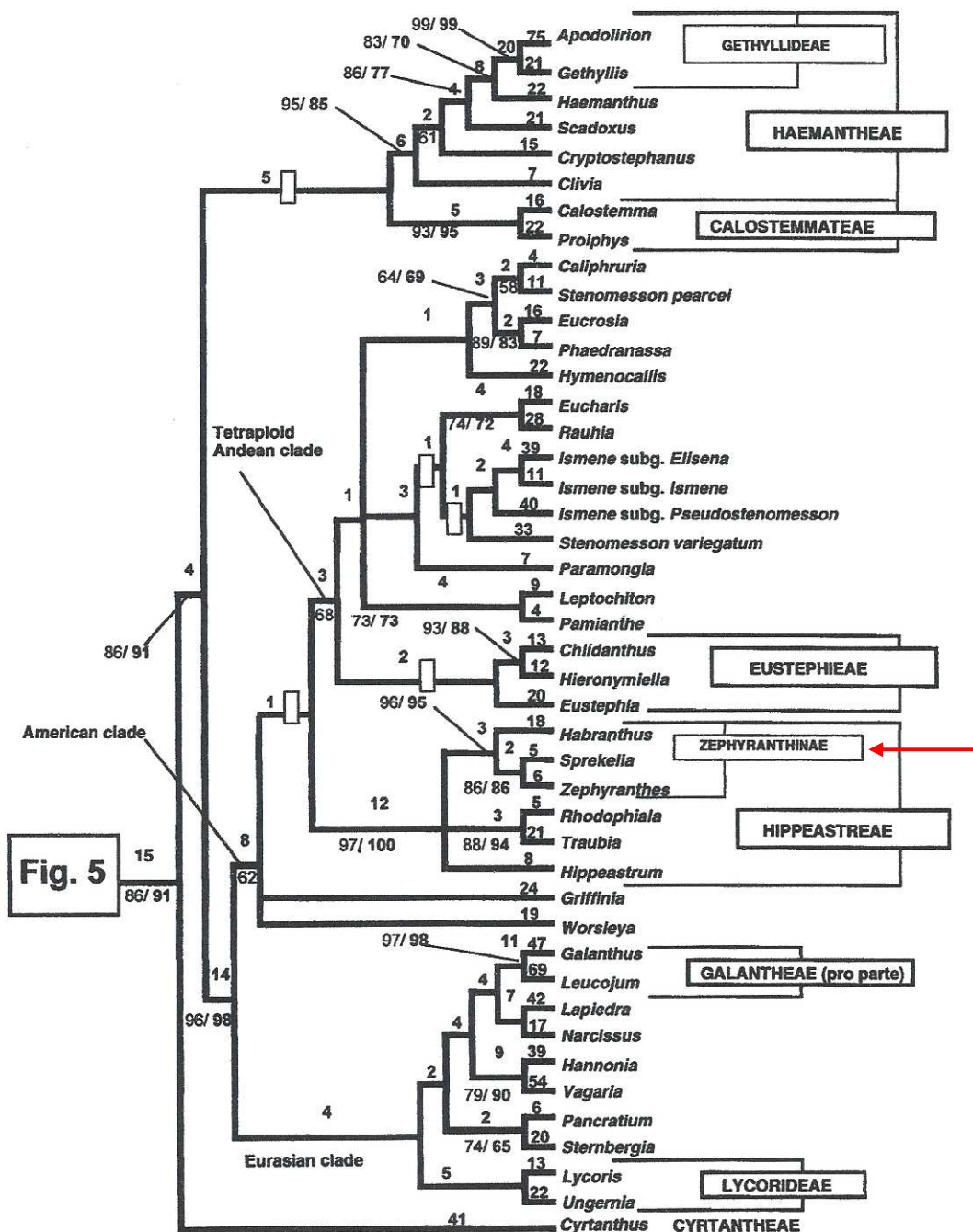


Figura A. Inferência filogenética de Amaryllidaceae com sequência combinada de *rbcL* e *trnL-F*. Ilustração adaptada do trabalho de Meerow *et al.* (1999), representando 1 das 5000 mil árvores obtidas através de análise de parcimônia. Números sobre os ramos indicam suporte de “bootstrap”.

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. O grupo de estudo

Estudos palinológicos foram realizados em nove espécies do gênero *Habranthus* e quatro do gênero *Zephyranthes* circunscritos na subtribo Zephyranthinea, pertencente a tribo Hippeastrea, a fim de, analisar os atributos polínicos e avaliar a sua importância na delimitação destes gêneros. Procurou-se analisar o maior número possível de espécies de cada gênero para melhor representá-los. Foi fator limitante a disponibilidade de material nos herbários assim como as condições ideais para coleta das flores/anteras.

2.2. Levantamento das coleções nos Herbários

Realizou-se um levantamento prévio da distribuição da coleção dos gêneros através do *Species Link* (sblink.cria.org.br/), com o objetivo de definir os principais herbários a serem visitados ou terem sua coleção solicitada para empréstimo. A partir dessa relação foram priorizados os herbários com maior representatividade e variedade de espécies da tribo Hippeastreae.

2.3. 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 HEPH, PACA, RB, UB e UEC, as siglas estão de acordo com o Index Herbariorum (Thiers continuamente atualizado). Priorizou-se material com distribuição no território brasileiro e identificado pelos taxonomistas da família, afim de, evitar equívocos durante as análises palinológicas. 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 morfométrica dos espécimes. O material examinado é discriminado em ordem alfabética para estado e município. Em seguida são adicionadas informações de localidade, data de coleta, nome e número do coletor e sigla do herbário entre parênteses.

2.4. 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), devido a pouca resistência ou à fragilidade dos grãos de pólen ao método da acetólise tradicional.

Para a montagem das lâminas foi utilizada gelatina glicerizada preparada segundo Kissler (1935 *Apud* Erdtman 1952) e cortada em pequenos cubos. Foram colocadas esferas de massa de modelar (ca. 1 mm de diâm.) 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.

2.5. 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. 3 minutos, sendo posteriormente,

analisado em aparelho JEOL JSM 6390 LV do Laboratório de Microscopia Eletrônica de Invertebrados do Museu Nacional/UFRJ e em aparelho Zeiss DMS 960, localizado no Laboratório Ultraestrutura Celular Hertha Meyer do Instituto de Biofísica/UFRJ.

As eletromicrografias de cada espécie foram organizadas em pranchas elaboradas no programa CorelDraw 17. A chave polínica será elaborada com base nas características observadas em microscopia de luz e eletrônica de varredura.

2.6. Medidas

Do material padrão foram mensurados grãos do pólen em vistas polar e equatorial, tomados aleatoriamente, em pelo menos três lâminas a fim de homogeneizar a amostra (Salgado-Labouriau 1973). Foram feitas, ao acaso, 25 medidas em microscópio, dos diâmetros maior (DM) e menor (Dm) quando em vista polar, 10 medidas dos diâmetros polar (DP) e equatorial (DE), quando em vista equatorial; das camadas da exina, da abertura, do diâmetro do lúmen do retículo, do material de comparação. Devido à queda do grão de pólen na lâmina, preferencialmente, em vista polar, tornou-se difícil a obtenção de grãos de pólen em vista equatorial, razão pela qual procurou-se obter apenas 10 medidas desta vista. De cada espécime foi montado um mínimo de três lâminas permanentes com os grãos de pólen acetolisados de forma a uniformizar 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 (Melhem *et al.* 2003). As formas e a ornamentação da exina foram analisadas e descritas posteriormente. As lâminas utilizadas no estudo foram depositadas na Palinoteca do Laboratório de Palinologia Álvaro Xavier Moreira, no Departamento de Botânica do Museu Nacional/UFRJ.

2.7. Análise Estatística

Foi realizado um tratamento estatístico específico com os resultados das amostras com 25 medidas, onde parâmetros foram estabelecidos como média aritmética (\bar{x}), desvio padrão da média (s_x), intervalo de confiança a 95% (IC 95%) e faixa de variação. Os resultados do tratamento estatístico foram apresentados em forma de tabelas.

2.8. Análise multivariada dos dados

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 16 variáveis, para melhor organização dos dados nos gráficos elaborados, abreviou-se o nome das espécies com as primeiras três letras dos epítetos e os atributos polínicos (variáveis) foram expressos pelas iniciais das palavras.

As variáveis incluídas nas análises multivariadas foram: DM (diâmetro maior), Dm (diâmetro menor), DP (diâmetro polar), DE (diâmetro equatorial), CS (comprimento do sulco), LS (largura do sulco), DL (diâmetro do lúmen) e LM (largura do muro).

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, coordenadas 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.

Foi realizada a análise de agrupamento (Cluster-AHC) com o objetivo de classificar as espécies, 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.

2.9. Terminologia

A terminologia adotada para descrição dos grãos de pólen foi a de Punt *et al.* (2007) levando-se em consideração o tamanho, a forma e o padrão de ornamentação da sexina.

Para a classificação dos grãos quanto ao tamanho foram utilizados os seguintes parâmetros: muito pequeno (< 10 μm); pequeno (10-25 μm); médio (25-50 μm); grande (50-100 μm); muito grande (100-200 μm) e gigante (>200 μm) (Erdtman 1952).

3. RESULTADOS

Foram analisadas nove espécies do gênero *Habranthus* e quatro do gênero *Zephyranthes* (Tab. 1). A descrição palinológica está organizada de acordo com os seguintes caracteres polínicos: tamanho, unidade de dispersão, polaridade, contorno, tipo e número de abertura e padrão de ornamentação da sexina.

3.1. Descrição Polínica

3.1.1. Tamanho – A maioria das espécies analisadas dos dois gêneros apresenta grãos de pólen grandes; comparando os valores obtidos para o diâmetro maior (DM) encontrou-se a menor dimensão em *Z. mesochloa* ($x= 50,4 \mu\text{m}$) e a maior em *H. sylvaticus* ($x= 72,3\mu\text{m}$). Grãos de pólen médios foram encontrados apenas em *Z. flavissima* (DM) ($x=48,5\mu\text{m}$) (Tab. 1, 2).

3.1.2. Unidade de dispersão, polaridade, e contorno – Todas as espécies apresentam grãos de pólen em mônades, heteropolares, em vista polar o âmbito é esferoidal em *H. bahiensis* (Fig. 1A) e elíptico nas demais espécies (Fig.1J, P; 2F, L; 3A, I, P; 4E, L; 5B, I; 6F). Em vista equatorial maioria das espécies possui a face proximal plana e a distal, convexa (Fig. 1K; 2G; 3J; 4F, M; 6G) e convexa-convexas apenas em *H. bahiensis* (Fig. 1B).

3.1.3. Abertura – Os grãos de pólen analisados são monossulcados, de extremidades arredondadas, de difícil mensuração sob microscopia de luz devido ao grão de pólen sofrer rupturas com o processo de acetólise, sendo possível sua visualização sob microscopia eletrônica de varredura. Os sulcos mais longos foram encontrados em *H. robustus* (ca. $65,2 \mu\text{m}$) e *H. lucidus* ($62,3 \mu\text{m}$) e os menores em *Z. flavissima* ($44,0 \mu\text{m}$) e

Z. mesochloa (46,5 μm). Os sulcos são recobertos por membrana ornamentada e/ou opérculo. Em *H. irwinianus* e *Z. cearensis* são reconhecidas aréolas de microrretículo distribuídos por toda a extensão da membrana (Fig. 2J; 5F, G); a membrana é ornamentada com o mesmo padrão da superfície do grão de pólen em *H. brachyandrus* (Fig. 1N), *H. gracilifolius*, *Z. candida* (Fig. 4P), *Z. cearensis* (Fig. 5F, G), *Z. flavíssima* (Fig. 6C), *Z. mesochloa* (Fig. 6J). Opérculos com a mesma ornamentação do restante da superfície do grão de pólen são reconhecidos apenas em espécies de *Habranthus*: *H. bahiensis* (Fig. 1E, F), *H. lacteus* (Fig. 2P, Q), *H. lucidus* (Fig. 3F), *H. robustus* (Fig. 3N, M), *H. sylvaticus* (Fig. 4A, B) e *H. tubispathus* (Fig. 4I, J).

3.1.4. Estratificação e padrão de ornamentação da exina – Em todas as espécies de *Habranthus* a exina apresenta espessura de 2 μm , sendo a nexina tão espessa quanto a sexina (Tab. 3). O padrão de ornamentação da exina variou de pilada, birreticulada a reticulada.

1) Sexina pilada com pilos estriados na parte superior foi registrada em *H. bahiensis* e *H. sylvaticus*. Na primeira espécie, em algumas regiões, os pilos se unem na parte superior ficando individualizados apenas pela base (Fig. 1H, I), enquanto em *H. sylvaticus*, além da união na parte superior, que é menos frequente devido ao maior afastamento entre os pilos, ocorre também a união na base através de “pontes” de sexina (Fig. 4C, D).

2) Sexina birreticulada foi encontrada apenas em *H. irwinianus*. Neste tipo os muros mais externos são sinuosos, com regiões alargadas de superfície convexa e estriada; os muros mais internos são sinuosos, de largura variável, devido a sobreposição dos muros não foi possível mensurar a largura do lúmen (Fig. 2K).

3) *Sexina reticulada*, heterobrocada foi definida na maioria das espécies ficando as diferenças relacionadas às características do muro e do lúmen, assim discriminados:

3a) muros sinuosos – **largos** (ca. 1.7 μm), com a parte superior do muro estriada e presença de microespinhos nas intersecções dos muros, lumens alongados, ornamentados em *Z. candida* (Fig. 5A); **estreitos** (ca. 0,5 μm), com a parte superior do muro lisa, sem microespinhos, columelas mais elevadas nos pontos de intersecção dos muros, em *H. gracilifolius* observam-se regiões do muro em depressões que contrastam com as partes elevadas dos muros, ou muros com interrupções esparsas formando lumens com diâmetros maiores em *Z. flavíssima* (Fig. 6E) e *Z. mesochloa*, lumens sem ornamentação em *Z. flavíssima* ou ornamentados em *H. gracilifolius* e *Z. mesochloa* (Fig. 6K).

3b) muros retos – **largos** (1,0-1,2 μm), não estriados, com perfurações esparsas apenas em *Z. cearenses*, lumens alongados, ornamentados em *H. brachyandrus* ou sem ornamentação em *Z. cearensis* (Fig. 5H); **estreitos** (0,4-0,8 μm), com microespinhos nos pontos de intersecção dos muros em *H. lucidus* (Fig. 3H) e *H. robustus* (Fig. 3O), ou sem esta característica em *H. lacteus* (Fig. 2R) e *H. tubispathus* (Fig. 4K), muros com interrupções esparsas formando lumens com diâmetros maiores apenas em *H. robustus* (Fig. 3O), lumens sem ornamentação em *H. lacteus* e *H. lucidus* ou ornamentado em *H. tubispathus* (Fig. 4K) e *H. robustus* (Fig. 3O).

De acordo com os resultados obtidos, o padrão de ornamentação da exina dos grãos de pólen, foram os atributos polínicos mais significativos que permitiram agrupar ou separar as espécies de *Habranthus* e *Zephyranthes* analisadas. As espécies foram organizadas em uma chave polínica de acordo com o caracter citado.

3.2. Chave Polínica para identificação das espécies da tribo

Zephyranthineae

1. Sexina birreticulada.....*H. irwinianus*

1. Sexina pilada ou reticulada

2. Sexina pilada

3. Pilos individualizados na base.....*H. bahiensis*

3. Pilos unidos na base através de “pontes” de sexina.....*H. sylvaticus*

2. Sexina reticulada

4. Muros sinuosos

5. Muros largos (ca. 1.7 μm), com a parte superior estriada e presença de microespinhos nas intersecções dos muros.....*Z. candida*

5. Muros estreitos (ca. 0,5 μm), com a parte superior lisa, sem microespinhos, columelas mais elevadas nos pontos de intersecção dos muros

6. Muros em depressões que contrastam com as partes elevadas.....*H. gracilifolius*

6. Muros sem depressões, com interrupções esparsas formando lumens de diâmetros maiores

7. Lumens com ornamentação.....*Z. mesochloa*

7. Lumens sem ornamentação.....*Z. flavissima*

4. Muros retos

8. Muros largos (1,0-1,2 μm)

9. Muros com perfurações esparsas e lumens sem ornamentação.....*Z. cearensis*

9. Muros sem perfurações esparsas e lumens com ornamentação.....*H. brachyandrus*

8. Muros estreitos (0,4-0,8 μm)

10. Muros com microespinhos nos pontos de intersecção

- 11. Muros com interrupções esparsas formando lumens com diâmetros maiores e com ornamentação.....*H. robustus*
- 11. Muros sem interrupções esparsas e sem ornamentação.....*H. lucidus*
- 10. Muros sem microespinhos nos pontos de intersecção
 - 12. Lumens com ornamentação.....*H. tubispathus*
 - 12. Lumens sem ornamentação.....*H. lacteus*

3.3. Análises Multivariadas

3.3.1. Análise de agrupamento hierárquico (HCA)

As relações entre as espécies dos gêneros *Habranthus* e *Zephyranthes*, produziu um dendograma com 4,88% de encadeamento de explicação dos dados. Ao levar em consideração o percentual de informações (variáveis) e a quantidade final de grupos formados, observa-se a formação de três grupos, quando analisado 50% das informações remanescentes. O grupo 1 é formado pelas espécies *H. bahiensis*, *H. irwinianus* e *H. sylvaticus*. A maioria das espécies que compõe o grupo 2 pertence ao gênero *Habrathus* com exceção de *Z. cearensis*. No grupo 3 encontram-se três espécies subordinadas ao gênero *Zephyranthes* (*Z. candida*, *Z. flavissima* e *Z. mesochloa*) e também a espécie *H. gracilifolius*. Ao ampliar a quantidade de variáveis analisadas (75% de informações remanescentes) apenas o grupo 1 sofreu alteração, este foi subdividido em dois grupos: 1' com as espécies *H. bahiensis* e *H. irwinianus* e 2' com *H. sylvaticus* (Fig. 10).

3.3.2. Análise de componente principal (PCA)

O resultado do PCA explicou 83,84% do total da variância. Os dois primeiros eixos principais foram significativos, com 52,08% e 31,76% de variância respectivamente. O diâmetro menor (Dm), diâmetro polar (DP) e o diâmetro maior (DM), foram as variáveis mais significativas do primeiro componente principal. No segundo eixo as variáveis que apresentaram maiores valores foram: diâmetro do lúmen (DL), largura do muro (LM) e comprimento do sulco (CS) (Tab. 5).

O polo negativo do eixo 1 apresenta espécies pouco dispersas, evidenciando a nitidez do grupo formado. O contrário ocorre ao analisar as espécies no polo positivo do mesmo eixo onde as espécies estão mais dispersas (Fig.11).

É possível observar a separação das espécies, inicialmente em dois grupos um à direita e outro à esquerda do eixo 1 definidos pela variável diâmetro menor (Dm) e diâmetro polar (DP), o grupo da direita formado pelas espécies *H. gracilifolius*, *Z. candida*, *Z. flavissima* e *Z. mesochloa* apresenta os menores valores de Dm e DP, enquanto que no grupo à esquerda (*H. brachyandrus*, *H. lacteus*, *H. lucidus*, *H. robustus*, *H. tubispathus* e *Z. cearensis*) encontra-se os maiores valores.

H. bahiensis e *H. irwinianus* se aproximaram no extremo polo positivo do eixo 2 influenciados pelas variáveis: diâmetro do lúmen (DL) e largura do muro (LM). A espécie *H. sylvaticus* se distanciou das demais principalmente por apresentar os maiores valores de diâmetro maior (DM), diâmetro menor (Dm) e diâmetro equatorial (DE).

De uma maneira geral observou-se grande diversidade de caracteres das espécies analisadas, resultando na separação das mesmas em polos diferentes de ambos os eixos (Fig. 11).

4. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

As espécies analisadas mostraram homogeneidade quanto ao tipo de abertura (monossulcada), unidade de dispersão (mônades) e polaridade (heteropolar) dos grãos de pólen. Ocorreu variação quanto ao tamanho dos mesmos, que foi médio apenas em *Z. flavissima* diferenciando-a das demais espécies que apresentaram polens grandes.

Em relação ao contorno dos grãos de pólen, o mais comum foi o elíptico em vista polar, o contorno esferoidal foi encontrado apenas em *H. bahiensis*. Em vista equatorial a maioria das espécies apresentou a face proximal plana e a distal convexa.

Apesar de todas as espécies mostrarem grãos de pólen com abertura do tipo monossulcada, algumas se destacaram pela presença de opérculo. Esse tipo de abertura (monossulcada) é um carácter menos derivado e amplamente descrito para as monocotiledôneas (Walker & Doyle 1975, Zavada 1983) e as linhagens de angiospermas basais (Furness & Rudall 2004). Contudo, Erdtman (1952, 1966) observou também grãos de polens bissulcados em alguns representantes da família Amaryllidaceae (*Galanthus* L., *Hymenocallis* Salisb., *Lapiedra* Lag., *Leucojum* L.).

Neste estudo foi observada pela primeira vez a presença de opérculo na maioria das espécies analisadas do gênero *Habranthus* (*H. bahiensis*, *H. lacteus*, *H. lucidus*, *H. robustus*, *H. sylvaticus* e *H. tubispathus*). O opérculo quando presente apresentou o mesmo padrão de ornamentação do restante do grão de pólen, o que não corroborou o trabalho de Furness & Rudall (2003) que constataram que muitas vezes a exina que forma o opérculo tem uma estrutura mais simples em relação ao restante do grão de pólen.

Opérculo foi definido como um espessamento da membrana do poro (abertura) por Woodhouse (1935) e de acordo com Furness & Rudall (2003) esta estrutura evoluiu

várias vezes de forma independente nas monocotiledôneas e pode apresentar diversas funções como a proteção da área apertural contra patógenos e/ou desidratação, isso explicaria a frequente presença de opérculo em espécies de ambiente seco. As aberturas monossulcadas com opérculo são provavelmente só encontradas em monocotiledôneas, no entanto opérculo não é uma característica exclusiva deste grupo e são encontrados em um grande número de eudicotiledôneas (Furness & Rudall 2003).

O padrão de ornamentação da exina se mostrou um atributo muito importante para a diferenciação das espécies e variou entre três padrões: **pilado** (*H. bahiensis* e *H. sylvaticus*), **birreticulado** (*H. irwinianus*) e **reticulado** (*H. brachyandrus*, *H. gracilifolius*, *H. lacteus*, *H. lucidus*, *H. robustus*, *Z. candida*, *Z. cearensis*, *Z. flavissima*, *Z. mesochloa*), neste último padrão que englobou o maior número de espécies analisadas, todos os táxon puderam ser discriminados pelas características do muro e lúmen.

Padrões polínicos (exina reticulada) semelhantes foram constatados por Sharma (1967) em *Zephyranthes carinata* Herb. e por Rao & Ling (1974) em *Zephyranthes alba* Hort., ambas espécies não foram tratadas aqui.

A proximidade entre espécies quando comparados os dados polínicos foram constatadas através da análise hierárquica de agrupamento (AHC), bem como da chave polínica e foi confirmada através da disposição dos pontos (representando as espécies) ao longo do gráfico na análise de PCA.

É possível observar, através da análise de componentes principais, dois grandes grupos polarizados ao longo do eixo 1 (um no polo positivo e outro no polo negativo), e um grupo, no polo positivo do eixo 2, formado por pequeno número de espécies.

O dendograma mostra o grupo 1 formado pelas espécies *H. bahiensis*, *H. irwinianus* e *H. sylvaticus*. A análise do mesmo grupo no gráfico bidimensional de PCA corroborou a proximidade entre as espécies e permitiu definir os caracteres que mais influenciaram na conformidade do clado. As espécies *H. bahiensis* e *H. irwinianus* emergiram juntas com *H. sylvaticus* por apresentarem medida de DL (=zero), uma vez que *H. bahiensis* e *H. sylvaticus* não apresentaram lúmen (exina pilada) e em *H. irwinianus* (exina birreticulada) não foi possível mensurar os muros, porém *H. sylvaticus* se destacou por apresentar o maior valor de DM (=72,3 μ m).

As espécies *H. brachyandrus*, *H. tubispathus*, *H. robustus*, *H. lacteus*, *H. lucidus* e *Z. cearensis* estão alocadas no grupo 2 ao analisar o dendograma e o gráfico bidimensional de PCA. A proximidade entre as espécies *H. brachyandrus*, *H. tubispathus* e *H. robustus* deve-se aos valores de DP, os valores de DM, Dm, DP, DE aproximaram *H. lacteus*, *H. lucidus* e *Z. cearensis*. Ao observar a chave polínica percebe-se que todas estas espécies mostraram exina reticulada, com muros retos e se diferenciaram pela largura dos muros e ornamentação dos lúmens.

O grupo 3 foi formado por espécies em sua maioria do gênero *Zephyranthes*, separadas principalmente, por apresentar exina reticulada com muros sinuosos. A análise hierárquica de agrupamento é corroborada pela análise de componentes principais (PCA), e revelou grande proximidade entre *H. flavissima* e *H. mesochloa* principalmente pelos valores muito semelhantes de Dm e DP, embora tenham sido separadas na chave polínica pela ornamentação dos lumens. As variáveis CS e DL foram as mais significativas para aproximar *H. gracilifolius* e *Z. candida*, contudo as espécies se mostraram divergentes em relação às características dos muros.

De acordo com o levantamento do gênero *Habranthus* realizado por Amaral (2011) as espécies *H. bahiensis*, *H. irwinianus*, *H. gracilifolius* e *H. sylvaticus* apresentam semelhanças na morfologia externa como a coloração púrpura das flores, a forma da flor e paraperigônio. Com o presente estudo polínico foi possível diferenciar estas espécies pelo padrão de ornamentação da exina e a morfologia de seus componentes (pilos, muros e lumens), ou seja, os caracteres polínicos foram bastante informativos para melhor circunscrever estas espécies.

Após levantamento bibliográfico verificou-se a escassez de trabalhos palinológicos envolvendo os gêneros *Habranthus* e *Zephyranthes* e as espécies *H. bahiensis*, *H. brachyandrus*, *H. gracilifolius*, *H. irwinianus*, *H. lacteus*, *H. lucidus*, *H. tubispathus*, *Z. cearensis*, *Z. flavíssima* e *Z. mesochloa* tiveram seus dados polínicos descritos pela primeira vez no presente estudo, o que possibilitou uma melhor delimitação das espécies analisadas, já que a morfologia externa destes grupos apresenta bastante similaridade.

A primeira referência palinológica para espécies de *Habranthus* foi feita em Alves-Araújo & Santos (2007), os autores caracterizaram os grãos de pólen do referido gênero como grandes, âmbito elipsoidal e exina reticulada a partir da análise de *H. sylvaticus*, *H. itaobinus* e *H. robustus*. Os resultados encontrados pelos autores corroboram os aqui observados para o tamanho, âmbito e ornamentação da exina, porém, também foram encontrados âmbito esferoidal (*H. bahiensis*) e exina birreticulada (*H. irwinianus*) e pilada (*H. bahiensis* e *H. sylvaticus*).

Alves-Araújo & Santos (2007) destacaram que a exina em *H. sylvaticus* aparece retipilada com a cabeça dos pilos de diferentes tamanhos, em *H. itaobinus* e *H. robustus* a exina é microrreticulada. No presente trabalho, *H. sylvaticus* apresentou exina pilada

com pilos unidos na base através de “pontes” de sexina e *H. robustus* exina reticulada, *H. itaobinus* não foi analisada neste estudo. A presença de opérculo em *H. sylvaticus* só foi observada no presente estudo.

Huang (1972) incluiu em suas análises palinológicas a espécie *Z. candida* que registrou um padrão reticulado. Esta descrição é corroborada pelo que foi apresentado por Alves-Araújo & Santos (2007) para a espécie. No presente estudo o mesmo padrão reticulado foi observado, além de muros com a parte superior estriada e presença de microespinhos nas intersecções dos muros.

Os resultados encontrados apresentam valor taxonômico e sistemático, uma vez que, possibilitaram distinguir os táxons por caracteres pontuais, inclusive espécies estritamente relacionadas e revelaram um padrão polínico para *Habranthus*, a presença de opérculo, registrada pela primeira vez neste trabalho para este gênero.

Conclui-se que os atributos polínicos das espécies estudadas apresentaram divergências dentre as quais, a presença de opérculo e/ou membrana ornamentada e o padrão de ornamentação da exina, permitindo assim a distinção das espécies. No entanto, não foram encontrados caracteres exclusivos para cada gênero devido ao compartilhamento dos aspectos polínicos, o que dificultou a separação palinológica de *Habranthus* e *Zephyranthes*, embora os atributos polínicos tenham se mostrado informativos à circunscrição e detalhamento das espécies.

Portanto, faz-se necessário uma investigação da morfologia polínica, assim como de outras áreas do conhecimento (morfologia externa, anatomia, ecologia, etc.) de um maior número de espécies dos gêneros em questão, a fim de melhor caracterizá-los e inferir sobre sua separação ou união.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves-Araújo, A. & Santos, F. de A. R. dos, 2007. Caracterização palinológica das espécies de Amaryllidaceae sensu stricto ocorrentes no nordeste brasileiro. *Acta Botanica Brasílica* 21(4): 967-976.
- Alves-Araújo, A., Dutilh, J. A. H., Alves, M. 2009. Amaryllidaceae s.s. e Alliaceae s.s. no nordeste brasileiro. *Rodriguésia* 60 (2): 311-331.
- Amaral-Lopes, A. C., Cavalcanti, T. B. 2011. *Habranthus* Herb. (Amaryllidaceae) no Brasil: estudos taxonômicos, caracterização morfológica e relações filogenéticas. Tese de Doutorado, Universidade de Brasília.
- Amaral-Lopes, A. C., Cavalcanti, T. B. 2015. *Habranthus* (Amaryllidaceae) do Brasil *Rodriguésia* 66 (1): 203-220.
- Arroyo, S. C. 1981. Systematic Anatomical Studies on Amaryllidaceae. Tese de Doutorado, University of Reading.
- Arroyo, S. C. 1990. *Habranthus* (Amaryllidaceae) en Argentina y Uruguay. *Parodiana* 6(1): 11-30.
- Baker, J. G. 1878. Na Enumeration and classification of the species of *Hippeastrum*. *Journal of Botany* (16): 79-85.
- Baker, J. G. 1888. Handbook of Amaryllideae. George Bell & Sons, London.
- Bentham, G. 1883. Amaryllidaceae in: Bentham, G. and Hooker, J. D. (eds). *Genera Plantarum* 3(2): 710-740.
- 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.

- Chowdhury, M. R. & Hubstenberger, J. 2006. Evaluation of cross pollination of *Zephyranthes* and *Habranthus* species and hybrids. *Journal of the Arkansas Academy of Science* 60: 113-118.
- Dutilh, J. H. A. & Assis, M. C. 2005. Amaryllidaceae in: Wanderley, M.G.L., Shepherd, G. J. Melhem, T.S. & A.M. Giulietti (ed) *Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo*. São Paulo, Instituto de Botânica. 4: 244-256.
- Dutilh, J.H.A. & Oliveira, R.S. 2016. *Amaryllidaceae* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB43>)
- Endlicher, S.L. 1837. *Genera Plantarum*. Fr. Beck. Wien.
- Erdtman, G. 1952. *Pollen morphology and plant taxonomy - Angiosperms*. Upsala. Almqvist e Wiksell. 539p., 261 figs.
- Erdtman, G. 1966. *Pollen morphology and plant taxonomy - Angiosperms*. New York, Hafner Publishing Company.
- Fernández, A. C., Marinangeli, P., Curvetto, N., Facciuto, G. 2013. Reproductive Biology of *Habranthus tubispathus*. *Acta Horticulturae*: 183-188.
- Furness, C. A. & Rudall, P. J. 2003. Apertures with lids: distribution and significance of operculate pollen in monocotyledons. *Int. J. Plant Sci.* 164(6):835–854.
- Furness, C. A. & Rudall, P. J. 2004. Pollen aperture evolution – a crucial factor for eudicot success? *Plant Science* 9 (3): 154-158.
- Furness, C. A. & Rudall, P. J. 2006. The operculum in pollen of monocotyledons. *Aliso* 22: 191–196
- Grisebach, A. H. R. 1879. *Symbolae ad floram Argentinam*. Gottingen.

- Herbert, W. H. 1837. Amaryllidaceae. James and Ridway Sons. London.
- Huang, T.-S. 1972. Pollen flora of Taiwan. National Taiwan University Botany Department Press
- McCune, B. & Mefford, M. J. 2011. PC-ORD. Multivariate Analysis of Ecological Data. Version 6. MjM Software, Glenden Beach, Oregon, U.S.A.
- Meerow, A. W. & Snijman, D. A. 1998. Amaryllidaceae. In K. Kubitzki (ed.). The families and genera of vascular plants. Monocotyledons – Lilianae (except Orchidaceae). Hamburg, Germany. 83-110p.
- Meerow, A. W., M. F. Fay, C. L. Guy, Q-B. Li, F Q. Zaman and M. W. Chase. 1999. Systematics of Amaryllidaceae based on cladistic analysis of plastid rbcL and trnL-F sequence data. American Journal of Botany 86: 1325- 1345
- Melhem, T. S., Cruz-Barros, M. A. V., Corrêa, A. M. S., Makino-Watanabe, H., Silvestre-Capelato, M. S. F. & Gonçalves-Esteves, V. 2003. Morfologia polínica em plantas de Campos do Jordão (São Paulo, Brasil). Boletim do Instituto de Botânica 16:1-104.
- Oliveira, R. S. 2006. Flora da cadeia do Espinhaço: *Zephyranthes* Herb. e *Habranthus* Herb. (Amaryllidaceae). Dissertação de Mestrado, Universidade de São Paulo.
- Pax, F. & Hoffman, K. 1930. Amaryllidaceae. In: Engler, A. & Prantl, K. (eds) Die Natürlichen Pflanzenfamilien, 2(15^a), 391-430. Wilhelm Engelm. Leipzig.
- Punt, W., Blackmore, S., Nilsson, S., Le Thomas, A. 2007. Glossary of pollen and spore terminology. Review of Paleobotany and Palynology 143: 1-81.

- Rao, A.N. & Ling, L.F. 1974. Pollen morphology of certain tropical plants. *Reinwardtia* 9(1): 153-176.
- Raynal, A. & Raynal, J. 1971. Une technique de preparation des grains de pollen fragilis. *Adansônia* 11(1): 77-79.
- Reitsma, T. 1969. Size modification of recent pollen grains under different treatments. *Review of Paleobotany and Palynology*. Amsterdam. 9: 175-202.
- 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.
- Salgado-Labouriau, M. L. 1973. Contribuição à palinologia dos cerrados. Academia Brasileira de Ciências. Rio de Janeiro. 291p.
- Sharma, M. 1967. Pollen morphology of Indian monocotyledons. *Journal of Palynology* Special volume: 1-98.
- Sealy, J. R. 1937. *Zephyranthes, Pyrolirion, Habranthus* and *Hippeastrum*. *J. Roy Hort. Soc.* 62(5): 195-209.
- Specieslink. Disponível em: <<http://splink.cria.org.br/>>. Acesso em junho de 2013.
- Thiers, B. Index herbariorum: a global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. <http://sweetgum.nybg.org/ih/.2013>
- Traub, H. P. & Moldenke, H. N. 1949. Amaryllidaceae: Tribe amarylleae. *Amer. Pl. Life Society*.
- Walker, J.W. & Doyle, J.A. 1975. The bases of angiosperm phylogeny: Palynology. *Annals of the Missouri Botanical Garden* 62: 664-723.

Wodehouse, R. P. 1935. Pollen grains. Their structure, identification and significance in science and medicine. New York, McGraw Hill.

Zavada, M.S. 1983. Comparative morphology of monocot pollen and evolutionary trends of apertures and wall structures. *Botanical Review* 49(4): 331-379.

Tabela 1. Medidas (μm) dos grãos de pólen de espécies de *Habranthus* e *Zephyranthes* (n=25) em vista polar.

| 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>Gênero Habranthus</i> | | | | | | |
| <i>H. bahiensis</i> | 50,0-55,0 | 52,3 \pm 0,3 | 51,6-53,0 | 37,5-42,5 | 40,2 \pm 0,4 | 39,3-41,1 |
| <i>H. brachyandrus</i> | 55,0-60,0 | 57,4 \pm 0,4 | 56,7-58,1 | 42,5-47,5 | 45,1 \pm 0,4 | 44,3-45,8 |
| <i>H. gracilifolius</i> | 52,5-61,2 | 56,9 \pm 0,5 | 55,9-57,9 | 30,0-37,5 | 33,4 \pm 0,5 | 32,5-34,4 |
| <i>H. irwinianus</i> | 56,2-61,2 | 59,1 \pm 0,3 | 58,4-59,8 | 32,5-37,5 | 36,1 \pm 0,3 | 35,4-36,8 |
| <i>H. lacteus</i> | 60,0-67,5 | 64,1 \pm 0,5 | 63,2-65,1 | 42,0-47,0 | 45,1 \pm 0,4 | 44,0-45,2 |
| <i>H. lucidus</i> | 63,1-67,3 | 65,2 \pm 0,4 | 64,7-66,8 | 41,5-46,2 | 44,6 \pm 0,3 | 43,4-44,7 |
| <i>H. robustus</i> | 62,5-70,0 | 67,5 \pm 0,5 | 66,5-68,5 | 42,5-52,5 | 47,6 \pm 0,5 | 46,7-48,6 |
| <i>H. sylvaticus</i> | 67,5-80,0 | 72,3 \pm 0,6 | 71,1-73,5 | 45,0-55,0 | 48,2 \pm 0,5 | 47,0-49,3 |
| <i>H. tubispathus</i> | 57,5-65,0 | 62,2 \pm 0,4 | 61,4-63,1 | 36,2-42,5 | 39,4 \pm 0,4 | 38,7-40,2 |
| <i>Gênero Zephyranthes</i> | | | | | | |
| <i>Z. candida</i> | 50,0-56,5 | 52,5 \pm 0,4 | 51,7-53,4 | 32,5-40,0 | 37,5 \pm 0,4 | 36,8-38,4 |
| <i>Z. cearensis</i> | 65,0-70,0 | 67,8 \pm 0,4 | 66,8-68,7 | 45,0-52,5 | 47,5 \pm 0,4 | 46,3-48,8 |
| <i>Z. flavissima</i> | 45,0-52,5 | 48,5 \pm 0,5 | 47,6-49,5 | 26,2-32,5 | 29,5 \pm 0,4 | 28,6-30,4 |
| <i>Z. mesochloa</i> | 47,5-55,0 | 50,4 \pm 0,4 | 49,5-51,2 | 25,0-32,5 | 29,4 \pm 0,3 | 28,7-30,2 |

\bar{x} - média aritmética; s^x – desvio padrão da média; I.C.- intervalo de confiança

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

| Espécie | Diâmetro Polar | | Diâmetro Equatorial | |
|----------------------------|-------------------|------|---------------------|------|
| | Faixa de Variação | x | Faixa de Variação | x |
| <i>Gênero Habranthus</i> | | | | |
| <i>H. bahiensis</i> | 35,0-38,7 | 36,9 | 50,0-55,0 | 53,4 |
| <i>H. brachyandrus</i> | 40,0-45,0 | 42,5 | 50,0-55,0 | 52,8 |
| <i>H. gracilifolius</i> | 30,0-35,0 | 32,2 | 53,7-60,0 | 57,1 |
| <i>H. irwinianus</i> | 30,0-35,0 | 32,6 | 55,0-60,0 | 57,9 |
| <i>H. lacteus</i> | 40,0-45,0 | 42,7 | 60,0-65,0 | 62,0 |
| <i>H. lucidus</i> | 40,5-44,5 | 43,5 | 62,3-67,0 | 64,5 |
| <i>H. robustus</i> | 33,8-37,5 | 35,9 | 47,5-52,5 | 49,9 |
| <i>H. sylvaticus</i> | 42,5-47,5 | 44,9 | 65,0-70,0 | 67,4 |
| <i>H. tubispathus</i> | 33,7-42,5 | 42,5 | 57,5-65,0 | 62,0 |
| <i>Gênero Zephyranthes</i> | | | | |
| <i>Z. candida</i> | 35,0-40,0 | 38,2 | 47,5-52,5 | 50,9 |
| <i>Z. cearensis</i> | 46,0-50,0 | 48,3 | 62,5-68,5 | 65,0 |
| <i>Z. flavissima</i> | 25,0-32,5 | 27,4 | 43,7-50,0 | 48,6 |
| <i>Z. mesochloa</i> | 25,0-32,5 | 28,2 | 47,5-57,5 | 51,5 |

x- média aritmética

Tabela 3. Médias (μm) das camadas da exina dos grãos de pólen de espécies de *Habranthus* e *Zephyranthes* (n=10).

| Espécies | Colpo | | Espessura da Exina | | | Lúmen | Muro |
|-----------------------------------|-------|-------|--------------------|--------|--------|----------|---------|
| | Comp. | Larg. | Exina | Sexina | Nexina | Diâmetro | Largura |
| Gênero <i>Habranthus</i> | | | | | | | |
| <i>H. bahiensis</i> | 46,7 | 8,0 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | — | — |
| <i>H. brachyandrus</i> | 50,0 | 14,9 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | 3,6 | 1,2 |
| <i>H. gracilifolius</i> | 48,7 | 10,0 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | 2,4 | 0,6 |
| <i>H. irwinianus</i> | 52,7 | 12,0 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | — | — |
| <i>H. lacteus</i> | 58,3 | 11,0 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | 1,6 | 0,4 |
| <i>H. lucidus</i> | 62,3 | 10,6 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | 1,7 | 0,7 |
| <i>H. robustus</i> | 65,2 | 11,7 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | 4,5 | 0,7 |
| <i>H. sylvaticus</i> | 58,7 | 12,7 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | — | — |
| <i>H. tubispathus</i> | 53,9 | 15,2 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | 2,5 | 0,8 |
| Gênero <i>Zephyranthes</i> | | | | | | | |
| <i>Z. candida</i> | 47,2 | 6,4 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | 2,7 | 1,7 |
| <i>Z. cearensis</i> | 58,5 | 10,8 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | 1,4 | 1,0 |
| <i>Z. flavissima</i> | 44,0 | 8,0 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | 2,5 | 0,5 |
| <i>Z. mesochloa</i> | 46,5 | 6,6 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | 3,4 | 0,5 |

Tabela 4. Médias (μm) dos espécimes de comparação de espécies de *Habranthus* e *Zephyranthes* em vista polar e equatorial (n=10).

| Espécimes | Vista Polar | | Vista Equatorial | |
|--|----------------|----------------|------------------|---------------------|
| | Diâmetro maior | Diâmetro menor | Diâmetro polar | Diâmetro equatorial |
| Gênero <i>Habranthus</i> | | | | |
| <i>H. bahiensis</i> | | | | |
| Santos 1780 | 50,6 | 39,2 | 37,8 | 51,8 |
| <i>H. brachyandrus</i> | | | | |
| J. H. A. Dutilh s.n. (UEC 174112) | 55,8 | 43,2 | 41,3 | 52,5 |
| <i>H. irwinianus</i> | | | | |
| R. C. Forzza 2437 | 60,2 | 37,9 | 34,0 | 58,5 |
| F. Santos-Silva 19 | 58,2 | 35,0 | 33,4 | 56,2 |
| <i>H. lacteus</i> | | | | |
| R. M. Harley 25712 | 62,8 | 44,2 | 41,5 | 60,6 |
| <i>H. robustus</i> | | | | |
| R. S. Oliveira <i>et al.</i> s.n. (UEC 174099). | 66,1 | 48,0 | 37,2 | 50,7 |
| J. P. Amaral 1034 | 65,8 | 46,9 | 38,0 | 53,0 |
| <i>H. sylvaticus</i> | | | | |
| T. B. Cavalcanti 3361 | 70,5 | 49,0 | 45,2 | 66,1 |
| G. F. Árbocz 6155 | 71,8 | 47,5 | 43,8 | 65,6 |
| Gênero <i>Zephyranthes</i> | | | | |
| <i>Z. cearenses</i> | | | | |
| J. H. A. Dutilh 175 | 68,2 | 46,4 | 47,9 | 64,7 |
| R. Armedi-Silva s.n. (HEPH 11238) | 67,4 | 47,5 | 48,0 | 63,8 |

Tabela 5. Matriz de dados com caracteres quantitativos e suas respectivas numerações de espécies de *Habranthus* e *Zephyranthes*.

| Espécies | Abreviações | DM | Dm | DP | DE | CS | LS | LM | DL |
|--------------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| <i>H. bahiensis</i> | bah | 52,3 | 40,2 | 36,9 | 53,4 | 46,7 | 8 | 0 | 0 |
| <i>H. brachyandrus</i> | bra | 57,4 | 45,1 | 42,5 | 52,8 | 50 | 14,9 | 1,2 | 3,6 |
| <i>H. graciclifolius</i> | gra | 56,9 | 33,4 | 32,2 | 57,1 | 48,7 | 10 | 0,6 | 2,4 |
| <i>H. irwinianus</i> | irw | 59,1 | 36,1 | 32,6 | 57,9 | 52,7 | 12 | 0 | 0 |
| <i>H. lacteus</i> | lac | 64,1 | 45,1 | 42,7 | 62 | 58,3 | 11 | 0,4 | 1,6 |
| <i>H. lucidus</i> | luc | 65,2 | 44,6 | 43,5 | 64,5 | 62,3 | 10,6 | 0,7 | 1,7 |
| <i>H. robustus</i> | rob | 67,5 | 47,6 | 35,9 | 49,9 | 65,2 | 11,7 | 0,7 | 4,5 |
| <i>H. sylvaticus</i> | syl | 72,3 | 48,2 | 44,9 | 67,4 | 58,7 | 12,7 | 0 | 0 |
| <i>H. tubispsthus</i> | tub | 62,2 | 39,4 | 42,5 | 62 | 53,9 | 15,2 | 0,8 | 2,5 |
| <i>Z. candida</i> | can | 52,5 | 37,5 | 38,2 | 50,9 | 47,2 | 6,4 | 1,7 | 2,7 |
| <i>Z. cearensis</i> | cea | 67,8 | 47,5 | 48,3 | 65 | 58,5 | 10,8 | 1 | 1,4 |
| <i>Z. flavissima</i> | fla | 48,5 | 29,5 | 27,4 | 48,6 | 44 | 8 | 0,5 | 2,5 |
| <i>Z. mesochloa</i> | mes | 50,4 | 29,4 | 28,2 | 51,5 | 46,5 | 6,6 | 0,5 | 3,4 |

DM-diâmetro maior; Dm-diâmetro menor; DP-diâmetro maior; DE-diâmetro equatorial; CS-comprimento do sulco; LS-largura do sulco; LM-largurado muro; DL-diâmetro do lúmen

Tabela 6. Variância acumulativa e valores dos vetores da análise de componente principal (PCA)

| Eixo Principal | 1 | 2 |
|---------------------------|--------------|----------|
| Variância Acumulativa (%) | 52,08 | 31,76 |
| Caracteres | Eixos | |
| Diâmetro Maior | -0,4261 | -0,1192 |
| Diâmetro Menor | -0,4591 | -0,1730 |
| Diâmetro Polar | -0,4461 | -0,1717 |
| Diâmetro Equatorial | -0,3312 | 0,0626 |
| Comprimento do Sulco | -0,3527 | -0,1894 |
| Largura do Sulco | -0,2787 | -0,1165 |
| Largura do muro | 0,0980 | -0,4571 |
| Diâmetro do Lúmen | 0,2952 | -0,8149 |

Figura 1: Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Habranthus*. A-I: *H. bahiensis* – A. vista polar, B. vista equatorial, C,D. análise de L. O., E. vista polar: abertura (MEV), F. vista polar face distal: opérculo (seta) (MEV), G. vista polar face proximal (MEV), H. detalhe da superfície (MEV), I. detalhe do pilo (MEV); J-O: *H. brachyandrus* – J. vista polar, K. vista equatorial, L,M. análise de L. O., N. vista polar face proximal (MEV), O. detalhe da superfície (MEV); P-Q: *H. gracilifolius* – P. vista polar, Q. vista equatorial.

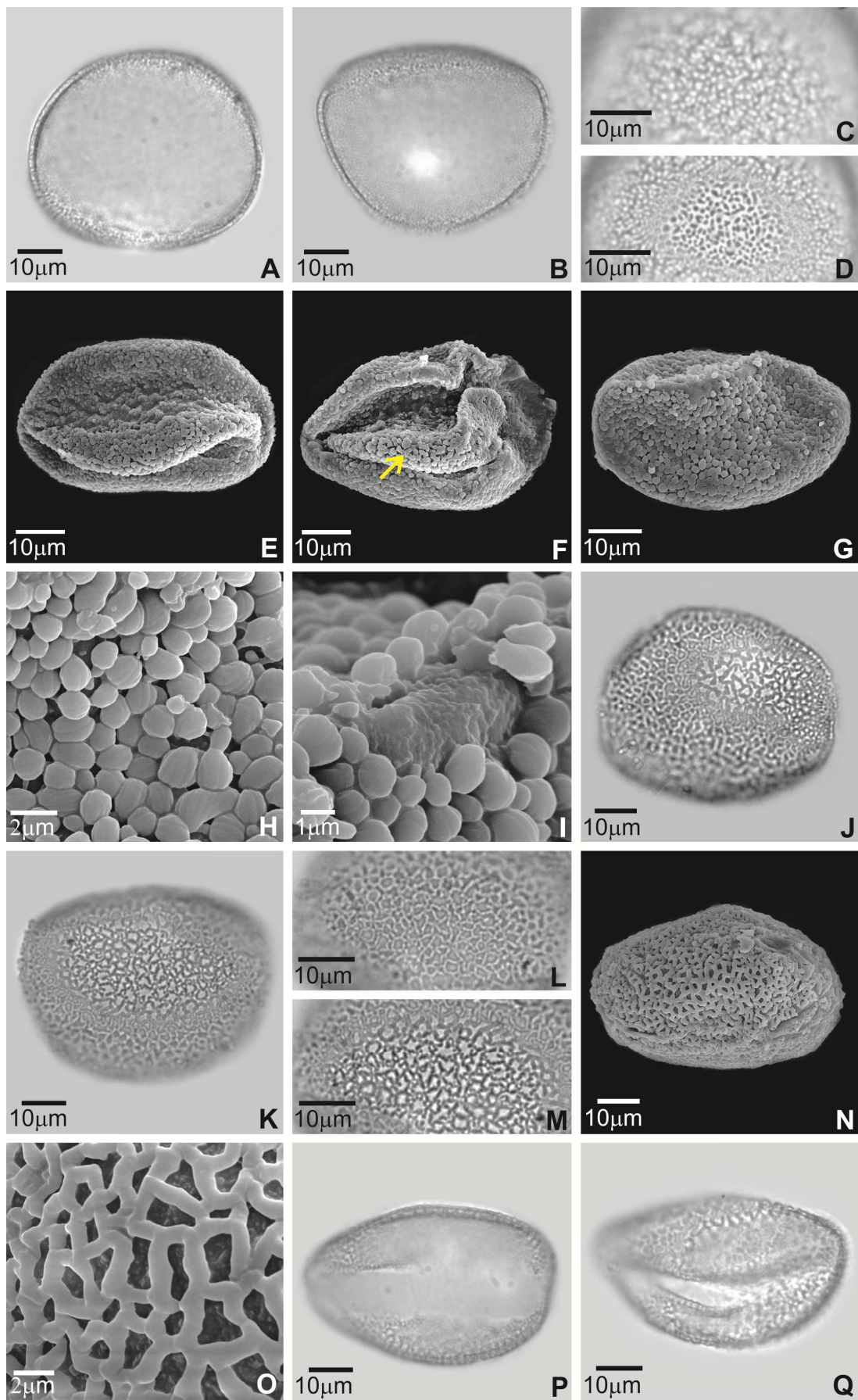


Figura 2: Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Habranthus*. A-E: *H. gracilifolius* – A,B. análise de L.O., C. vista polar face distal: abertura (MEV), D. vista equatorial (MEV), E. detalhe da superfície (MEV); F-K: *H. irwinianus* – F. vista polar, G. vista equatorial, H,I. análise de L.O., J. vista polar: detalhe membrana apertural aréola (seta), K. detalhe da superfície (MEV); L-R: *H. lacteus* – L. vista polar, M,N. análise de L.O., O. vista polar face proximal (MEV), P. vista polar face distal: abertura (seta) (MEV), Q. detalhe opérculo (seta) (MEV), R. detalhe da superfície (MEV).

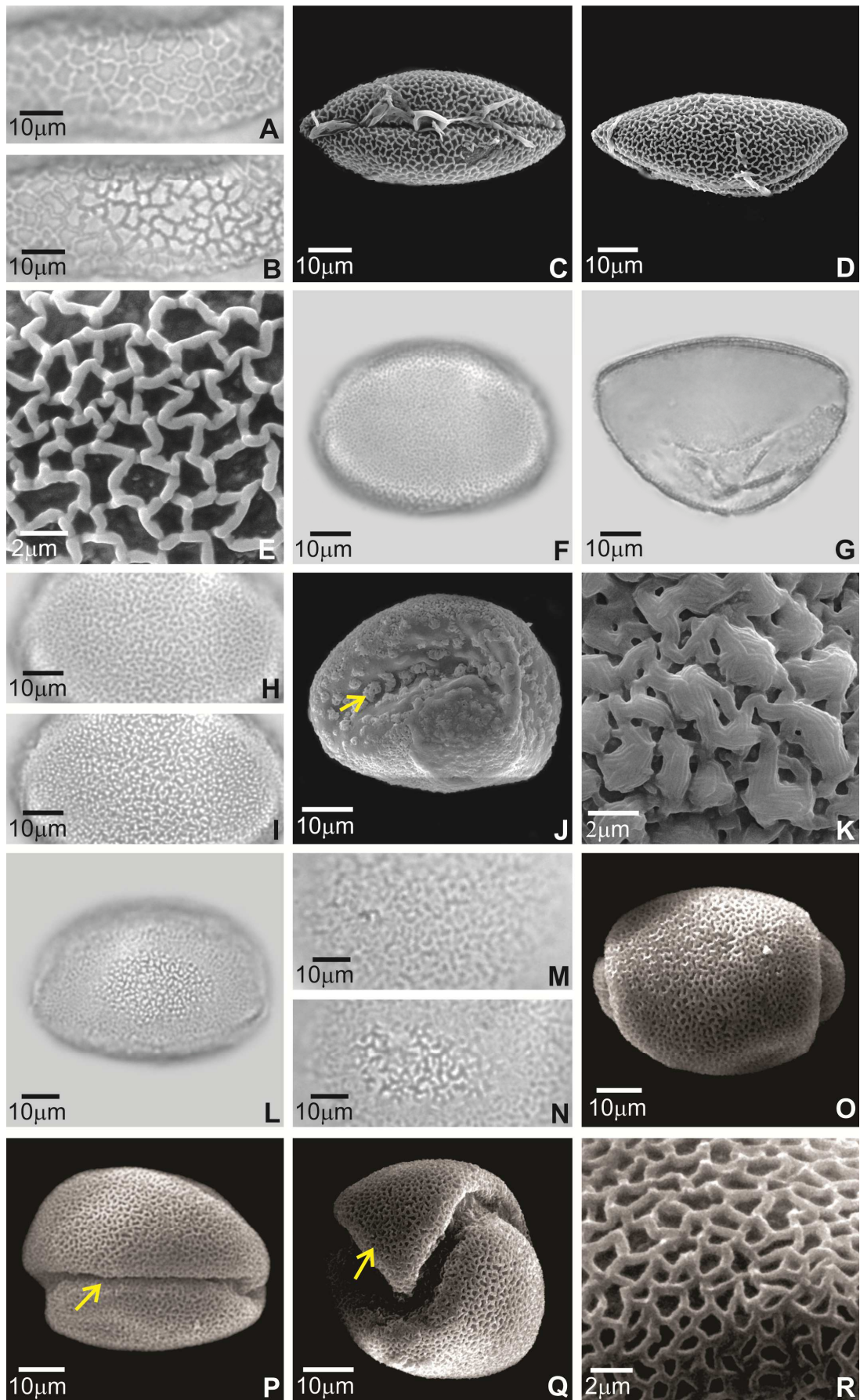


Figura 3: Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Habranthus*. A-H: *H. lucidus* – A. vista polar, B. vista equatorial, C,D. análise de L.O., E. vista polar face distal (MEV), F. vista polar: opérculo (seta) (MEV), G. vista equatorial (MEV), H. detalhe da superfície (MEV); I-O: *H. robustus* – I. vista polar, J. vista equatorial, K,L. análise de L.O., M. vista polar: opérculo (seta) (MEV), N. vista equatorial (MEV), O. detalhe da superfície (MEV); P-R: *H. sylvaticus* – P. vista equatorial, Q,R. análise de L.O.

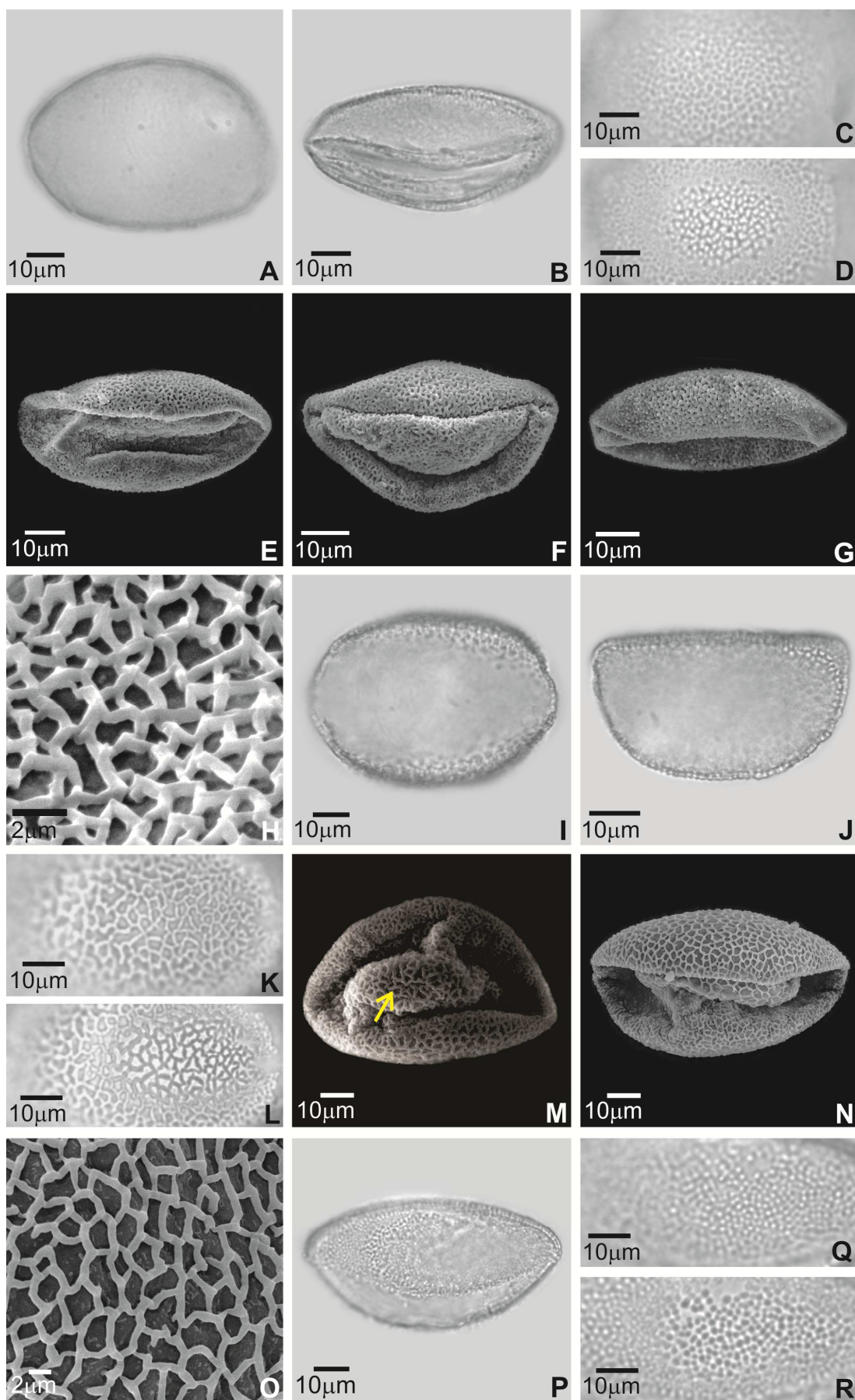
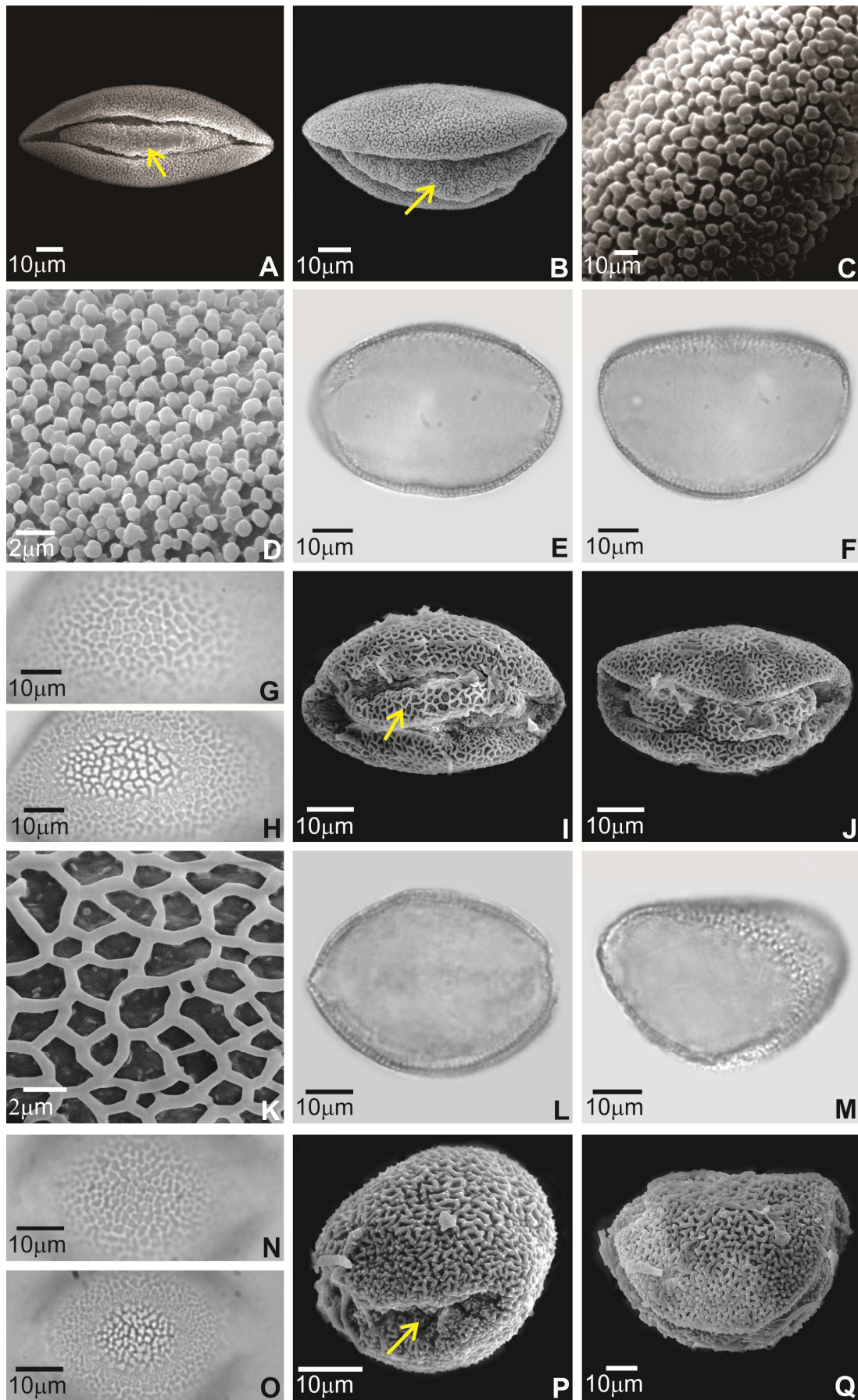


Figura 4: Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Habranthus* e *Zephyranthes*. A-D: *H. sylvaticus* – A. vista polar: opérculo (seta) (MEV), B. vista equatorial: opérculo (seta) (MEV), C. face proximal: detalhe da superfície (MEV), D. detalhe da superfície; E-K: *H. tubispathus* – E. vista polar, F. vista equatorial, G,H. análise de L.O., I. vista polar: opérculo (seta) (MEV), J. vista equatorial (MEV), K. detalhe da superfície; L-M: *Z. candida* – L. vista polar, M. vista equatorial, N,O. análise de L.O., P. detalhe da abertura (seta) (MEV), Q. vista equatorial (MEV).



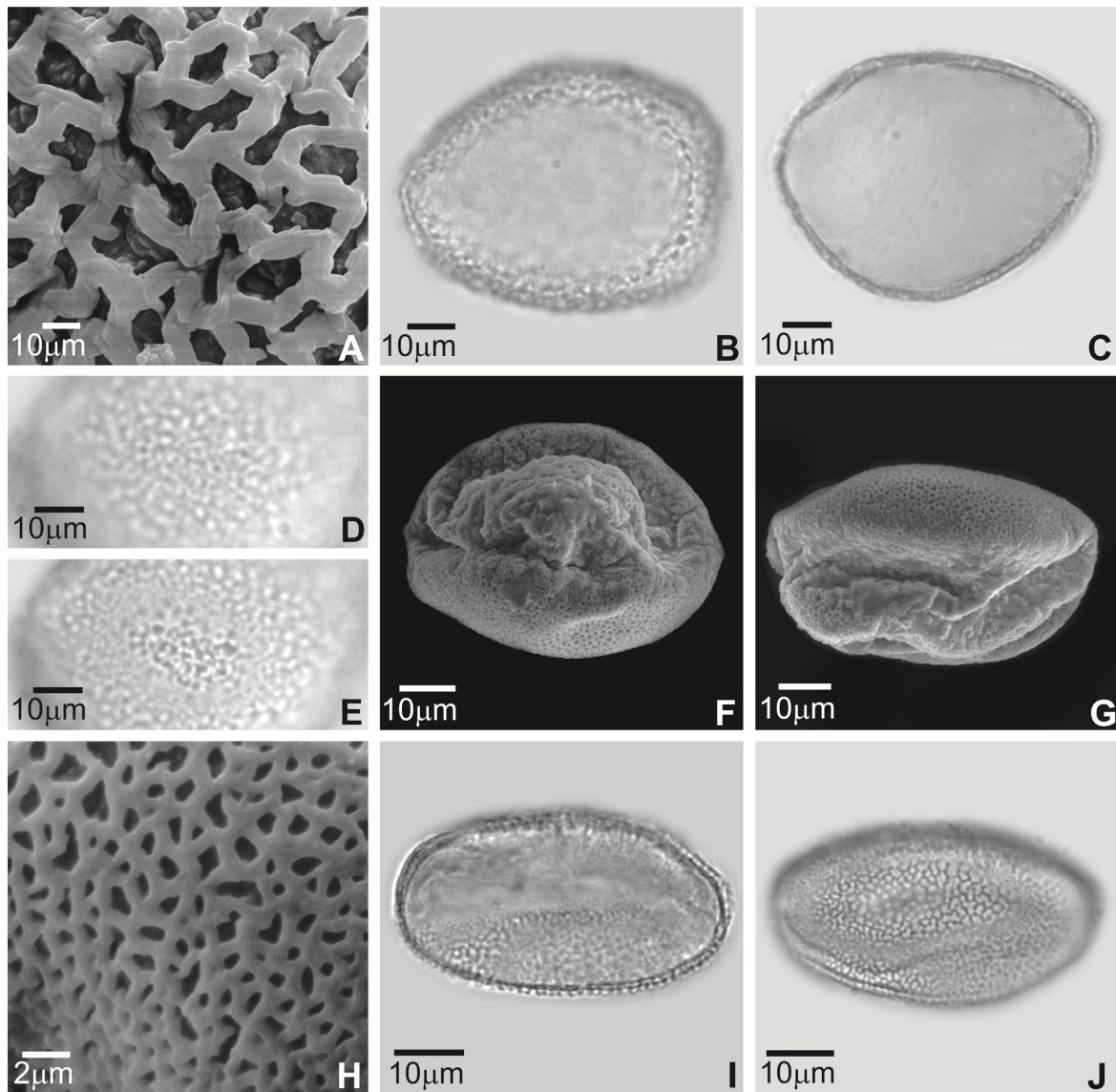


Figura 5: Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Zephyranthes*. A: *Z. candida* – A. detalhe da superfície (MEV); B-H: *Z. cearensis* – B. vista polar, C. vista equatorial, D,E. análise de L.O., F. vista polar (MEV), G. vista equatorial (MEV), H. detalhe da superfície (MEV); I-J: *Z. flavissima* – I. vista polar, J. vista equatorial.

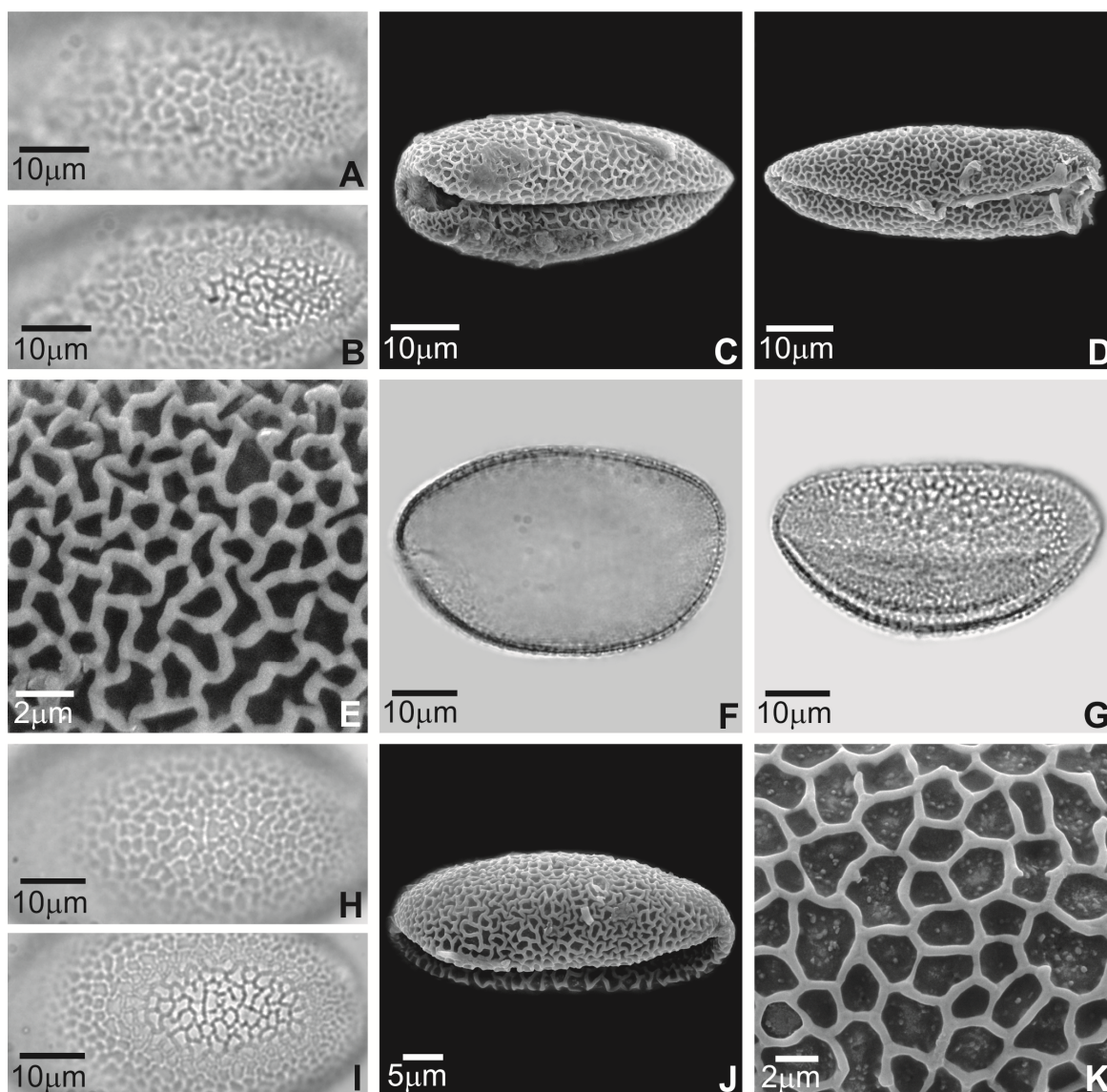


Figura 6: Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Zephyranthes*. A-E: *Z. flavissima* – A,B. análise de L.O., C. vista polar (MEV), D. vista equatorial (MEV), E. detalhe da superfície (MEV); F-K: *Z. mesochloa* – F. vista polar, G. vista equatorial, H,I. análise de L.O., J. vista equatorial (MEV), K. detalhe da superfície (MEV).

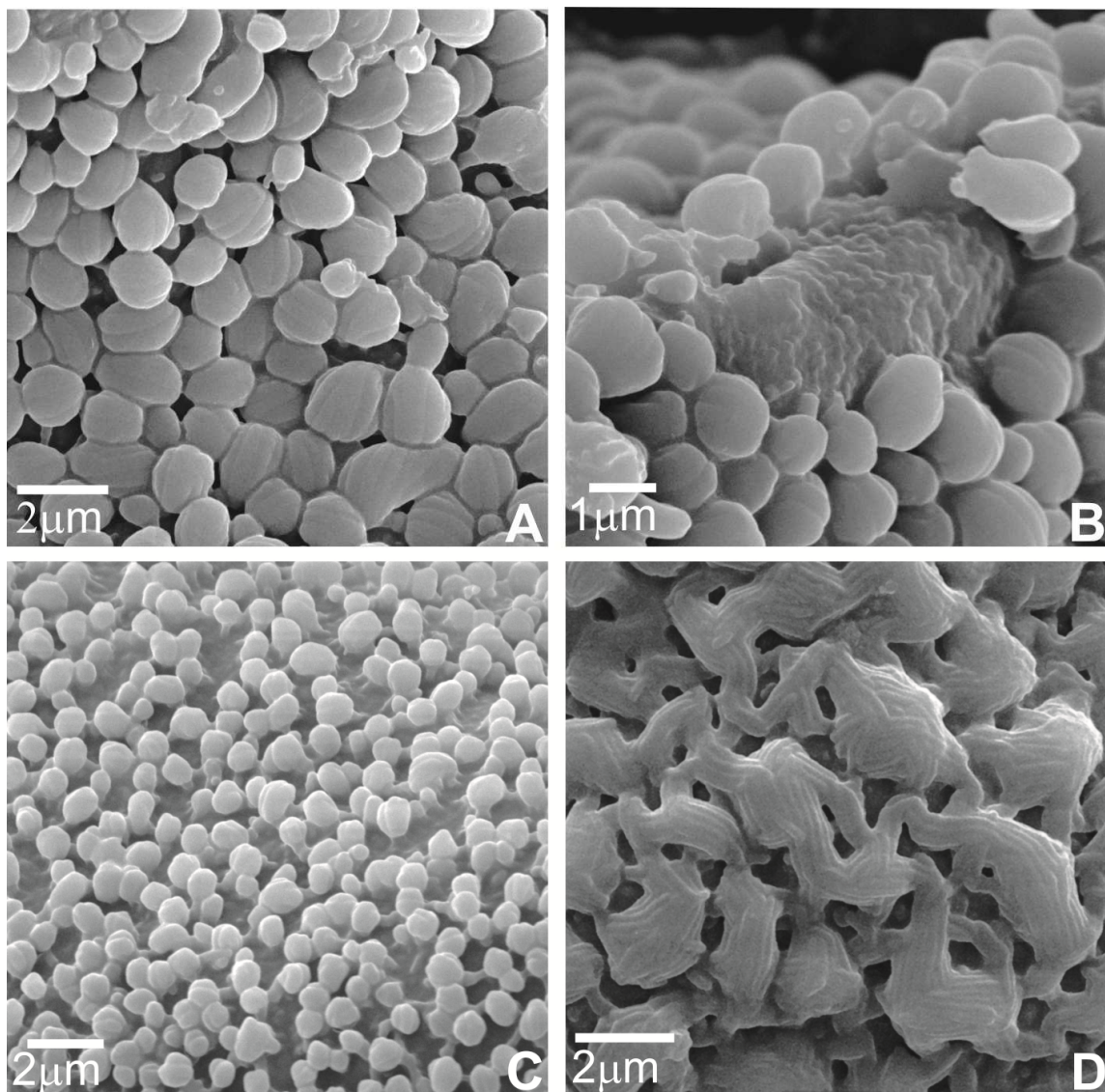


Figura 7: Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Habranthus*. A-B: *H. bahiensis* – A. detalhe da superfície (MEV), B. detalhe da superfície: pilos (MEV); C: *H. sylvaticus* – C. detalhe da superfície (MEV); D: *H. irwinianus* – D. detalhe da superfície (MEV).

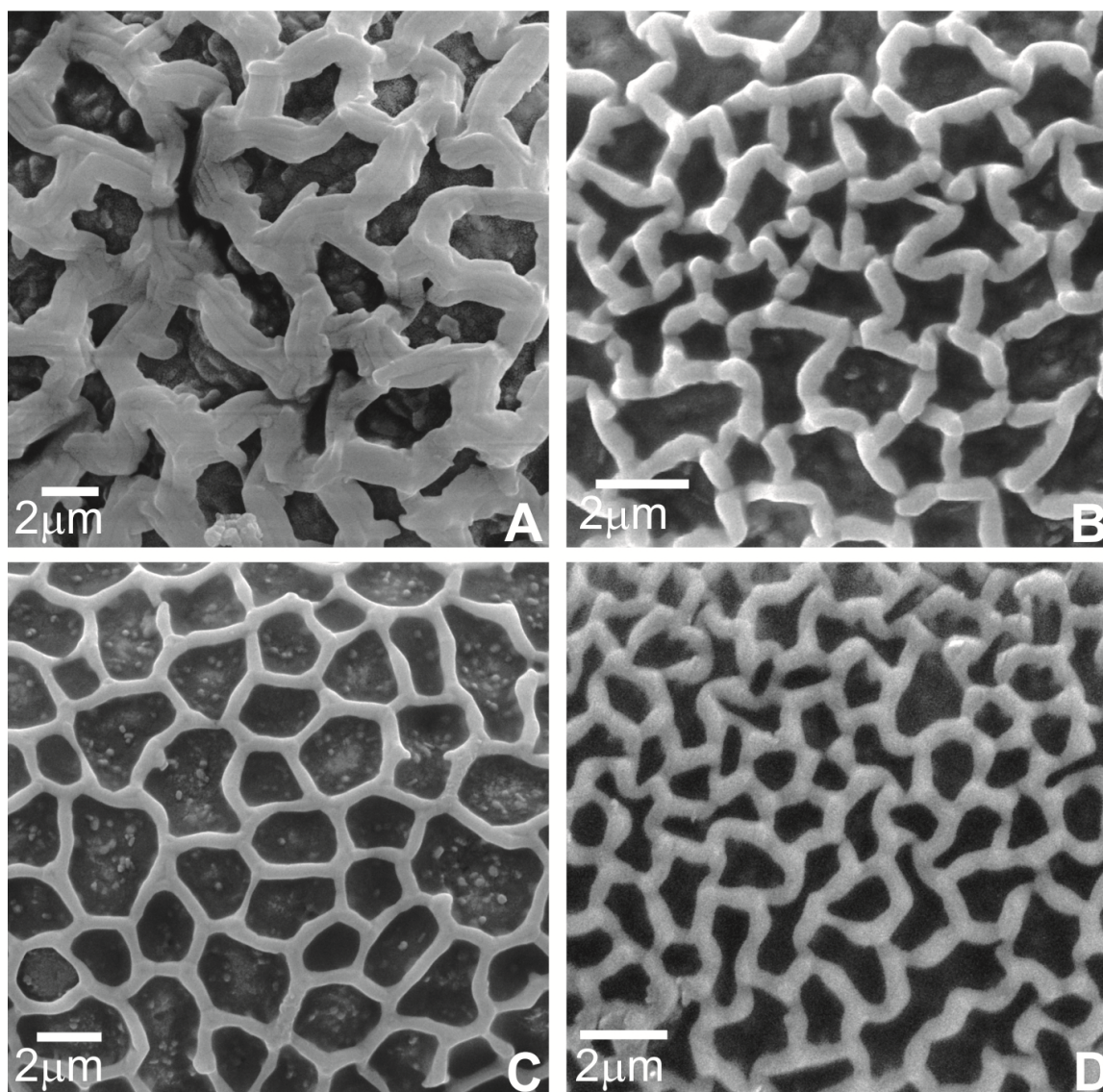


Figura 8: Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Habranthus* e *Zephyranthes*. A: *Z. candida* – A. detalhe da superfície (MEV); B: *H. gracilifolius* – B. detalhe da superfície (MEV); C: *Z. mesochloa* – C. detalhe da superfície (MEV); D: *Z. flavissima* – D. detalhe da superfície (MEV).

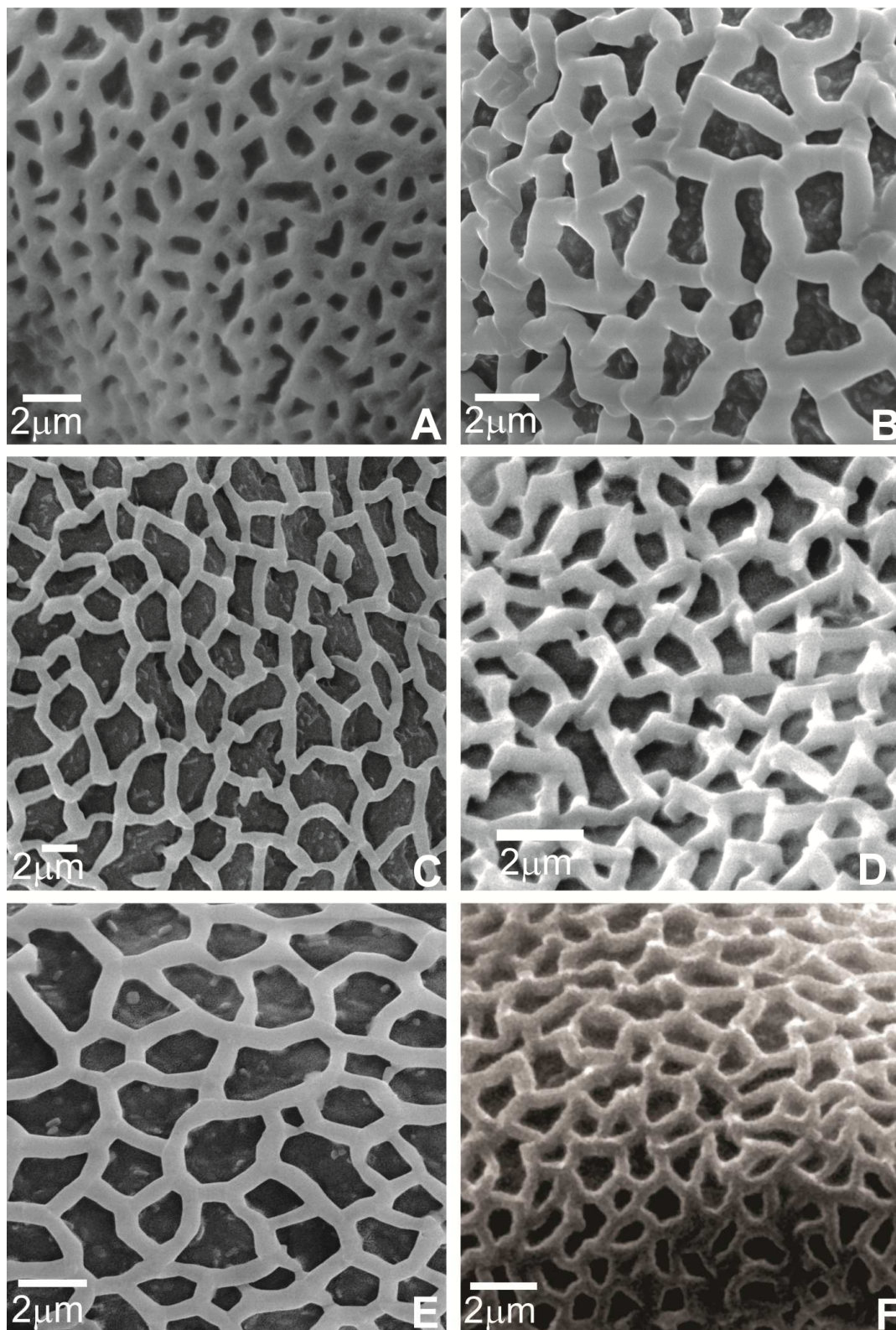


Figura 9: Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Habranthus* e *Zephyranthes*. A: *Z. cearensis* – A. detalhe da superfície (MEV); B: *H. brachyandrus* – B. detalhe da superfície (MEV); C: *H. robustus* – C. detalhe da superfície (MEV); D: *H. lucidus* – D. detalhe da superfície (MEV); E: *H. tubispathus* – E. detalhe da superfície (MEV); F: *H. lacteus* – F. detalhe da superfície (MEV).

Figura 10. Dendrograma de dados quantitativos de espécies de *Habranthus* e *Zephyranthes* por análise hierárquica de aglomeração (AHC). Espécies indicadas pelas 3 primeiras letras do epíteto específico.

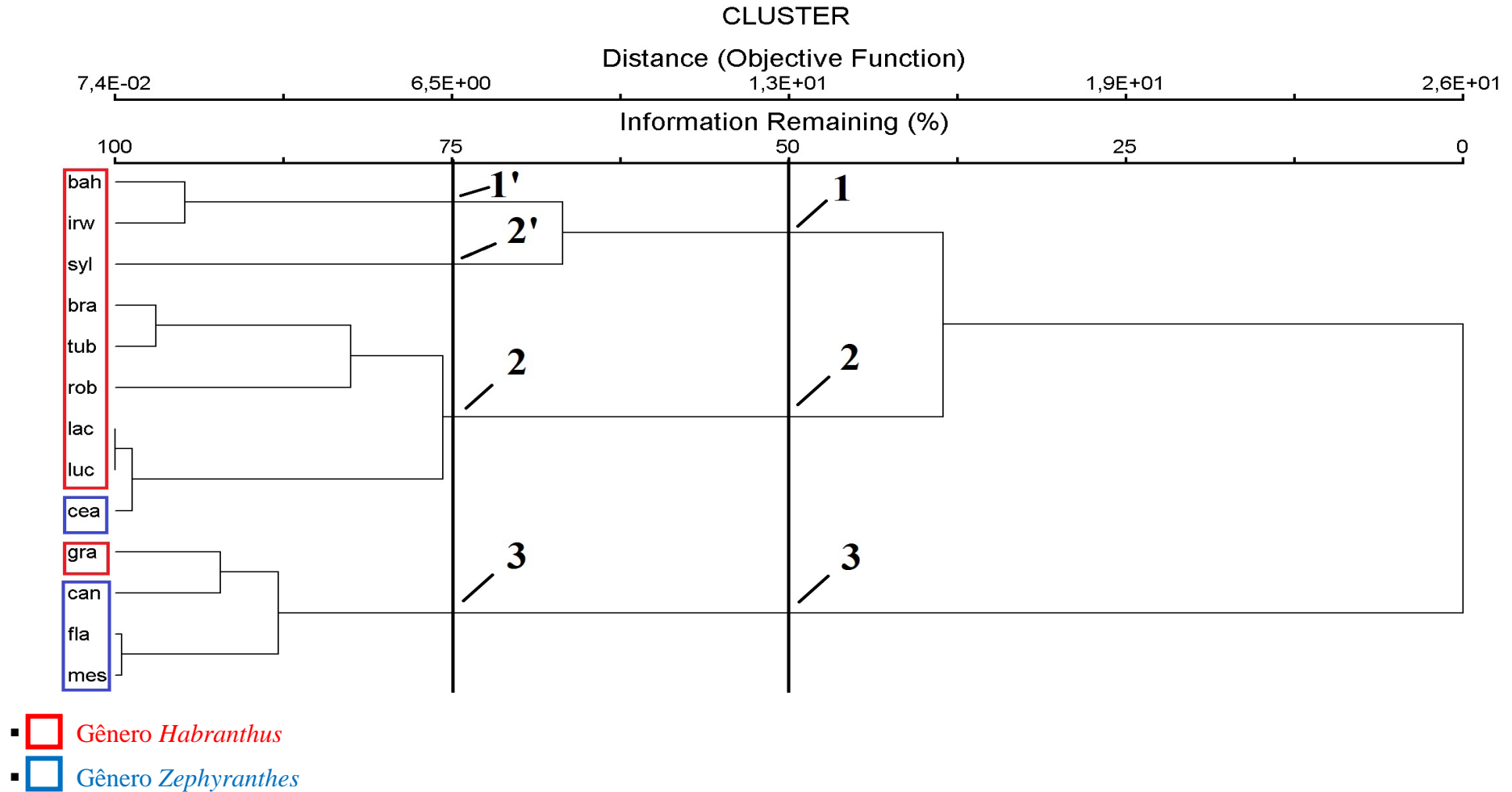
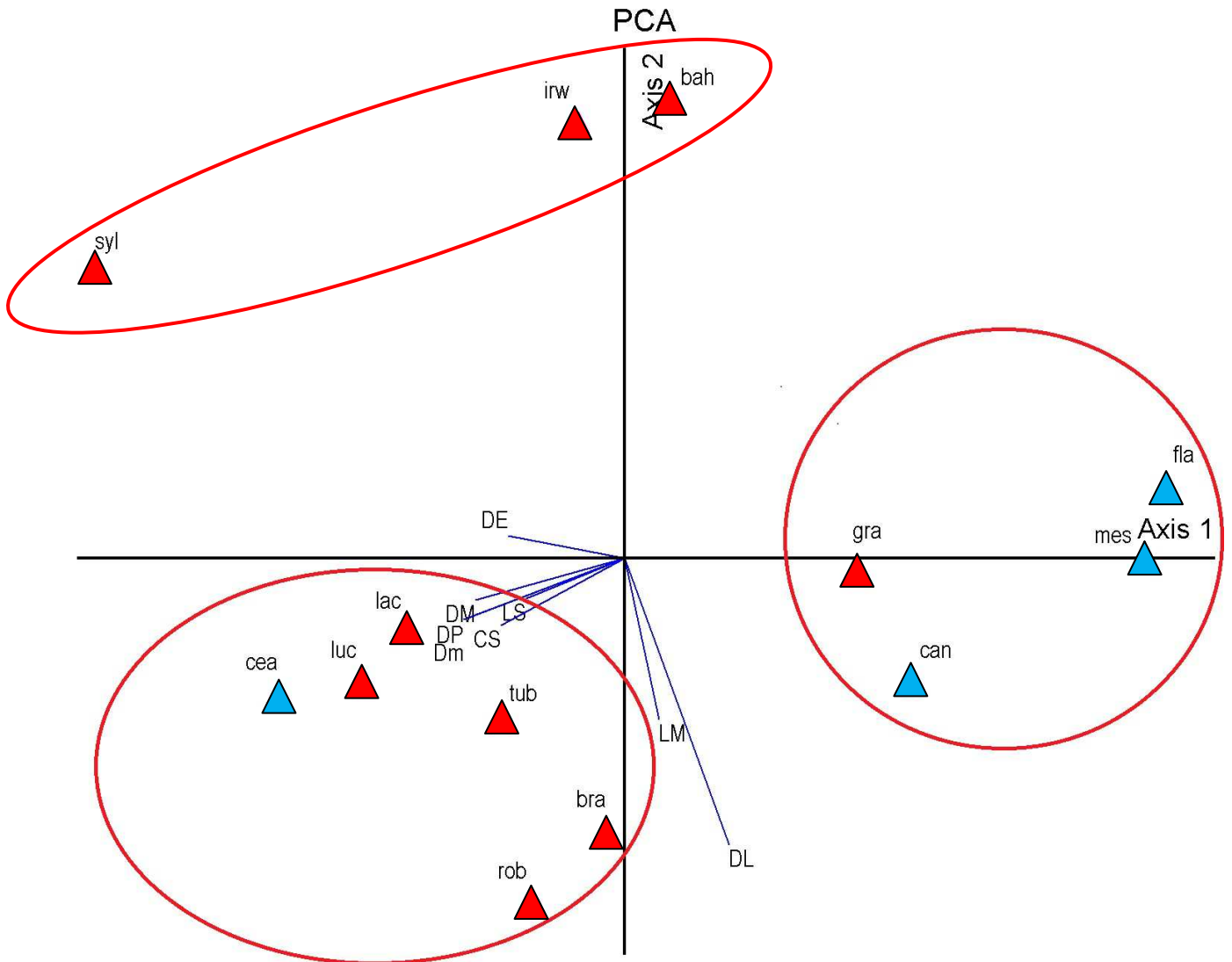


Figura 11. Gráfico bidimensional representando as espécies da *Habranthus* ▲ e *Zephyranthes* ▲ em PCA.



Apêndice 1.

Habranthus bahiensis Ravenna – **Brasil. Tocantins:** Palmeirante, 20/09/2009, J. P. Amaral* 3193 *et al.* (UB). **Bahia:** São Desidério, 01/03/2003, A. A. Santos 1780 (UB).

Habranthus brachyandrus (Baker) Sealy. – **Brasil. São Paulo:** Campinas, 10/11/1994, J. H. A. Dutilh* s/n°. (UEC 174097). **São Paulo:** Campinas, 05/02/2001, J. H. A. Dutilh s/n°. (UEC 174112). *Habranthus gracilifolius* Herb. – **Brasil. Rio Grande do Sul:** Porto Alegre, Montserrat, 16/02/1942, K. Emrich* s/n° (PACA 10173). *Habranthus irwinianus* Ravenna – **Brasil. Maranhão:** Carolina, 22/08/2010, W. L. Oliveira* 240 (UB). **Minas Gerais:** Lima Duarte, 18/10/2003, R. C. Forzza 2437 (RB). Passos, 21/09/2011, F. Santos-Silva 19 (RB). *Habranthus lacteus* (S. Moore) Ravenna – **Brasil. Bahia:** Rio de Contas, Pico das Almas, 28/10/1988, R. M. Harley 25712 (RB). **Tocantins:** Goiatins, 21/09/2009, G. P. Silva* 14627 *et al.*(UB). *Habranthus lucidus* R. S. Oliveira – **Brasil. Bahia:** Rio de Contas, 06/11/2012, J. Lovo* 388 (RB).

Habranthus robustus Herb. – **Brasil. Paraná:** 10/12/1953, s/coletor (RB 86030). **Santa Catarina:** São Bento do Sul, 05/12/2000, H. Lorenzi* 625 *et al.* (UB). **Santa Catarina:** Celso Ramos, 18/04/2006, J. P. Amaral 1034 (UB). **São Paulo:** Piracicaba, 22/09/2006, R. S. Oliveira *et al.* s/n°. (UEC 174099). *Habranthus sylvaticus* Herb. – **Brasil. Tocantins:** São Desidério, 12/02/2009, A. A. Santos* 3130 (UB). Dianópolis, 30/09/2003, T. B. Cavalcanti 3361 *et al.* (UB). Miracema do Tocantins, 25/09/1998, G. F. Árbocz 6155 (UB). *Habranthus tubispathus* (L' Her.) Traub. – **Brasil. Rio Grande do Sul:** São Gabriel, Fazenda Santa Cecilia, 01/01/1944, B. Rambo s.n. (PACA 25779).

Zephyranthes candida Herb. – **Brasil. Rio Grande do Sul:** Uruguaiana, Rio Caneleira, 14/01/1941, B. Rambo s/n° (PACA 4187). *Zephyranthes cearenses* (Herb.) Baker – **Brasil. Minas Gerais:** Ituiutaba, 10/10/1948, A. Macedo* 1264 (RB). Várzea da

Palma, 10/10/2004, J. H. A. Dutilh 175 (UEC). **Distrito Federal:** Brasília, SQS 110, Asa Sul, 10/10/1994, R. Armedi-Silva s.n. (HEPH11238). *Zephyranthes flavissima* Ravenna – **Brasil. Rio Grande do Sul:** São Francisco de Paula, Taimbezinho, 18/12/1950, B. Rambo* s.n. (PACA 49453). *Zephyranthes mesochloa* Herb. – **Brasil. Rio Grande do Sul:** São Francisco de Paula, Cambara, 01/02/1948, B. Rambo* 5773 (PACA).

Capítulo 3:

Morfologia Polínica de representantes da tribo Griffinieae Ravenna (Amaryllidoideae-Amaryllidaceae) aplicada à sistemática

RESUMO

Neste estudo foram analisados os grãos de pólen de nove espécies do gênero *Griffinia* Ker. Gawl. e uma do gênero *Worsleya* Traub. ambos compõem a tribo Griffineae e são endêmicos do Brasil. O objetivo foi avaliar se a morfologia polínica apresenta aplicabilidade para a distinção dos subgêneros (*G. subg. Griffinia* e *G. subg. Hyline*) de *Griffinia* e se fornece divergências morfológicas que permitam agrupar ou diferenciar os representantes dos gêneros *Griffinia* e *Worsleya*. Os grãos de pólen após acetólise láctica a 60% foram analisados, medidos, descritos e fotomicrografados, e grãos de pólen não acetolisados foram analisados por meio de microscopia eletrônica de varredura. As espécies apresentaram grãos de pólen médios a grandes, em mônades, heteropolares, com contorno elíptico em vista polar, monossulcados, sulcos recobertos por membrana ornamentada, sulcos com limites difusos ou bem definidos, sexina reticulada a microrreticulada. As espécies analisadas foram diferenciadas pelas características da membrana apertural, dos sulcos e da sexina, desta forma foi possível a elaboração de uma chave palinológica. As análises multivariadas (PCA e Cluster) evidenciaram que a morfologia polínica apresentou divergências morfológicas entre as espécies dos dois gêneros, além disso, foram encontrados caracteres exclusivos em cada um dos subgêneros de *Griffinia* e também no gênero *Worsleya* diferenciando-os. Desta forma, os atributos polínicos mostraram-se valiosos à sistemática de Griffineae e informativos à delimitação das espécies, inclusive as estritamente relacionadas entre si.

Palavras-chave: *Griffinia*, Palinologia, Taxonomia, *Worsleya*

ABSTRACT

In this study the pollen grains of nine species of the genus *Griffinia* Ker Gawl. were analyzed, and one of the genus *Worsleya* Traub. both make up the Griffineae tribe and are endemic to Brazil. The objective was to evaluate whether the pollen morphology is applicable to *Griffinia* subgenera (*G. subg. Griffinia* and *G. subg. Hyline*) and provides morphological divergences that allow the grouping or differentiation of *Griffinia* and *Worsleya* genera. Pollen grains after 60% lactic acetolysis were analyzed, measured, described and photomicrographed, and non-acetolysed pollen grains were analyzed by scanning electron microscopy. The species presented medium to large pollen grains, in monads, heteropolar, with elliptical contour in polar view, monosulcated, furrows covered by ornate membrane, furrows with diffuse or well defined borders, sexine crosslinked to microreticulate. The analyzed species were differentiated by the characteristics of the apertural membrane, sulcus and sexina, in this way it was possible to elaborate a palynological key. The multivariate analysis (PCA and Cluster) showed that the pollen morphology presented morphological divergences between species of the two genera, in addition, were found unique characters in each of the subgenres of *Griffinia* and also in the genus *Worsleya* differentiating them. In this way, the pollinic attributes proved to be valuable to the Griffineae systematics and informative to the delimitation of the species, including those strictly related to each other.

Keywords: *Griffinia*, Palynology, Taxonomy, *Worsleya*

1. INTRODUÇÃO

A tribo Griffineae é monofilética e de acordo com a atual classificação compreende os gêneros *Griffinia* Ker Gawl. e *Worsleya* Traub (Tab. 1) (Meerow *et al.* 2000; Stevens 2001) ambos endêmicos do Brasil, e muito sensíveis às perturbações ambientais (Dutilh 2005). Esta tribo foi proposta por Ravenna (1974) e aceita posteriormente por Preuss (1999), quando este realizou a revisão do gênero *Griffinia* que compreendia 22 táxons, ocorrendo em quase todas as regiões do Brasil, em três domínios fitogeográficos (Caatinga, Cerrado e Mata Atlântica), exceto na região sul (Dutilh & Oliveira 2015).

O gênero *Griffinia* foi estabelecido em 1820 por Ker Gawler e nomeado em homenagem ao Sr Griffin, um botânico horticultor inglês. É um gênero endêmico do Brasil e considerado criticamente em perigo (Preuss 1999), de acordo com MMA (2014) nove espécies encontram-se em perigo ou criticamente em perigo, é também caracterizado por apresentar $2n = 20$ cromossomos, com algumas populações poliploides (Dutilh 2005).

O padrão de distribuição das espécies de *Griffinia* ainda não é totalmente conhecido e as plantas são raramente encontradas nos remanescentes de Mata Atlântica, em pequenas e isoladas populações (*Griffinia* subg. *Griffinia*) e no cerrado e caatinga, eventualmente nas florestas estacionais e ambientes de restinga, na região nordeste (*Griffinia* subg. *Hyline*) (Meerow *et al.* 2002).

De acordo com a Flora do Brasil 2020 em construção *Griffinia* é encontrada nos domínios fitogeográficos caatinga, cerrado e mata atlântica e nos tipos de vegetação Caatinga (*stricto sensu*), Cerrado (*lato sensu*), Floresta Ciliar ou Galeria, Floresta

Estacional Decidual, Floresta Estacional Semidecidual, Floresta Ombrófila (= Floresta Pluvial) e Restinga.

Segundo Ravenna (1969) o gênero compreende dois subgêneros: *Griffinia* subg. *Griffinia* e *Griffinia* subg. *Hyline*. A morfologia dos dois subgêneros é divergente: em *Griffinia* subg. *Griffinia*, as folhas são simétricas e variam desde elípticas estreitas a amplamente ovadas, a lâmina pode ser salpicada de branco em algumas espécies, a inflorescência é composta por 4-20-flores, de tamanho variável, de 1,5 cm a cerca de 11 cm de comprimento, de antese diurna, sem cheiro, e lilases e/ou brancas, as tépalas são dispostas em um padrão 5 + 1, dando uma aparência bilabiada, o pólen é branco, o número de óvulos por lóculo varia de 2-10. Em *Griffinia* subg. *Hyline* representado pelas espécies *G. gardineriana* e *G. nocturna*, as folhas são ligeiramente falcadas e estreitamente elípticas, a inflorescência é composta por 2-3-flores, e as flores são grandes, de antese noturna, perfumadas e brancas, o perianto não é tão fortemente zigomorfo como no subgênero *Griffinia*, o pólen é amarelo, o número de óvulos por faixas de lóculo é 10-16 (Meerow *et al.* 2002).

No levantamento das espécies de Amaryllidoideae no nordeste brasileiro o gênero *Griffinia* foi representado por oito espécies, onde apenas duas espécies foram encontradas em campo: *Griffinia espiritensis* var. *baiana* Preuss & Meerow (*G. subg. Griffinia*) com ocorrência para Bahia e Espírito Santo e *Griffinia gardineriana* (Herb.) Ravenna (*G. subg. Hyline*) com ocorrência para Bahia, Ceará, Maranhão, Pernambuco, Piauí e Rio grande do Norte (Alves-Araújo *et al.* 2009).

O conhecimento sobre o gênero ainda permanece insuficiente, as espécies não se encontram devidamente caracterizadas e as informações sobre a variação morfológica

nas populações, assim como sua ecologia, ainda são muito limitadas (Campos-Rocha 2015)

Recentemente, Campos-Rocha (2015) analisando a taxonomia e morfologia externa do gênero *Griffinia* o considerou formado por 15 espécies, além de duas espécies duvidosas (*G. cordata* e *G. leucanta*) por terem sido descritas a partir de um único material de procedência incerta, e três excluídas por atualmente estarem posicionadas em outros gêneros. Atualmente considera-se 20 espécies e três variedades pertencentes ao gênero *Griffinia* (Lista da flora 2020 em construção) (Quadro 1).

Segundo Dutilh & Oliveira (2015), *Worsleya* compreende uma única espécie, *Worsleya procera* (Lem.) Traub, também chamada de “amarílis azul” é endêmica da Serra dos Órgãos, cidade de Petrópolis, Rio de Janeiro. Ela cresce em um afloramento rochoso, com alta umidade durante todo o ano. Seu bulbo cresce na rocha ou em fendas com mais matéria orgânica, em pleno sol, cada bulbo produz dois escapos com várias flores azuladas e a população pode florir da primavera para o verão. Também é muito ornamental vegetativamente e apresenta $2n = 42$ cromossomos (Dutilh 2005).

Worsleya apresenta folhas persistentes, falcadas, inflorescência com 4-14 flores, grandes e vistosas, perigônio zigomorfo e lilás, estigma capitado e sementes pretas (Meerow & Snijman 1998).

Trabalhos envolvendo a caracterização palinológica dos representantes dos gêneros *Griffinia* e *Worsleya* são escassos, chegando a ser inexistentes em relação a algumas espécies. O mesmo acontece no que diz respeito a estudos envolvendo a morfologia como um todo.

O tipo de abertura dos grãos de pólen da espécie de *Griffinia hyacinthina* foram caracterizados como monosulcados por Hassall (1842).

As interpretações dos caracteres palinológicos das espécies pertencentes à família Amaryllidaceae, ocorrentes no nordeste brasileiro, demonstraram que a variedade *Griffinia espiritensis* var. *baiana* (*G. subg. Griffinia*) e a espécie *Griffinia gardineriana* (*G. subg. Hyline*). analisadas são semelhantes palinologicamente (Alves-Araújo & Santos 2007).

Estudos palinológicos em relação ao gênero *Worsleya* não foram encontrados na literatura.

O presente trabalho tem como objetivo analisar se a morfologia polínica apresenta aplicabilidade para a distinção dos subgêneros de *Griffinia*; se fornece divergências morfológicas que permitam agrupar ou diferenciar os representantes dos gêneros *Griffinia* e *Worsleya*, corroborando ou não o reconhecimento da tribo Griffinieae.

Quadro 1: Classificação para a tribo Griffinieae de acordo com Preuss (1999), Dutilh & Oliveira (2015) e (Lista da flora 2020 em construção) adaptado.

| Classificação | Espécies/Variedades |
|--|---------------------|
| 1. Tribo Griffinieae Ravenna | 21/3 |
| 1.1. Gênero <i>Griffinia</i> Ker Gawl | 20/3 |
| 1.1.1. Subgênero <i>Griffinia</i> Ravenna | 18/3 |
| 1.1.2. Subgênero <i>Hyline</i> | 2 |
| 1.2. Gênero <i>Worsleya</i> Traub | 1 |

2. MATERIAL E MÉTODOS

2.1. O grupo de estudo

Foram estudadas palinologicamente nove espécies de *Griffinia* e uma espécie de *Worsleya*, a fim de, analisar comparativamente os atributos polínicos das espécies em questão. Procurou-se analisar o maior número possível de espécies de cada gênero para melhor representá-los. Foi fator limitante a disponibilidade de material nos herbários assim como as condições ideais para coleta das flores/anteras.

2.2. Levantamento das coleções nos Herbários

Realizou-se um levantamento prévio da distribuição da coleção dos gêneros através do *Species Link* (slink.cria.org.br/), com o objetivo de definir os principais herbários a serem visitados ou terem sua coleção solicitada para empréstimo. A partir dessa relação foram priorizados os herbários com maior representatividade e variedade de espécies da tribo Griffinieae.

2.3. 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 IAC, R, RB, UEC e VIES, as siglas estão de acordo com o Index Herbariorum (Thiers continuamente atualizado). Priorizou-se material identificado pelos taxonomistas da família, a fim de evitar equívocos durante as análises palinológicas. 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

morfométrica dos espécimes. O material examinado é discriminado em ordem alfabética para estado e município.

2.4. 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), devido a pouca resistência ou à fragilidade dos grãos de pólen ao método da acetólise tradicional.

Para a montagem das lâminas foi utilizada gelatina glicerinada preparada segundo Kisser (1935 *apud* Erdtman 1952) e cortada em pequenos cubos. 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 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.

2.5. 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 estiletes 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, analisado em aparelho JEOL JSM 6390 LV do Laboratório de Microscopia Eletrônica de Invertebrados do Museu Nacional/UFRJ e em aparelho Zeiss DMS 960, localizado no Laboratório Ultraestrutura Celular Hertha Meyer do Instituto de Biofísica/UFRJ.

As eletromicrografias de cada espécie foram organizadas em pranchas elaboradas no programa CorelDraw 17. A chave polínica foi elaborada com base nas características observadas em microscopia de luz e eletrônica de varredura.

2.6. Medidas

Do material padrão foram mensurados grãos do pólen em vistas polar e equatorial, tomados aleatoriamente, em pelo menos três lâminas a fim de homogeneizar a amostra (Salgado-Labouriau 1973). Foram feitas, ao acaso, 25 medidas em microscópio, dos diâmetros maior (DM) e menor (Dm) quando em vista polar, 10 medidas dos diâmetros polar (DP) e equatorial (DE), quando em vista equatorial; das camadas da exina, da abertura, do diâmetro do lúmen do retículo, do material de comparação. Devido à queda do grão de pólen na lâmina, preferencialmente, em vista polar, tornou-se difícil a obtenção de grãos de pólen em vista equatorial, razão pela qual procurou-se obter apenas 10 medidas desta vista. De cada espécime foi montado um mínimo de três lâminas permanentes com os grãos de pólen acetolisados de forma a uniformizar 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 (Melhem *et al.* 2003). As formas e a ornamentação da exina foram analisadas e descritas posteriormente. As lâminas utilizadas no estudo foram depositadas na Palinoteca do Laboratório de Palinologia Álvaro Xavier Moreira, no Departamento de Botânica do Museu Nacional/UFRJ.

2.7. 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_x), intervalo de confiança a 95% (IC 95%) e faixa de variação. Os resultados do tratamento estatístico são apresentados em forma de tabelas.

2.8. Análise multivariada dos dados

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 sete variáveis, para melhor organização dos dados nos gráficos elaborados, abreviou-se o nome das espécies com as primeiras três/quatro letras dos epítetos e os atributos polínicos (variáveis) foram expressos pelas iniciais das palavras que os definem.

As variáveis incluídas nas análises multivariadas foram: DM (Diâmetro Maior), Dm (Diâmetro menor), DP (Diâmetro Polar), DE (Diâmetro Equatorial), LS (Largura do Sulco), CS (Comprimento do Sulco) e DL (Diâmetro do Lúmem).

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, coordenadas 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.

Foi realizada a análise de agrupamento (Cluster-AHC) com o objetivo de classificar as espécies em grupos que compartilham (similaridade) variáveis polínicas. Foram considerados dois aspectos em relação aos grupos formados e ao conjunto de

varáveis 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.

2.9. Terminologia

A terminologia adotada para descrição dos grãos de pólen foi a de Punt *et al.* (2007) levando-se em consideração o tamanho, a forma e o padrão de ornamentação da sexina. Em relação à ornamentação da área apertural seguiu-se, com algumas modificações, Halbritter (1992) e Halbritter & Hesse (1993).

Para a classificação dos grãos de pólen quanto ao tamanho foram utilizados os seguintes parâmetros: muito pequeno (< 10 μm); pequeno (10-25 μm); médio (25-50 μm); grande (50-100 μm); muito grande (100-200 μm) e gigante (>200 μm) (Erdtman 1952).

3. RESULTADOS

Foram analisadas nove espécies do gênero *Griffinia* (oito espécies subordinadas ao subgênero *Griffinia* e 1 ao subgênero *Hyline*) e a espécie *Worsleya procera* (Tab.1). A descrição palinológica está organizada de acordo com os seguintes caracteres polínicos: tamanho, unidade de dispersão, polaridade, contorno, tipo e número de abertura e padrão de ornamentação da sexina.

3.1. Descrição Polínica

3.1.1. Tamanho – A maioria das espécies analisadas do gênero *Griffinia* apresentam grãos de pólen grandes, médios apenas em *G. alba* ($x= 43,7$) e em *G. paubrasilica* ($x= 48,0 \mu\text{m}$). Em vista polar, as menores dimensões do diâmetro maior (DM) dos polens grandes foram registradas em *G. espiritensis* ($x= 53,0 \mu\text{m}$) e as maiores, em *G. gardneriana* ($x= 72,6 \mu\text{m}$). Grãos de pólen grandes foram registrados em *Worsleya procera* ($x= 84,5 \mu\text{m}$) (Tab. 1, 2).

3.1.2. Unidade de dispersão, polaridade, contorno – Todas as espécies de *Griffinia* e *Worsleya procera* apresentam grãos de pólen em mônades, heteropolares, em vista polar o contorno é elíptico (Fig. 1A, K, N; 2C, J, P; 3F, L; 4A, H), em vista equatorial o contorno pode variar de plano-convexa (Fig. 1B) à ligeiramente convexo-convexa (Fig. 2K, Q; 3G, M; 4B).

3.1.3. Abertura – Grãos de pólen sulcados foram encontrados em todas as espécies analisadas. Os sulcos são quase tão longos quanto os diâmetros maiores dos grãos de pólen, que são de difícil mensuração sob microscopia de luz, devido ao grão de pólen

sofrer ruptura com o processo de acetólise. Sua visualização mais detalhada é possível sob microscopia eletrônica de varredura. As extremidades dos sulcos são agudas ou arredondadas (Fig. 1E, L, R; 2F, N; 3J, P; 4E, L). O maior valor para o comprimento do sulco foi encontrado em *Worsleya procera* ($x=80,4\mu\text{m}$) e o menor em *G. alba* ($x=37,9\mu\text{m}$), com relação à largura o maior valor foi em *Worsleya procera* ($x=11,2\mu\text{m}$) e o menor em *G. gardneriana* ($x=5,5\mu\text{m}$).

Em MEV observam-se sulcos com limites bem definidos (Fig. 1E, L; 2F, N; 3J, P; 4E, L), limites difusos foram encontrados apenas em *G. intermedia* (Fig. 3C, D). A membrana apertural é ricamente ornamentada por sexina formando aréolas conspícuas e microrreticuladas na maioria das espécies, com aréolas psiladas em *G. espiritensis* (Fig. 1R) ou aparentemente não apresentando ornamentação na membrana apertural como em *G. paubrasilica* (Fig. 4E) e *W. procera* (Fig. 4L, M). Nas espécies com as aréolas microrreticuladas, pode-se constatar algumas diferenças na organização dos elementos de ornamentação: **a**) aréolas esparsamente distribuídas em *G. alba* (Fig. 1E, F), *G. hyacinthina* (Fig. 2N) e *G. liboniana* (Fig. 3J); **b**) aréolas densamente distribuídas em *G. parviflora* (Fig. 3P); **c**) aréolas organizadas em pequenos grupos em *G. concinna* (Fig. 1L) e *G. gardneriana* (Fig. 2H, I), esta última apresenta processos baculiformes supratectais semelhantes ao padrão de ornamentação do restante do grão de pólen; **d**) aréolas fusionadas em determinadas áreas formando pequenos “cordões” em *G. intermedia* (Fig. 3C, D).

3.1.4. Estratificação e padrão de ornamentação da exina – Em todas as espécies de *Griffinia* a exina apresenta espessura de 2 μm , sendo a nexina tão espessa quanto a sexina. Em *Worsleya procera* a exina possui espessura de 1,9 μm e a sexina é

quase tão espessa quanto a nexina (Tab 3). Sexina semitectada foi encontrada nos grãos de todas as espécies analisadas. A ornamentação da sexina variou entre as espécies de *Griffinia*: **1) reticulada, heterobrocada** – **a)** muros estreitos e sinuosos (ca. 0,8 μm), com perfurações esparsas, lumens grandes (ca. 3,2 μm), alongados, ornamentados com grânulos esparsos e columelas visíveis em *G. concinna* (Fig. 1M, 5A), **b)** muros estreitos e retos (ca. 0,6 μm), perfurações esparsas, lumens pequenos, (ca. 1,5 μm), sem ornamentação e com columelas visíveis em *G. parviflora* (Fig. 3R, 5B); **c)** muros largos e retos (ca. 1,7 μm), perfurações esparsas, lumens grandes (ca. 3,5 μm) ornamentados, com columelas visíveis em *G. paubrasilica* (Fig. 4G, 5C); **2) microrreticulada** em *G. alba* (Fig. 1F, G, 6A), *G. espiritensis* (Fig. 2A, B, 6B), *G. gardneriana* (Fig. 2G, I, 6C), *G. hyacinthina* (Fig. 2N, O, 6D), *G. intermedia* (Fig. 3C, D, E, 6E) e *G. liboniana* (Fig. 3J, K, 6F). Em *G. alba* e *G. liboniana* os lumens são mais visíveis parecendo, em algumas regiões, um retículo; em *G. gardneriana* a superfície apresenta báculos e microespinhos esparsos.

Worsleya procera apresentou sexina reticulada, heterobrocada, muros estreitos (ca. 0,7 μm), retos, com perfurações esparsas, lumens grandes (4,7 μm), com lumens de menores dimensões ao redor dos lumens maiores, ornamentados, columelas não visíveis (Fig. 4M, N, 5D).

As medidas dos grãos de pólen dos espécimes de comparação (Tabela 4) estão dentro do intervalo de confiança dos respectivos materiais padrão ou de suas faixas de variação.

De acordo com os resultados obtidos, as características da abertura e da membrana apertural e também o padrão de ornamentação da exina dos grãos de pólen, foram os atributos polínicos mais significativos que permitiram agrupar ou separar as

espécies de Griffinieae analisadas. Portanto, as espécies foram organizadas em uma chave polínica de acordo com os caracteres citados.

3.2. Chave Polínica para identificação das espécies da tribo Griffineae

1. Sulcos com limites difusos.....*G. intermedia*
1. Sulcos com limites bem definidos
 2. Membrana apertural não ornamentada, aréolas ausentes
 3. Muros largos (ca. 1,7 μm), lumens (ca. 3,5 μm), com columelas visíveis.....*G. paubrasilica*
 3. Muros estreitos (ca. 0,7 μm), lumens (4,7 μm), columelas não visíveis.....*W. procera*
 2. Membrana apertural ornamentada, com aréolas
 4. Aréolas conspícuas psilada.....*G. espiritensis*
 4. Aréolas conspícuas microrreticuladas
 5. Grãos de pólen médios.....*G. alba*
 5. Grãos de pólen grandes
 6. Grãos de pólen sexina reticulada
 7. Muros sinuosos, com perfurações esparsas, lumens grandes (ca. 3,2 μm), alongados, ornamentados com grânulos esparsos e columelas visíveis.....*G. concina*
 7. Muros retos, perfurações esparsas, lumens pequenos, (ca. 1,5 μm), sem ornamentação e com columelas visíveis.....*G. parviflora*
 6. Grãos de pólen com sexina microrreticulada
 8. Superfície com báculos e microespinhos.....*G. gardneriana*
 8. Superfície sem báculos e microespinhos
 9. Lumens mais visíveis.....*G. liboniana*
 9. Lumens menos visíveis.....*G. hyacinthina*

3.3. Análises Multivariadas

3.3.1. Análise de agrupamento hierárquico (HCA)

As relações entre as espécies dos gêneros *Griffinia* e *Worsleya*, produziram um dendograma com 35,00% de encadeamento de explicação dos dados. Ao levar em consideração o percentual de informações (variáveis) e a quantidade final de grupos formados, observa-se a formação de dois grupos, quando analisado 50% das informações remanescentes. Todas as espécies analisadas pertencentes ao gênero *Griffinia* subordinadas ao subg. *Griffinia* formaram o grupo 1. O grupo 2 foi constituído pelas espécies *G. gardneriana* subg. *Hyline* e *W. procera*. Ao ampliar a quantidade de variáveis analisadas (75% de informações remanescentes) o grupo 2 permaneceu inalterado, o grupo 1 foi subdividido em dois grupos 1' e 2'. Neste caso observou-se que o grupo 1' passou a ser formado apenas pela espécie *G. alba* e o grupo 2' compreendeu as demais espécies que formaram anteriormente o grupo 1 (*G. concinna*, *G. espiritensis*, *G. hyacinthina*, *G. intermedia*, *G. liboniana*, *G. parviflora* e *G. paubrasilica*) (Fig. 7).

Ampliando ainda mais a quantidade de variáveis analisadas (87,5% de informações remanescentes) o grupo 1' permaneceu sem alterações, porém ocorreu a subdivisão do grupo 2' em dois outros grupos 2'A = (*G. concinna*, *G. hyacinthina*, *G. parviflora*, *G. intermedia*) e 2'B = (*G. espiritensis*, *G. liboniana*, *G. paubrasilica*). Desta forma o grupo 2 também subdividiu-se em dois grupos: 2a = (*G. gardneriana*) e 2b = (*W. procera*) (Fig. 7).

3.3.2. Análise de componente principal (PCA)

O resultado do PCA explicou 95,27% do total da variância. Os dois primeiros eixos principais foram significativos, com 88,70% e 6,56% de variância

respectivamente (Tab. 5). O CS (Comprimento do sulco), Dm (Diâmetro menor) e o DM (Diâmetro maior) foram as variáveis mais significativas do primeiro componente principal. No segundo eixo as variáveis que apresentaram maiores valores foram: DL (Diâmetro do Lúmem), LS (Largura do Sulco) e DE (Diâmetro equatorial) (Tab. 5).

O eixo 1 apresentou espécies bastante dispersas entre os polos positivo e negativo, com destaque para *W. procera* no extremo polo negativo e *G. alba* no extremo polo positivo deste mesmo eixo, o mesmo resultado não foi constatado no eixo 2, onde as espécies estão pouco dispersas em ambos os polos. A disposição das espécies facilitou a formação de grupos bem estabelecidos, isso ocorreu devido ao fato das espécies apresentarem características que as diferenciam entre si (Fig. 8).

Foi possível observar a separação das espécies, inicialmente, em três grupos definidos pelas variáveis CS (Comprimento do Sulco), Dm (Diâmetro menor) e DE (Diâmetro Equatorial).

As espécies *Griffinia hyacinthina*, *G. intermedia*, *G. parviflora* e *G. concinna* ficaram próximas entre si e se distanciaram das demais espécies pelos valores de Dm, já *G. espiritensis*, *G. liboniana* e *G. paubrasilica* mantiveram proximidade pelos valores de CS (Fig. 8).

Os táxons *G. gardineriana* subordinada ao subg. *Hyline* e *W. procera* apresentaram os maiores valores de DM, Dm, DP, DE e CS, fazendo com que eles se afastassem das demais espécies e se agregassem (Fig. 8).

Os menores valores de DM, Dm, DP, DE e CS foram observados em *G. alba* que deslocou-se para o extremo polo positivo do eixo1, isolando-se das demais espécies (Fig. 8).

4. DISCUSSÃO E CONCLUSÃO

Os grãos de pólen das espécies estudadas mostram homogeneidade quanto ao tipo e número de abertura (monosulcada), unidade de dispersão (mônades), polaridade (heteropolares) e âmbito em vista polar (elíptico).

Com relação ao tamanho, as espécies de *G.* subg. *Griffinia* apresentaram grãos de pólen médios (*G. alba* e *G. paubrasilica*) ou grandes nas demais. A espécie *Griffinia gardneriana*, subordinada ao subgênero *Hyline*, destacou-se por apresentar o maior valor de DM (diâmetro maior) dentre as espécies do gênero. *Worsleya procera* apresentou grãos de pólen grandes, superando a média de DM de todas as espécies analisadas.

Todas as espécies analisadas apresentaram o mesmo número e tipo de abertura (monosulcada). De acordo com Walker & Doyle (1975), Zavada (1983) e Furness & Rudall (2004), grãos de pólen com uma abertura foram considerados menos derivados e amplamente encontrados nas monocotiledôneas. A perda do sulco, que geralmente é acompanhada por redução na espessura e complexidade da exina parece ser a tendência evolutiva mais notável entre os tipos de abertura das monocotiledôneas (Zavada 1983). No presente estudo esta propensão pôde ser notada em *G. intermedia* (sulcos com limites difusos) indicando uma possível derivação no grupo.

Os sulcos apresentaram limites difusos apenas em *G. intermedia* o que permitiu separá-la das demais espécies, conforme apresentado na chave polínica. Membrana apertural ricamente ornamentada por aréolas microrreticuladas foi observada na maioria das espécies estudadas (*G. alba*, *G. hyacinthina*, *G. liboniana*, *G. parviflora*, *G. concinna*) e com processos baculiformes supratactais em *G. gadneriana* (*G.* subg. *Hyline*). Membrana ornamentada por aréolas psiladas foi encontrada apenas em *G.*

espiritensis e aparentemente não ornamentada em *G. paubrasilica* e *W. procera*. As diferenças descritas no presente estudo, em relação à membrana apertural, puderam separar as espécies de Griffineae e são relatadas pela primeira vez para a tribo.

Membrana apertural ornamentada por aréolas/insulas é uma característica relatada para diferentes gêneros da família Amaryllidaceae tais como *Sternbergia* Waldst. & Kit., *Leucojum* L., *Galanthus* L., *Narcissus* L. (Dönmez & Isik 2008), e também para outras famílias de monocots como Bromeliaceae, Asparagaceae, Liliaceae (Halbritter & Hesse 1993).

A importância da forma básica da abertura (sulcada, porada, etc.) e a variação dos sulcos para a sistemática foi relatada também por Halbritter (1992) na família Bromeliaceae.

As características e formas dos sulcos são pouco conhecidas e dificilmente utilizadas na sistemática, apesar disso, o profundo conhecimento dessas tipologias de abertura são valiosas e indiscutíveis (Halbritter & Hesse 1993).

A caracterização dos grãos de pólen da família Amaryllidaceae feita por Erdtman (1952), a partir da análise de cerca de 90 espécies subordinadas a 60 gêneros, revelou polens monosulcados ou bisulcados, grandes ou muito grandes e sexina tão espessa quanto a nexina. Contudo, os grãos de pólen das espécies aqui estudadas apresentaram apenas uma abertura (monosulcados) e o tamanho variou de médio a grande, já a estratificação da exina mostrou resultados compatíveis ao do autor.

Grãos de pólen grandes a muito grandes foram descritos para o gênero *Griffinia* por Alves-Araújo & Santos (2007), embora no presente trabalho apenas polens médios a grandes tenham sido encontrados.

A ornamentação da sexina foi um atributo importante para a separação dos taxons analisados que possibilitou a identificação de dois padrões: **reticulado**, heterobrocado encontrado em *G. concinna*, *G. parviflora*, *G. paubrasilica* e *W. procera*. Nesta última foi constatada a presença de lumens de menores dimensões ao redor dos lumens maiores; **microrreticulado** em *G. alba*, *G. espiritensis*, *G. gardneriana*, *G. hyacinthina*, *G. intermedia* e *G. liboniana*.

As espécies que apresentaram sexina reticulada puderam ser diferenciadas pelas características dos muros, lumens e columelas, como exposto na chave polínica. Entre as espécies com sexina microrreticulada, destaca-se *G. gardneriana* (*G. subg. Hyline*), a única que apresentou báculos e microespinhos suprategmiais. Este último padrão de ornamentação da exina foi semelhante ao descrito por Alves-Araújo & Santos (2007) para *G. gardneriana* espécie registrada para o nordeste brasileiro. Estes autores também analisaram os grãos de pólen de *G. espiritensis* var. *bahiana*, espécie não tratada no presente estudo, embora não tenham feito análise sob MEVconcluíram que estes são semelhante aos de *G. gardneriana*.

A presença de retículo com lumens de menores dimensões ao redor dos lumens maiores constatada em *W. procera* foi observada anteriormente por Candido *et al.* (2013) porém, para espécies do gênero *Hippeastrum* Herb..

O padrão de ornamentação da exina reticulado é muito difundido em Amaryllidaceae, sendo constatado nos gêneros *Caliphruria* Herb. (Meerow 1989), *Crinum* L. (Huang 1972; Erdtman 1966), *Eucharis* Planch. (Meerow & Dehgan 1988; Meerow 1989), *Haemanthus* L. (Sharma 1967), *Hymenocallis* Salisb. (Huang 1972; Erdtman 1966; Roubik & Moreno 1991), *Lycoris* Herb. (Huang 1972), *Narcissus* L. (Huang 1972), dentre outros.

A análise hierárquica de cluster realizada (AHC) revelou dois grupos, um composto por espécies apenas de um dos subgêneros (*G. subg. Griffinia*) e outro formado pela espécie pertencente a *G. subg. Hyline* (*G. gardneriana*) e por *W. procera*. A disposição dos pontos (representando as espécies) ao longo do gráfico na análise de componentes principais (PCA) permitiu a individualização de táxons, observando-se certa facilidade na delimitação de grupos ao longo dos eixos de ordenação revelando a divisão de atributos polínicos e a diferenciação de algumas espécies.

Ao analisar o dendrograma observou-se que apenas *G. alba* emergiu separadamente das demais espécies do grupo (Fig 7). Tal informação é corroborada pelo PCA, onde é possível visualizar apenas esta espécie no extremo polo positivo do eixo 1. Essa separação se deve ao fato do táxon em questão apresentar os menores valores de DM e Dm, diferentemente das demais espécies do mesmo subgênero (*G. subg. Griffinia*).

O restante das espécies de *G. subg. Griffinia* formaram dois subgrupos na análise de agrupamento (AHC), *G. hyacinthina*, *G. intermedia*, *G. parviflora* e *G. concinna* (subgrupo 2'A) e *G. espiritensis*, *G. liboniana* e *G. paubrasilica* (subgrupo 2'B) compatível com o resultado apresentado pela análise do componente principal (PCA) em que as espécies do subgrupo 2'A se aproximam pelos valores de Dm (diâmetro menor) e as do subgrupo 2'B se agregam pelos valores do CS (comprimento do sulco).

Em contrapartida *G. gardneriana* (*G. subg. Hyline*) e *W. procera* mostraram os maiores valores de DM, Dm, DP, DE e CS, dentre todas as espécies estudadas, sendo assim, foram separadas das demais espécies na análise de clusters, esta separação foi

confirmada pela análise de componente principal, ao observar que ambas se encontram mais afastadas das mesmas variáveis.

Griffinia alba mostrou-se muito próxima a *G. hyacinthina*, da qual diferiu por apresentar flores totalmente brancas, o que os autores da espécie consideraram inédito para o subgênero *Griffinia* (Campos-Rocha 2015). No entanto a palinologia demonstrou que grãos de pólen médios, com sulcos de limites bem definidos e membrana apertural ornamentada por aréolas distinguiram *G. alba* das demais espécies.

De acordo com os estudos taxonômicos e morfológicos do gênero *Griffinia* de Campos-Rocha (2015) *G. concinna* e *G. hyacinthina* possuem semelhanças em relação à sua morfologia externa, enquanto que em *G. intermedia* foi constatada a presença de características intermediárias entre outras duas espécies (*G. hyacinthina* e *G. parviflora*). Em relação ao estudo palinológico estes táxons puderam ser diferenciados pelo padrão de ornamentação da exina e de abertura. *G. concinna* e *G. parviflora* apresentaram sexina reticulada com divergências nas características dos muros e lumens como pode ser constatada na chave polínica. *G. hyacinthina* e *G. intermedia* exibiram sexina microrreticulada, porém, apenas *G. intermedia* apresentou sulcos com limites difusos, característica esta, exclusiva entre as espécies analisadas.

Griffinia espiritensis foi considerada semelhante a *G. paubrasilica* sendo diferenciadas pelo seu fruto muito peculiar e *G. liboniana* distinguiu-se das outras espécies por apresentar folhas sésseis com máculas esbranquiçadas (Campos-Rocha 2015). A morfologia polínica demonstrou divergências entre as espécies em questão, os grãos de pólen de *G. paubrasilica* diferem de *G. espiritensis* pelas características da membrana apertural, conforme exposto na chave polínica e *G. liboniana* diferiu destas

outras por ter apresentado membrana apertural com aréolas de microrretículo esparsamente distribuídas.

Ao revisar o gênero *Griffinia*, Preuss (1999) acrescentou informações sobre a distribuição geográfica, a morfologia e as pressões ecológicas sofridas pelo gênero em questão. Embora não tenha realizado nenhum estudo polínico, o autor utilizou a coloração dos grãos de pólen com uma das características para distinguir os subgêneros *G. subg. Griffinia* (pólen branco) e *G. subg. Hyline* (pólen amarelo). Porém Campos-Rocha (2015) observou pólen de coloração amarela em *G. alba* (*G. subg. Griffinia*).

Na presente análise da morfologia polínica dos representantes do gênero *Griffinia*, as espécies dos dois subgêneros puderam ser diferenciadas pelo padrão de ornamentação da exina: reticulada ou microrreticulada em *G. subgênero Griffinia* e microrreticulada com báculos e microespinhos supratactais em *G. subgênero Hyline*.

Um padrão de ornamentação da exina semelhante ao observado em *G. subgênero Hyline* também foi descrito por Erdtman (1952) para *Crinum americanum* L. e *Amaryllis belladonna* e por Punekar *et al.* (2005-2006) para *Crinum woodrowii* Baker e *Crinum brachynema* Herb. embora estes táxons não sejam filogeneticamente relacionados.

Os resultados encontrados apresentam valor taxonômico e sistemático, possibilitando distinguir os táxons por caracteres pontuais, inclusive espécies estritamente relacionadas.

Cabe ressaltar que as espécies *G. alba*, *G. concinna*, *G. espiritensis*, *G. intermedia*, *G. liboniana*, *G. parviflora*, *G. paubrasilica* e *W. procera* foram estudadas palinologicamente pela primeira vez no presente trabalho.

Conclui-se que, os grãos de pólen das espécies da tribo Griffineae analisadas apresentaram variações morfológicas dentre os quais, a forma da abertura (sulco) a ornamentação da membrana apertural, e o padrão de ornamentação da exina, permitiram a distinção dos táxons. Além disso, foram encontrados caracteres exclusivos a cada um dos subgêneros de *Griffinia* e também do gênero *Worsleya* (*G.* subg. *Hyline* = sexina microrreticulada, com báculos e microespinhos supratactais; *G.* subg. *Griffinia* = sexina reticulada ou microrreticulada sem processos supratactais; *Worsleya* = lumens de menores dimensões ao redor dos lumens maiores) diferenciando-os. Foram evidenciadas também, semelhanças entre os grãos de pólen dos gêneros *Worsleya* e *Hippeastrum* sendo este último pertencente à tribo Hippeastreae.

Desta forma, os atributos polínicos apresentaram divergências morfológicas valiosas à sistemática de Griffineae corroborando a atual circunscrição do gênero *Griffinia* em subgêneros, e foram informativos à delimitação das espécies.

5. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Alves-Araújo, A., Santos, F. de A. R. dos, 2007. Caracterização palinológica das espécies de Amaryllidaceae sensu stricto ocorrentes no nordeste brasileiro. *Acta Botanica Brasílica* 21(4): 967-976.
- Alves-Araújo, A., Dutilh, J. A. H. & Alves, M. 2009. Amaryllidaceae s.s. e Alliaceae s.s. no nordeste brasileiro. *Rodriguésia* 60 (2): 311-331.
- 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.
- Campos-Rocha, A. N. 2015. Estudos taxonômicos e morfológicos do gênero *Griffinia* Ker Gawl. (Amaryllidaceae). Campinas, São Paulo, Dissertação de Mestrado, Universidade Estadual de Campinas. 228p.
- Candido, R. S., Fourny, A. C. da S., Gonçalves-Esteves, V., Lopes, R. C. 2013. *Hippeastrum* species in áreas of restinga in the state of the Rio de Janeiro, Brazil: pollen characters. *Acta Botânica Brasílica* 27(4): 661-668.
- Dutilh, J. H. A. 2005. Amaryllidaceae in: Wanderley, M.G.L., Shepherd, G. J. Melhem, T.S. & A.M. Giuliatti (ed) *Flora Fanerogâmica do Estado de São Paulo*. São Paulo, Instituto de Botânica. 4: 244-256.
- Dutilh, J.H.A., Oliveira, R.S. 2015. *Amaryllidaceae* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. (<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB43>)
- Erdtman, G. 1952. *Pollen morphology and plant taxonomy - Angiosperms*. Upsala. Almqvist e Wiksell. 539p., 261 figs.
- Erdtman, G. 1966. *Pollen morphology and plant taxonomy - Angiosperms*. New York, Hafner Publishing Company.

- Flora do Brasil 2020 em construção. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em:
< <http://floradobrasil.jbrj.gov.br/> >. Acesso em: 20 Jun. 2017
- Halbritter, H. 1992. Morphologie und Systematische Bedeutung des Pollens der Bromeliaceae. Grana 31: 197-212
- Halbritter, H. & Hesse M. 1993. Sulcus morphology in some monocot families. Grana 32 (2): 87-99.
- Huang, T.-S. 1972. Pollen flora of Taiwan. National Taiwan University Botany Department Press.
- Ker-Gawler, J. B. 1820. *Griffinia parviflora* Ker The Botanical Register London 6: 511.
- Legendre, P & Legendre, L. 1998. Numerical Ecology. Elsevier, Amsterdam.
- McCune B, Mefford M J., 2011. PC-ORD. Multivariate Analysis of Ecological Data. Version 6. MjM Software, Gleneden Beach, Oregon, U.S.A.
- Meerow, A.W. & Dehgan, B. 1988. Pollen morphology of the Eucharidae (Amaryllidaceae). American Journal of Botany 75(12): 1857-1870.
- Meerow, A. W. 1989. Systematics of the Amazon lilies, Eucharis and Caliphruria (Amaryllidaceae). Annals of the Botanical Garden 76(1):136-220.
- Meerow, A. W. & Snijman, D. A. 1998. Amaryllidaceae. In K. Kubitzki (ed.). The families and genera of vascular plants. Monocotyledons – Lilianae (except Orchidaceae). Hamburg, Germany. 83-110p.
- Meerow, A. W., Guy, C. L., Li, Q.-B., Yang, S. L. 2000. Phylogeny of the American Amaryllidaceae based on nrDNA ITS sequences. Systematic Botany 25(4): 708-726.

- Meerow, A.W., Preuss, K.D., Tombolato, F.C. 2002. *Griffinia* (Amaryllidaceae), a critically endangered Brazilian geophyte with horticultural potential. Proc. 8th Int. Symp. On Flowerbulbs Eds. G. Littlejohn et al. Acta Hort. 570, ISHS 2002.
- Melhem, T. S., Cruz-Barros, M. A. V., Corrêa, A. M. S., Makino-Watanabe, H., Silvestre-Capelato, M. S. F. & Gonçalves-Esteves, V. 2003. Morfologia polínica em plantas de Campos do Jordão (São Paulo, Brasil). Boletim do Instituto de Botânica 16:1-104.
- Ministério do Meio Ambiente. 2014. Portaria nº 443, de 17 de dezembro de 2014. Lista Nacional Oficial de Espécies da Flora Ameaçadas de Extinção. Available from: <http://sintse.tse.jus.br/documentos/2014/Dez/18/portaria-no-443-de-17-de-dezembro-de-2014> (accessed: 22 February 2017).
- Preuss, K. D. 1999. The genus *Griffinia* Ker Gawler (Amaryllidaceae) revisited. *Herbertia* 54: 51-54.
- Punekar, S. A., Limaye, R. B., Kumaran, K. P. N. 2005–2006. Morphotaxonomy and palynology of two endemic species of *Crinum* L. (Amaryllidaceae) from the Western Ghats of India *Herbertia* 60: 92-104.
- Punt, W.; Blackmore, S.; Nilsson, S. & Le Thomas, A. 2007. Glossary of pollen and spore terminology. *Review of Paleobotany and Palynology* 143: 1-81.
- Ravenna, P. 1969. Studies in the genus *Griffinia*: Invalidity of the genus *Hyline*. *Pl. Life* 25: 62-63.
- Ravenna, P. 1974. Contributions to South American Amaryllidaceae IV. *Plant Life* 30: 64-70
- Raynal, A. & Raynal, J. 1971. Une technique de preparation des grains de pollen fragilis. *Adansônia* 11(1): 77-79.

- Reitsma, T. 1969. Size modification of recent pollen grains under different treatments. *Review of Paleobotany and Palynology*. Amsterdam. 9: 175-202.
- Roubik, D.W. & Moreno, J.E. 1991. Pollen and Spores of Barro Colorado Island. Missouri Botanical Garden. Monographs in Systematic Botany, 33 p.
- 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.m
- Salgado-Labouriau, M. L. 1973. Contribuição à palinologia dos cerrados. Academia Brasileira de Ciências. Rio de Janeiro. 291p.
- Sharma, M. 1967. Pollen morphology of Indian monocotyledons. *Journal of Palynology* Special volume: 1-98.
- Specieslink. Disponível em: <<http://slink.cria.org.br/>>. Acesso em junho de 2013.
- Thiers, B. [continuously updated]. Index Herbariorum: a global directory of public herbaria and associated staff. New York Botanical Garden's Virtual Herbarium. Disponível em <<http://sweetgum.nybg.org/science/ih/>>. Acesso em 8 de julho de 2015.
- Traub, H.P. 1963. Genera of the Amaryllidaceae. American Plant Life Society, California, La Jolla.
- Zavada, M.S. 1983. Comparative morphology of monocot pollen and evolutionary trends of apertures and wall structures. *Botanical Review* 49(4): 331-379.

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

| 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% |
| Subgênero <i>Griffinia</i> | | | | | | |
| <i>G. alba</i> | 41,2-46,2 | 43,7 \pm 0,3 | 43,1-44,3 | 20,0-25,0 | 22,4 \pm 0,2 | 21,9-23,0 |
| <i>G. concinna</i> | 57,5-65,0 | 60,5 \pm 0,5 | 59,6-61,4 | 40,0-47,5 | 44,2 \pm 0,5 | 43,2-45,2 |
| <i>G. espiritensis</i> | 50,0-55,0 | 53,0 \pm 0,3 | 52,3-53,6 | 35,0-40,0 | 36,7 \pm 0,3 | 36,1-37,4 |
| <i>G. hyacinthina</i> | 55,0-60,0 | 58,2 \pm 0,3 | 57,5-58,8 | 41,3-47,5 | 43,9 \pm 0,3 | 43,3-44,5 |
| <i>G. intermedia</i> | 52,5-67,5 | 59,1 \pm 0,7 | 57,6-60,6 | 40,0-50,0 | 43,8 \pm 0,5 | 42,7-44,9 |
| <i>G. liboniana</i> | 50,0-56,2 | 53,8 \pm 0,4 | 53,2-54,6 | 37,5-42,5 | 39,7 \pm 0,4 | 38,9-40,5 |
| <i>G. parviflora</i> | 55,0-72,5 | 61,4 \pm 0,9 | 59,4-63,4 | 40,0-55,0 | 44,2 \pm 0,8 | 42,5-45,9 |
| <i>G. paubrasilica</i> | 45,0-51,3 | 48,0 \pm 0,4 | 47,2-48,7 | 32,5-40,0 | 35,9 \pm 0,4 | 35,1-36,6 |
| Subgênero <i>Hyline</i> | | | | | | |
| <i>G. gardineriana</i> | 67,5-75,0 | 72,6 \pm 0,4 | 71,7-73,4 | 47,5-55,0 | 50,6 \pm 0,4 | 49,7-51,5 |
| <i>Worsleya</i> | | | | | | |
| <i>W. procera</i> | 80,0-92,5 | 84,5 \pm 0,7 | 83,1-85,9 | 53,7-66,2 | 60,7 \pm 0,7 | 59,3-62,1 |

\bar{x} - média aritmética; s_x - desvio padrão da média; I.C.- intervalo de confiança

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

| Espécie | Diâmetro Polar | | Diâmetro Equatorial | |
|-----------------------------------|-------------------|------|---------------------|------|
| | Faixa de Variação | x | Faixa de Variação | X |
| Subgênero <i>Griffinia</i> | | | | |
| <i>G. alba</i> | 22,5-27,5 | 23,9 | 42,5-47,5 | 44,7 |
| <i>G. concinna</i> | 41,3-45,0 | 42,9 | 60,0-65,0 | 61,9 |
| <i>G. espiritensis</i> | 35,0-37,5 | 36,6 | 50,0-53,7 | 52,4 |
| <i>G. hyacinthina</i> | 37,5-43,8 | 41,6 | 58,8-65,0 | 61,3 |
| <i>G. intermedia</i> | 40,0-45,0 | 43,1 | 52,5-57,5 | 55,7 |
| <i>G. liboniana</i> | 40,0-43,7 | 41,4 | 52,5-57,5 | 55,7 |
| <i>G. parviflora</i> | 37,5-42,5 | 40,8 | 53,8-62,5 | 58,1 |
| <i>G. paubrasilica</i> | 33,8-37,5 | 35,9 | 47,5-52,5 | 49,9 |
| Subgênero <i>Hyline</i> | | | | |
| <i>G. gardneriana</i> | 47,5-52,5 | 49,6 | 70,0-75,0 | 72,9 |
| <i>Worsleya</i> | | | | |
| <i>W. procera</i> | 52,5-57,5 | 55,6 | 77,5-82,5 | 79,7 |

x- média aritmética

Tabela 3. Médias (μm) da abertura, das camadas da exina, do lúmen e do muro dos grãos de pólen de espécies de *Griffinia* e *Worsleya* (n=10).

| Espécies | Sulco | | Espessura da Exina | | | Lúmen | Muro |
|-----------------------------------|-------|-------|--------------------|--------|--------|----------|-------|
| | Comp. | Larg. | Exina | Sexina | Nexina | Diâmetro | Larg. |
| Subgênero <i>Griffinia</i> | | | | | | | |
| <i>G. alba</i> | 37,9 | 6,5 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | <1 | ----- |
| <i>G. concinna</i> | 57,9 | 9,1 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | 3,2 | 0,8 |
| <i>G. espiritensis</i> | 47,8 | 6,9 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | <1 | ----- |
| <i>G. hyacinthina</i> | 53,6 | 7,7 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | <1 | ----- |
| <i>G. intermedia</i> | 58,7 | 9,7 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | <1 | ----- |
| <i>G. liboniana</i> | 47,4 | 6,7 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | <1 | ----- |
| <i>G. parviflora</i> | 57,5 | 7,6 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | 1,5 | 0,6 |
| <i>G. paubrasílica</i> | 42,9 | 7,8 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | 3,5 | 1,7 |
| Subgênero <i>Hyline</i> | | | | | | | |
| <i>G. gardneriana</i> | 67,7 | 5,5 | 2,0 | 1,0 | 1,0 | <1 | ----- |
| <i>Worsleya</i> | | | | | | | |
| <i>W. procera</i> | 80,4 | 11,2 | 1,9 | 1,0 | 0,9 | 4,7 | 0,7 |

Tabela 4. Médias (μm) dos espécimes de comparação de espécies de *Griffinia* e *Worsleya* em vista polar e equatorial (n=10).

| Espécimes | Vista Polar | | Vista Equatorial | |
|-----------------------------------|----------------|----------------|------------------|---------------------|
| | Diâmetro maior | Diâmetro menor | Diâmetro polar | Diâmetro equatorial |
| Subgênero <i>Griffinia</i> | | | | |
| <i>G. concinna</i> | | | | |
| G. R. de Souza 04 | 59,8 | 41,0 | 39,7 | 56,9 |
| <i>G. hyacinthina</i> | | | | |
| C. Duarte 68 | 57,4 | 43,5 | 42,2 | 60,5 |
| A. C. Brade 20249 | 59,6 | 45,7 | 31,1 | 60,6 |
| A. F. C. Tombolato | 60,4 | 47,6 | 45,0 | 62,5 |
| s/n° (IAC 36315). | | | | |
| <i>G. intermedia</i> | | | | |
| A. C. Brade 17448 | 58,2 | 45,4 | 44,1 | 57,6 |
| <i>G. parviflora</i> | | | | |
| A. P. Fontana 2544 | 60,2 | 43,0 | 42,5 | 59,0 |
| <i>G. paubrasilica</i> | | | | |
| L. A. M. Silva 687 | 54,5 | 35,9 | 34,5 | 52,5 |
| Subgênero <i>Hyline</i> | | | | |
| <i>G. gardneriana</i> | | | | |
| M. N. Saka 1502 | 82,1 | 52,1 | 45,4 | 82,4 |
| <i>Worsleya</i> | | | | |
| <i>W. procera</i> | | | | |
| G. Martinelli 16049 | 80,5 | 61,3 | 58,1 | 78,2 |
| M. A. Moraes 47 | 79,2 | 59,8 | 59,0 | 77,1 |
| D. Sucre 4529 | 81,0 | 60,8 | 57,5 | 79,0 |

Tabela 5. Matriz de dados com caracteres quantitativos e suas respectivas numerações de espécies de *Griffinia* e *Worsleya*.

| Espécies | Abreviações | DM | Dm | DP | DE | CS | LS | DL |
|------------------------|--------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| <i>G. alba</i> | <i>alb</i> | 43,7 | 22,4 | 23,9 | 44,7 | 37,9 | 6,5 | 1 |
| <i>G. concinna</i> | <i>conc</i> | 60,5 | 44,2 | 42,9 | 61,9 | 57,9 | 9,1 | 3,2 |
| <i>G. espiritensis</i> | <i>esp</i> | 53 | 36,7 | 36,6 | 52,4 | 47,8 | 6,9 | 1 |
| <i>G. gardneriana</i> | <i>gar</i> | 72,6 | 50,6 | 49,6 | 72,9 | 67,7 | 5,5 | 1 |
| <i>G. hyacinthina</i> | <i>hya</i> | 58,2 | 43,9 | 41,6 | 61,3 | 53,6 | 7,7 | 1 |
| <i>G. intermedia</i> | <i>int</i> | 59,1 | 43,8 | 43,1 | 55,7 | 58,7 | 9,7 | 1 |
| <i>G. liboniana</i> | <i>lib</i> | 53,8 | 39,7 | 41,4 | 55,7 | 47,4 | 6,7 | 1 |
| <i>G. parviflora</i> | <i>par</i> | 61,4 | 44,2 | 40,8 | 58,1 | 57,5 | 7,6 | 1,5 |
| <i>G. paubrasilica</i> | <i>pau</i> | 48 | 35,9 | 35,9 | 49,9 | 42,9 | 7,8 | 3,5 |
| <i>W. procera</i> | <i>pro</i> | 84,5 | 60,7 | 55,6 | 79,7 | 80,4 | 11,2 | 4,7 |

*DM-diâmetro maior; Dm-diâmetro menor; DP-diâmetro maior; DE-diâmetro equatorial; CS-comprimento do sulco; LS-largura do sulco; DL-diâmetro do lúmen

Tabela 6. Variância acumulativa e valores dos vetores da análise de componente principal (PCA)

| Eixo Principal | 1 | 2 |
|---------------------------|--------------|----------|
| Variância Acumulativa (%) | 88,70 | 6,56 |
| Caracteres | Eixos | |
| Diâmetro Maior (DM) | - 0,4459 | 0,0814 |
| Diâmetro menor (Dm) | -0,4736 | 0,0167 |
| Diâmetro Polar (DP) | -0,3988 | 0,0826 |
| Diâmetro Equatorial (DE) | -0,3938 | 0,1082 |
| Comprimento do Sulco (CS) | -0,4899 | 0,0546 |
| Largura do Sulco (LS) | -0,0887 | -0,4322 |
| Diâmetro Lúmem (DL) | -0,1221 | -0,8859 |

Figura 1: Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Griffinia*. A-G: *G. alba* – A. vista polar, B. vista equatorial, C,D. análise de L.O., E. vista polar: abertura (MEV), F. vista equatorial (MEV), G. detalhe da superfície; H-M: *G. concinna* – H. vista polar, I,J. análise de L.O., K. vista polar: corte óptico, L. vista polar: abertura (MEV), M. detalhe da superfície (MEV); N-R: *G. espiritensis* – N. vista polar, O,P. análise de L.O., Q. vista equatorial (MEV), R. vista polar: abertura (MEV).

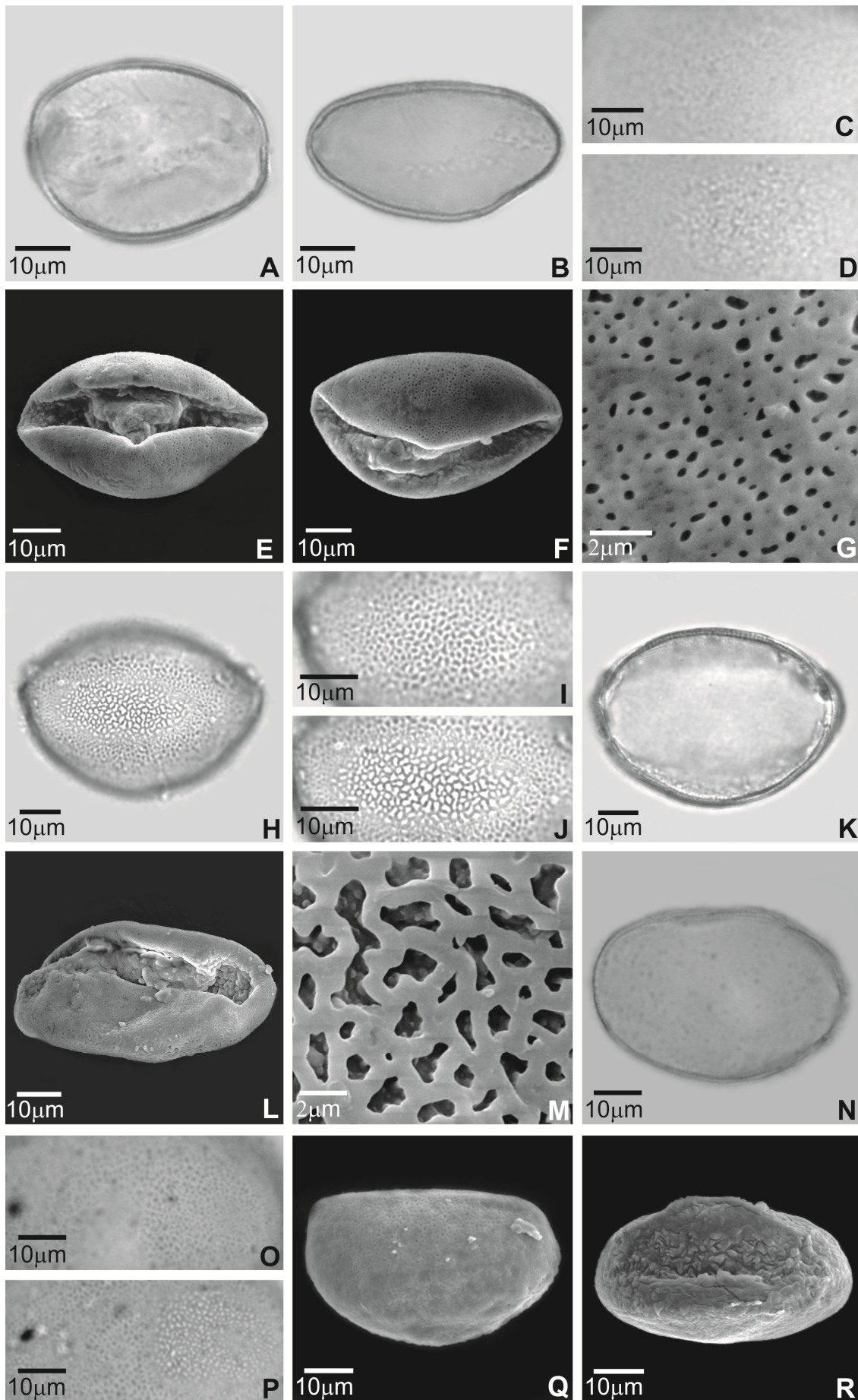


Figura 2: Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Griffinia*. A-B: *G. espiritensis* – A. vista polar: face proximal (MEV), B. detalhe da superfície (MEV); C-I: *G. gardneriana* – C. vista polar, D,E. análise de L.O., F. vista polar: abertura (MEV), G. vista equatorial (MEV) H. detalhe da abertura (MEV), I. detalhe da superfície (MEV); J-O: *G. hyacinthina* – J. vista polar, K. vista equatorial, L,M. análise de L.O., N. vista polar: abertura (MEV), O. detalhe da superfície (MEV); P-Q: *G. intermedia* – P. vista polar, Q. vista equatorial.

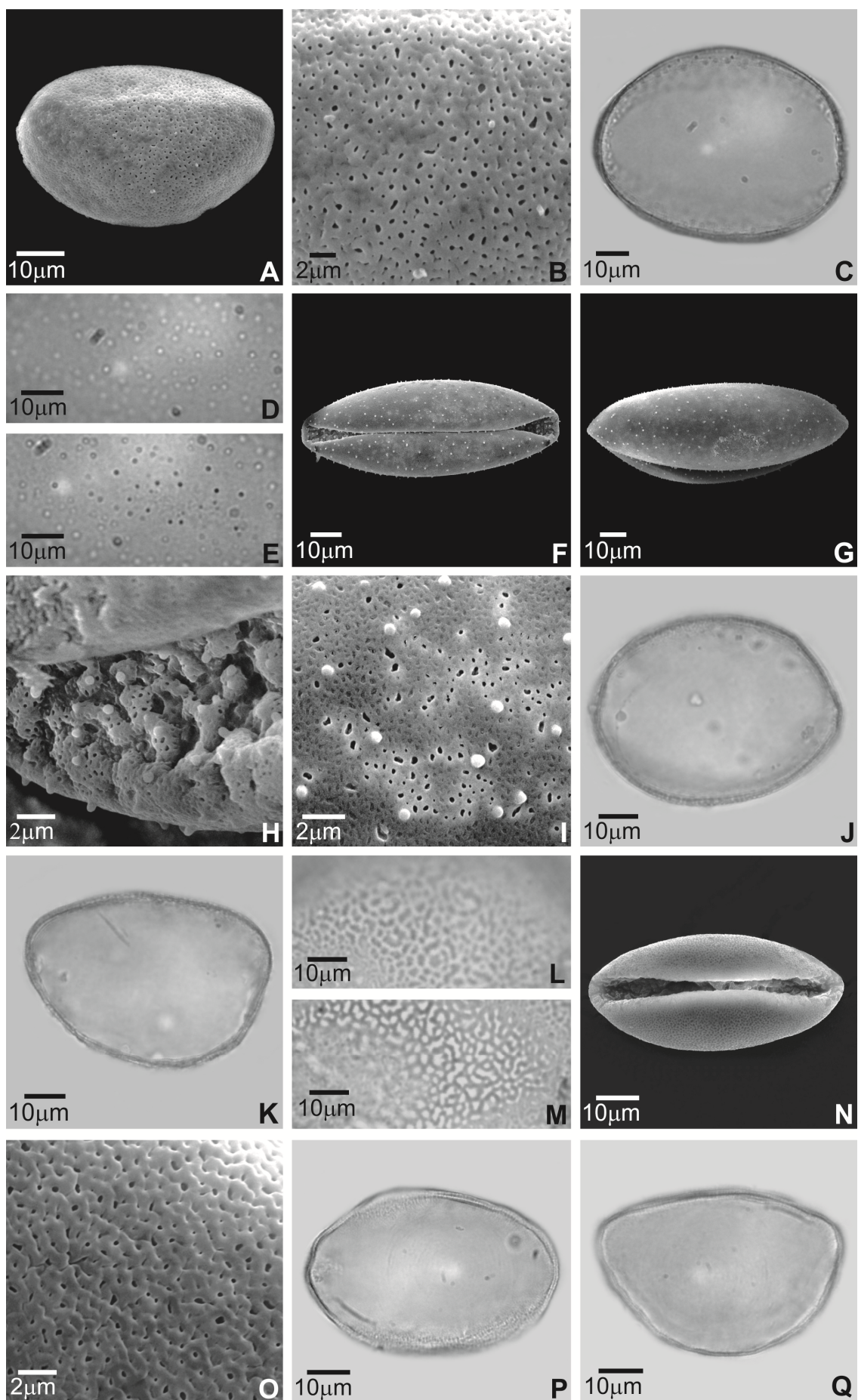
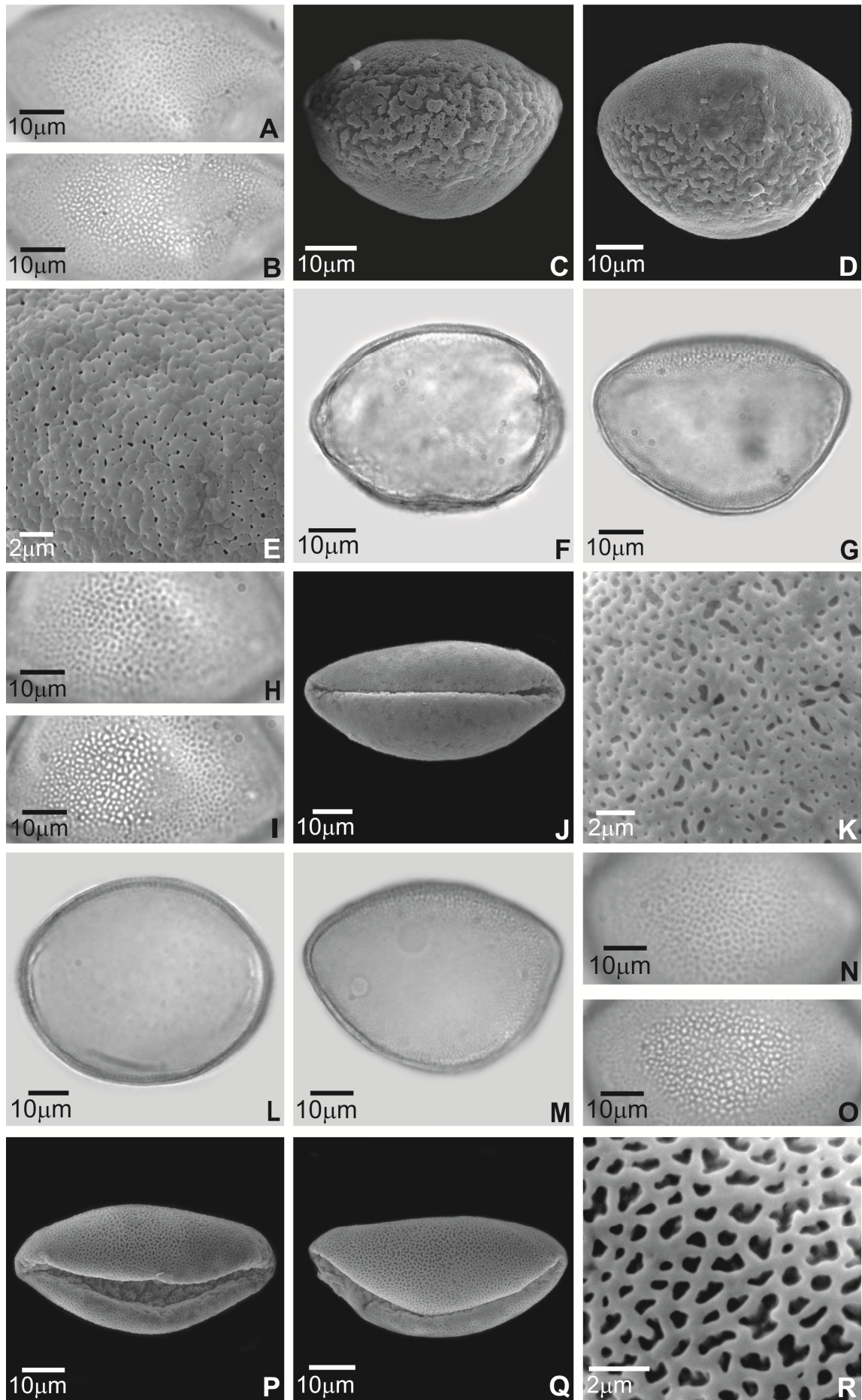


Figura 3: Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Griffinia*. A-E: *G. intermedia* – A,B. análise de L.O., C. vista polar: abertura (MEV), D. vista equatorial (MEV), E. detalhe da superfície (MEV); F-K: *G. liboniana* – F. vista polar (corte óptico), G. vista equatorial, H,I. análise de L.O., J. vista polar: abertura (MEV), K. detalhe da superfície (MEV); L-R: *G. parviflora* – L. vista polar (corte óptico), M. vista equatorial, N,O. análise de L.O., P. vista equatorial (abertura) (MEV), Q. vista equatorial (MEV), R. detalhe da superfície (MEV).



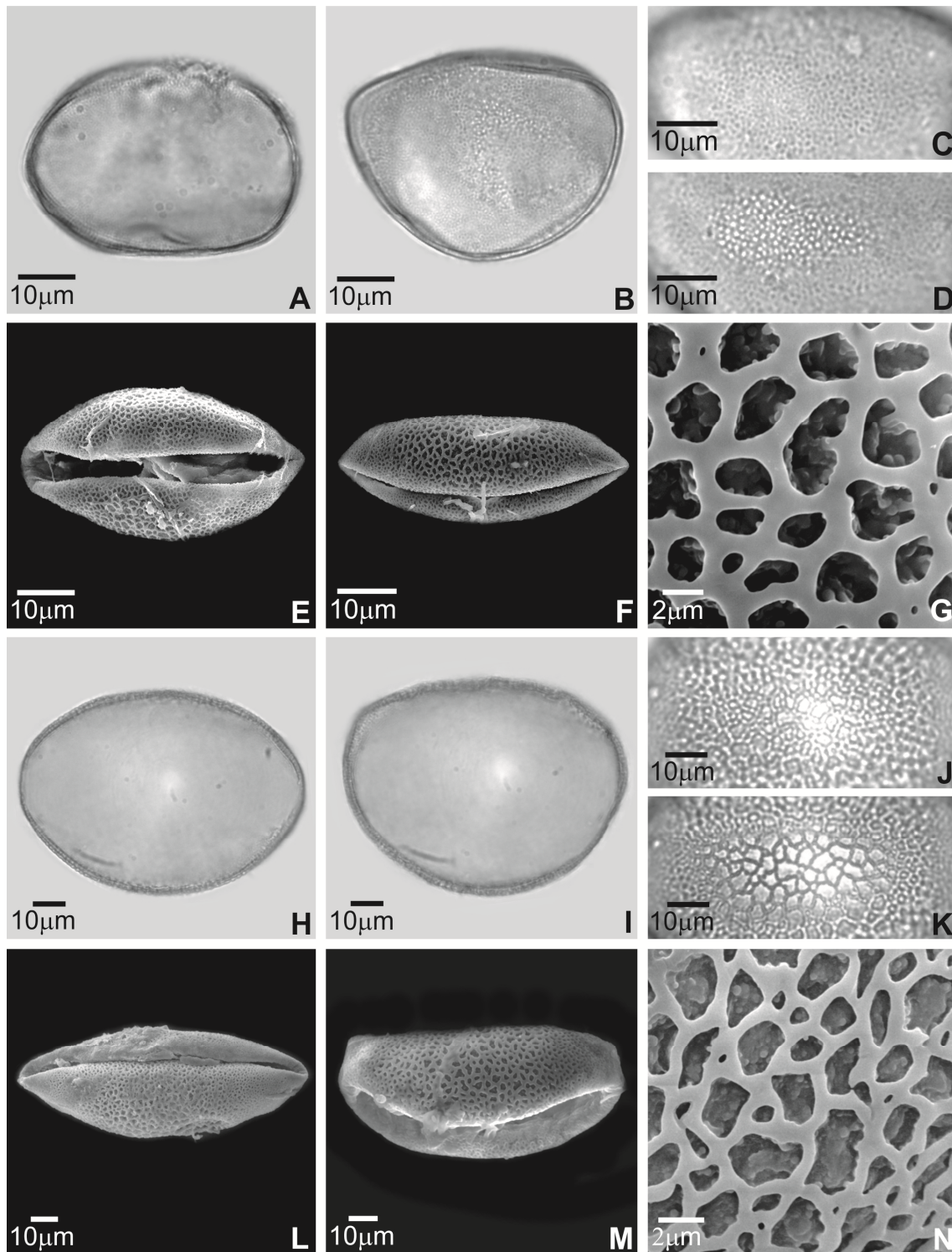


Figura 4: Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Griffinia* e *Worsleya*. A-G: *G. paubrasilica* – A. vista polar, B. vista equatorial (corte óptico), C,D. análise de L.O., E. vista polar: abertura (MEV), F. vista equatorial (MEV), G. detalhe da superfície (MEV); H-N: *W. procera* – H. vista polar (corte óptico), I. vista equatorial, J,K. análise de L.O., L. vista polar: abertura (MEV), M. vista equatorial (MEV), N. detalhe da superfície (MEV).

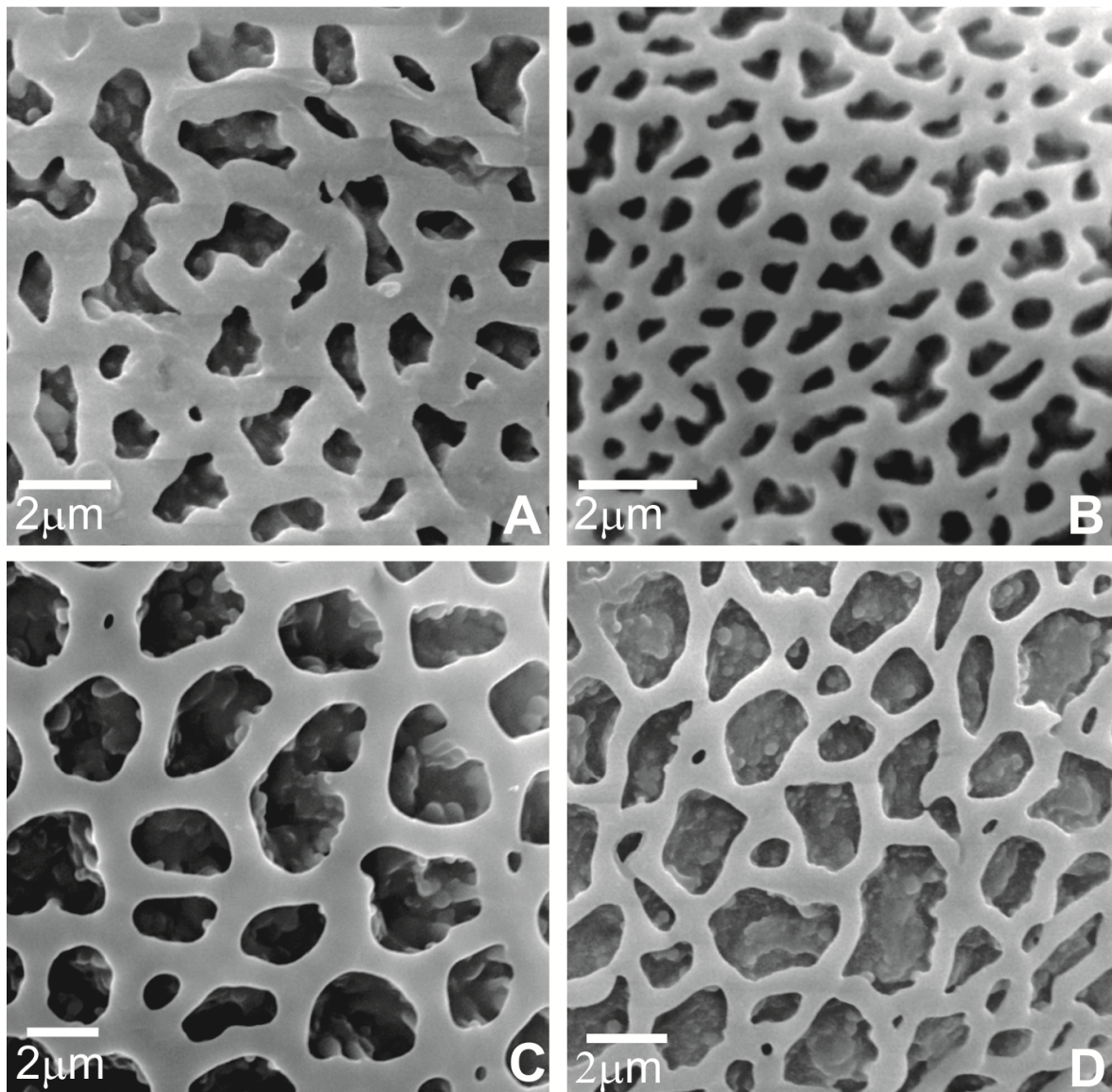


Figura 5: Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Griffinia* e *Worsleya*. A: *G. concinna* – detalhe da superfície (MEV); B: *G. parviflora* – detalhe da superfície (MEV); C: *G. paubrasilica* – detalhe da superfície (MEV); D: *W. procera* – detalhe da superfície (MEV).

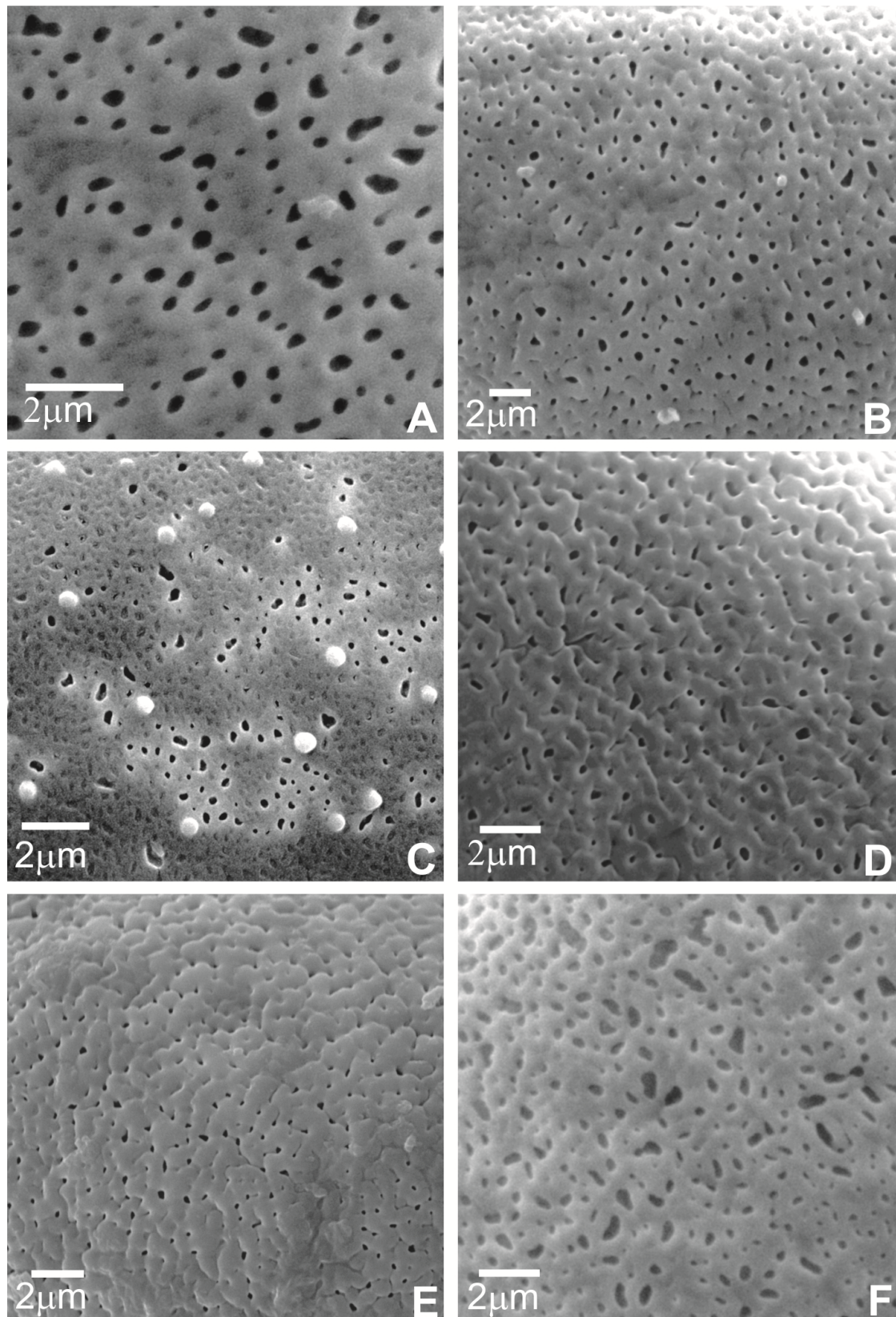
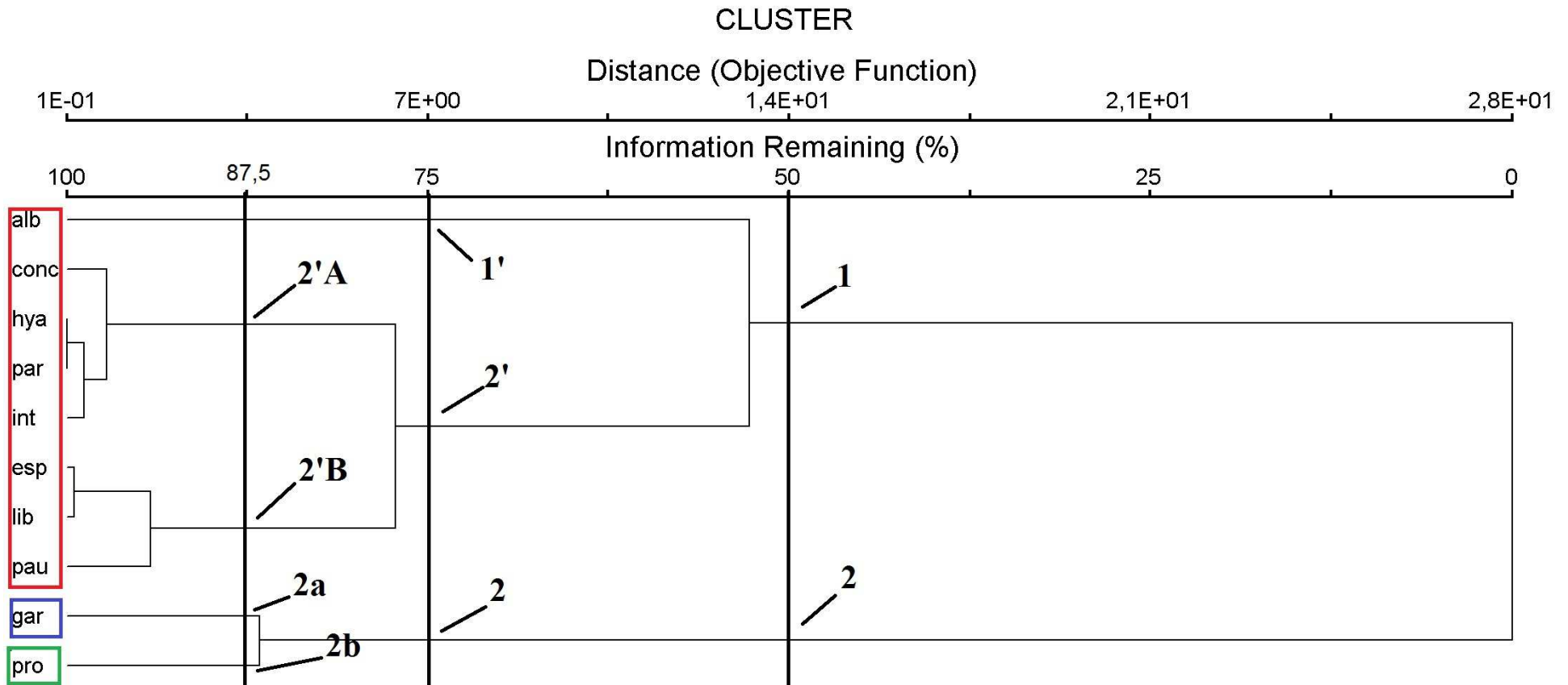


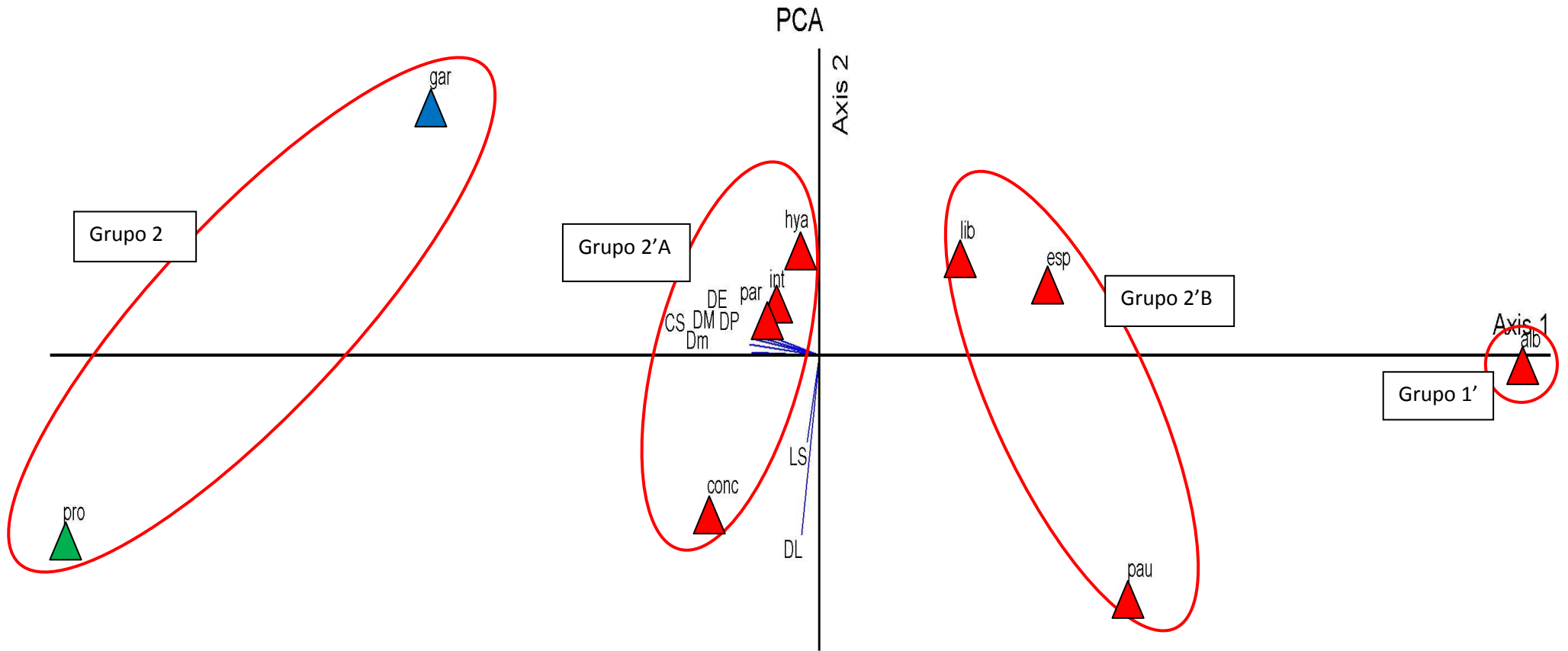
Figura 6: Fotomicrografias e eletromicrografias de espécies de *Griffinia*. A: *G. alba* – detalhe da superfície (MEV); B: *G. espiritensis* – detalhe da superfície (MEV); C: *G. gardneriana* – detalhe da superfície (MEV); D: *G. hyacinthina* – detalhe da superfície (MEV); E: *G. intermedia* – detalhe da superfície (MEV); F: *G. liboniana* – detalhe da superfície (MEV).

Figura 7. Dendograma combinado de dados quantitativos e qualitativos de espécies de *Griffinia* e *Worsleya* (Tribo Griffineae) por análise hierárquica de aglomeração (AHC). Espécies indicadas pelas 3/4 primeiras letras do epíteto específico.



- ▣ *Griffinia* subgênero *Griffinia*
- ▣ *Griffinia* subgênero *Hyline*
- ▣ *Worsleya procera*

Figura 8. Gráfico bidimensional representando as espécies de Griffineae em PCA. *G.* subg. *Griffinia* ▲, *G.* subg. *Hyline* ▲, *Worsleya* ▲



Apêndice 1.

Griffinia alba K.D.Preuss & Meerow. – **Brasil. Pernambuco:** Timbaúba, 02/10/2014, D.A.V. Lima* *et al.* 1478 (UEC). *Griffinia concinna* (Mart.) Ravenna – **Brasil. Espírito Santo:** Atilio Vivacqua, 10/03/1972, D. Sucre* 8614 (RB). Cachoeiro de Itapimirim, 16/03/2008, G. R. de Souza 04 (VIES).

Griffinia espiritensis Ravenna. – **Brasil. Espírito Santo:** Santa Leopoldina, 01/11/2014, M.N. Saka* 1500 (UEC). *Griffinia gardneriana* (Herb.) Ravenna. – **Brasil. Bahia:** Rio de Contas, 06/11/2012, J. Lovo* 392 (RB). **Rio de Janeiro:** Cabo Frio, Praia do Perú, 02/11/2014, M. N. Saka 1502 (UEC). *Griffinia hyacinthina* Ker Gawl. – **Brasil. Rio de Janeiro:** Paraty, Morro da Pedra Rolada, 08/03/1994, A. P. S. Ribeiro* 10 (RB). Paraty, APA-Cairuçu, 13/4/1994, C. Duarte 68 (RB). Duque de Caxias, Xerém, 22/03/1950, A. C. Brade 20249 (RB). Paraty, Condomínio Laranjeiras, 10/03/1995, A. F. C. Tombolato s/nº (IAC 36315). *Griffinia intermedia* Lindl. – **Brasil. Rio de Janeiro:** Itatiaia, Lote 88, 08/02/1942, A. C. Brade* 17151 (RB). Itatiaia, Lote 88 – Km 4, 15/02/1945, A. C. Brade 17448 (RB). *Griffinia liboniana* E.Morren – **Brasil. Espírito Santo:** São Mateus, 17/12/2013, M. N. Saka* 1371 (UEC).

Griffinia parviflora Ker Gawl. – **Brasil. Bahia:** Ubaitaba, 28/09/2013, A. Campos-Rocha* 1282 (UEC). Itapebi, São José, 23/11/2006, A. P. Fontana 2544 (RB). *Griffinia paubrasilica* Ravenna – **Brasil. Bahia:** Pau Brasil, Fazenda Pau Brasil, 07/10/1997, G. Hatschbach* 69792 (RB). Itamaraju, Fazenda Pau-Brasil, 31/10/1979, L. A. M. Silva 687 (R). *Worsleya procera* - **Brasil. Rio de Janeiro:** Petrópolis, Distrito de Araras, APA Petrópolis, 25/04/2006, M. A. Moraes* 112 (RB). Petrópolis, Pedra do Oratório, 14/03/2006, G. Martinelli 16049 (RB). Petrópolis, Alto das Perobas, 10/04/2006, M. A. Moraes 47 (RB). Petrópolis, Rocinha, 26/01/1969, D. Sucre 4529 (RB).

CONSIDERAÇÕES FINAIS

Foi realizada no presente trabalho a análise da morfologia polínica de 44 espécies da família Amaryllidaceae, destas sete foram inéditas para *Griffinia* e o mesmo número para *Habranthus*, 15 para *Hippeastrum*, três para *Zephyranthes*, e uma para *Worsleya*, somando 33 (75%) espécies. Do total analisado 27 (61,4%) espécies são endêmicas do território brasileiro de acordo com a Lista de Espécies da Flora do Brasil (Dutilh & Oliviera 2015), são elas: todas as espécies de *Griffinia*, visto que este é um gênero endêmico, *Habranthus bahiensis*, *Habranthus irwinianus*, *Habranthus lucidus*, *Habranthus sylvaticus*, *Hippeastrum aulicum*, *Hippeastrum blossfeldiae*, *Hippeastrum brasilianum*, *Hippeastrum breviflorum*, *Hippeastrum calyptratum*, *Hippeastrum canastrense*, *Hippeastrum cipoanum*, *Hippeastrum goianum*, *Hippeastrum morelianum*, *Hippeastrum papilio*, *Hippeastrum santacatarina*, *Hippeastrum stylosum*, *Zephyranthes cearensis*, *Zephyranthes mesochloa* e *Worsleya procera*. Além de *Habranthus lacteus*, *Hippeastrum reticulatum* e *Zephyranthes flavissima* com endemismo desconhecido.

Em relação à categoria de ameaça as espécies estudadas estão classificadas da seguinte maneira: **criticamente em perigo de extinção** (*Griffinia parviflora*, *Griffinia paubrasilica*, *Hippeastrum papilio*, *Hippeastrum vittatum*); **em perigo de extinção** (*Griffinia espiritensis*, *Griffinia gardneriana*, *Griffinia liboniana*, *Hippeastrum brasilianum*, *Hippeastrum brasilianum*, *Hippeastrum breviflorum*, *Hippeastrum goianum*, *Hippeastrum reginae*, *Hippeastrum santacatarina*, *Hippeastrum striatum* e *Zephyranthes candida*); **vulnerável** (*Habranthus irwinianus*, *Hippeastrum angustifolium*, *Hippeastrum morelianum*) (CNCFlora 2012), o que aumenta a importância de dados morfológicos que auxiliem a identificação e delimitação destes táxons.

Foi possível realizar o agrupamento dos gêneros estudados em diferentes padrões polínicos, de acordo com o padrão de ornamentação da exina, listados a seguir:

1) Sexina microrreticulada: Gênero *Griffinia* (Fig. 1A, B, D)

Espécies: *Griffinia alba*, *G. espiritensis*, *G. hyacinthina*, *G. intermedia*, *G. liboniana*.

Este padrão foi encontrado apenas em espécies de *Griffinia*, que mostraram certa homogeneidade dificultando a separação delas por essa característica. Desta maneira levou-se em consideração a morfologia dos sulcos e membrana apertural para diferenciá-las.

**2) Sexina microrreticulada com báculos e microespinhos supratectais:
Gênero *Griffinia* subgênero *Hylina* (Fig. 1A)**

Espécie: *Griffinia gardneriana*.

Padrão exclusivo do gênero *Griffinia* subgênero *Hylina*, permitindo desta forma delimitar este subgênero.

**3) Sexina reticulada: Gêneros *Griffinia*, *Habranthus*, *Hippeastrum*,
Zephyranthes e *Worsleya* (Fig. 2A-F)**

Espécies: três espécies (*Griffinia*), seis espécies (*Habranthus*), 17 espécies (*Hippeastrum*), quatro espécies (*Zephyranthes*) e *Worsleya procera*.

Padrão mais comum entre as espécies estudadas, a maioria delas puderam ser diferenciadas pelas características dos muros e características e disposição dos lumens.

No gênero *Hippeastrum* as espécies que permaneceram agrupadas na chave polínica, puderam ser discriminadas na análise de cluster (ACH) e análise de componente principal (PCA).

4) Sexina birreticulada: *Habranthus* (Fig. 2D)

Espécies: *Habranthus irwinianus*.

Padrão encontrado apenas no gênero *Habranthus*, permitiu a diferenciação de *Habranthus irwinianus* das demais espécies do gênero.

5) Sexina retipilada: *Hippeastrum* (Fig. 4A-D)

Espécies: *Hippeastrum elegans*, *Hippeastrum goianum*, *Hippeastrum puniceum*, *Hippeastrum reginae*.

Este padrão foi encontrado apenas em *Hippeastrum*, e agrupou espécies que apresentam morfologia externa muito próxima como: *H. elegans* e *H. goianum*; *H. puniceum* e *H. reginae*. Contudo as características e organização dos pilos foram importantes para a diferenciação das espécies em questão.

6) Sexina pilada: *Habranthus* (Fig. 3A, B e C)

Espécies: *Habranthus bahiensis* e *Habranthus sylvaticus*

No presente estudo este padrão ocorreu apenas no gênero *Habranthus* e as espécies que apresentaram tal padrão foram separadas pela organização e características dos pilos.

Deste modo, conclui-se que a família Amaryllidaceae é claramente euripolinica, sendo o padrão de ornamentação um marcador morfológico na delimitação das espécies.

Ao restringir a análise polínica ao nível genérico, conclui-se que, dentre os seis padrões de ornamentação da sexina identificados destacaram-se o pilado e o birreticulado presente apenas no gênero *Habranthus*, indicando sua distinção em relação ao gênero *Zephyranthes* que apresentou apenas sexina reticulada, embora ambos os gêneros apresentem morfologia externa vegetativa e floral muito semelhante. Evidenciou-se também que o padrão microrreticulado com báculos e microespinhos suprategmiais caracterizou o gênero *Griffinia* subgênero *Hyline*. *Hippeastrum* foi o gênero mais homogêneo quanto ao padrão de ornamentação da exina, uma vez que a maioria das espécies exibiram sexina reticulada, e desta forma não foi possível a distinção dos subgêneros de *Hippeastrum* através dos atributos polínicos, contudo, também foi revelado o padrão retipilado exclusivamente neste gênero. Em contrapartida *Griffinia* e *Habranthus* apresentaram heterogeneidade quanto ao mesmo atributo (ornamentação da exina), apresentando três tipos polínicos diferentes cada um, dificultando a delimitação precisa dos gêneros e conseqüentemente da tribo Griffineae e subtribo Zephyranthineae.

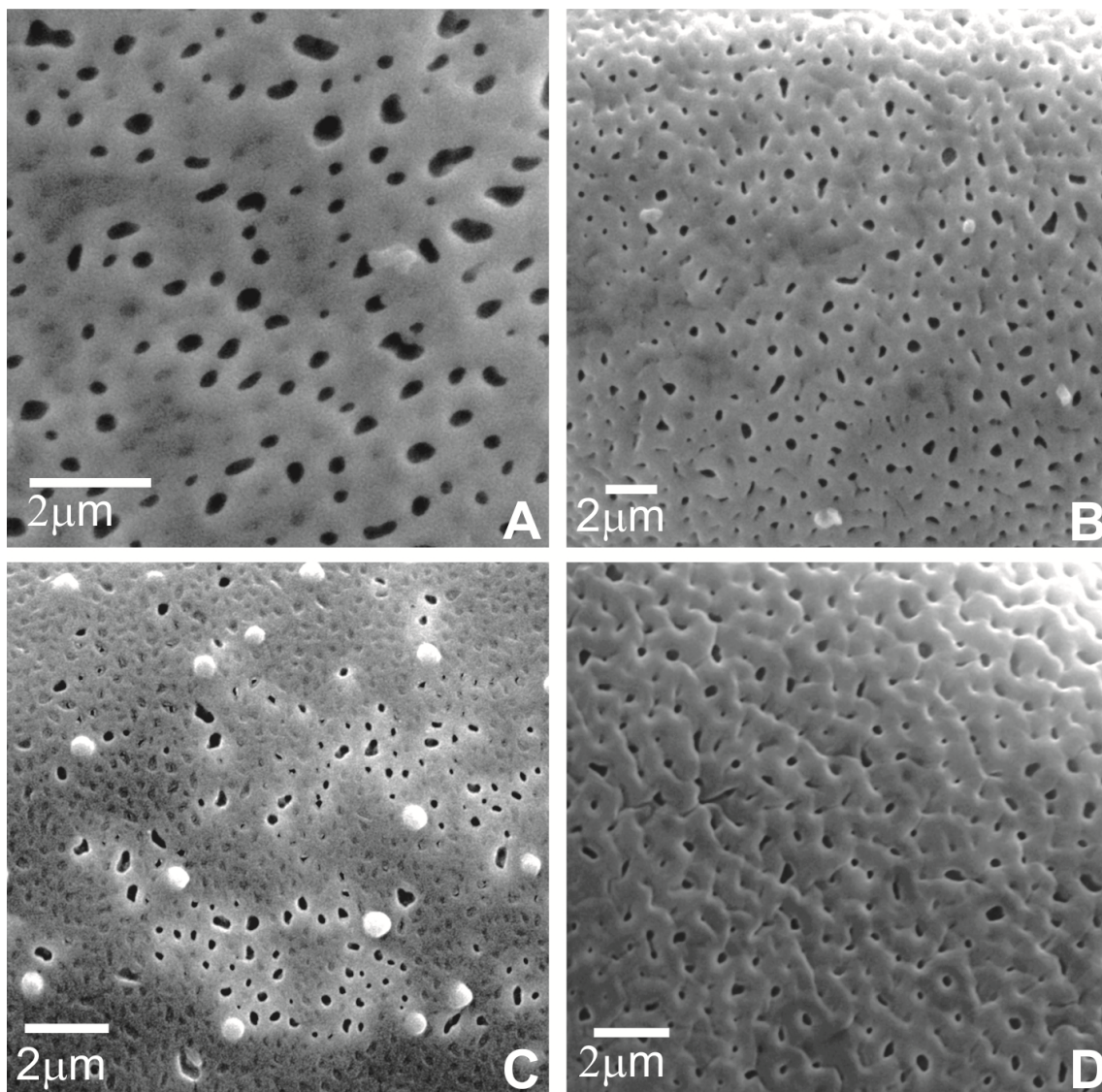


Figura 1. Eletromicrografias do detalhe da superfície dos grãos de pólen dos tipos 1 e 2. Tipo 1- Exina microrreticulada: A, B e D. Espécies de *Griffinia*: A. *Griffinia alba*; B. *Griffinia espiritensis*; D. *Griffinia hyacinthina*. Tipo 2- Exina microrreticulada com báculos e microespinhos supratectais: C. *Griffinia gardneriana*.

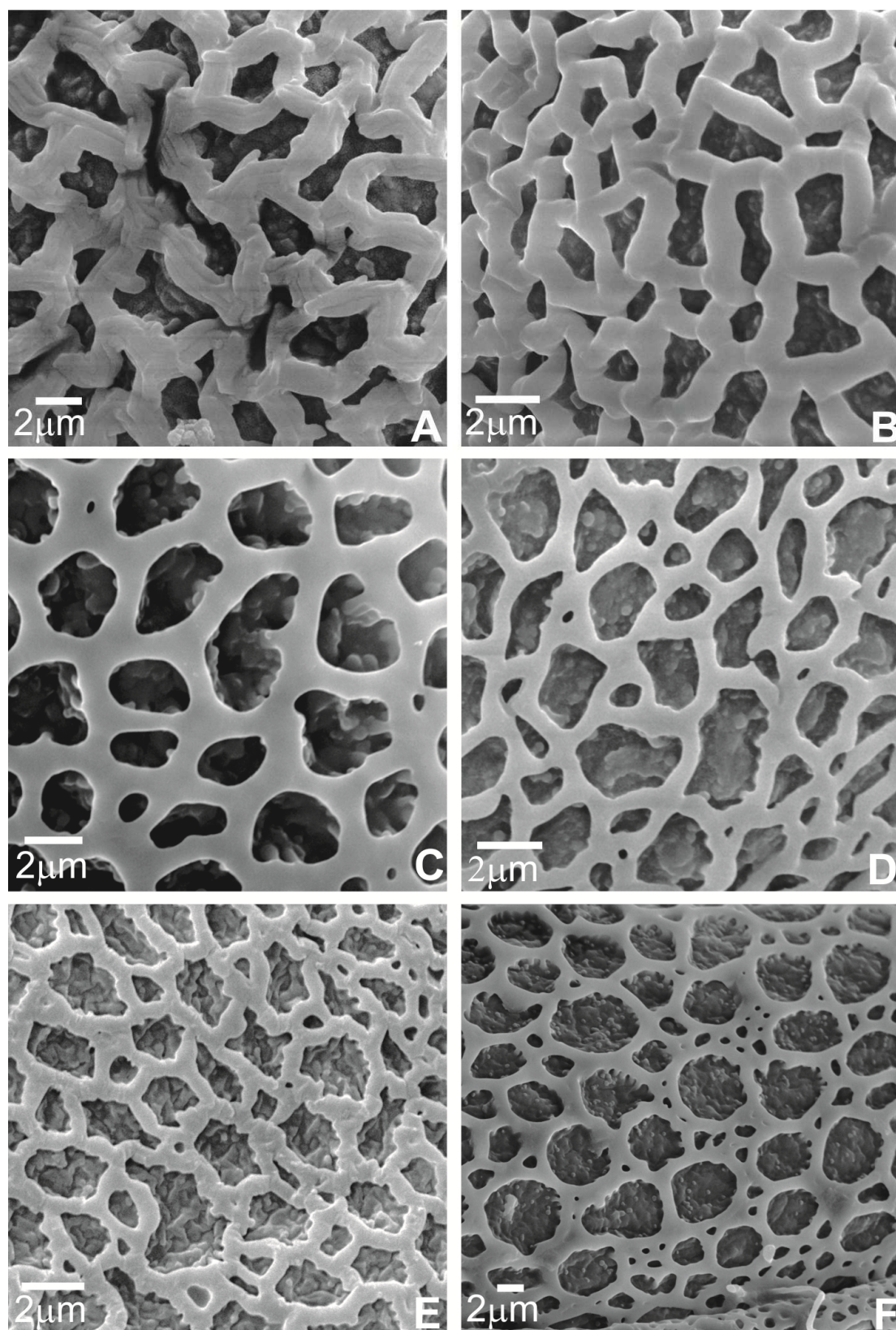


Figura 2. Eletromicrografias do detalhe da superfície dos grãos de pólen dos tipos 3. Tipo 3- Exina reticulada: A. *Zephyrantes candida*; B. *Habranthus brachyandrus*; C. *Griffinia paubrasilica*; D. *Worsleya procera*; E. *Hippeastrum glaucescens*; F. *Hippeastrum calypratum*.

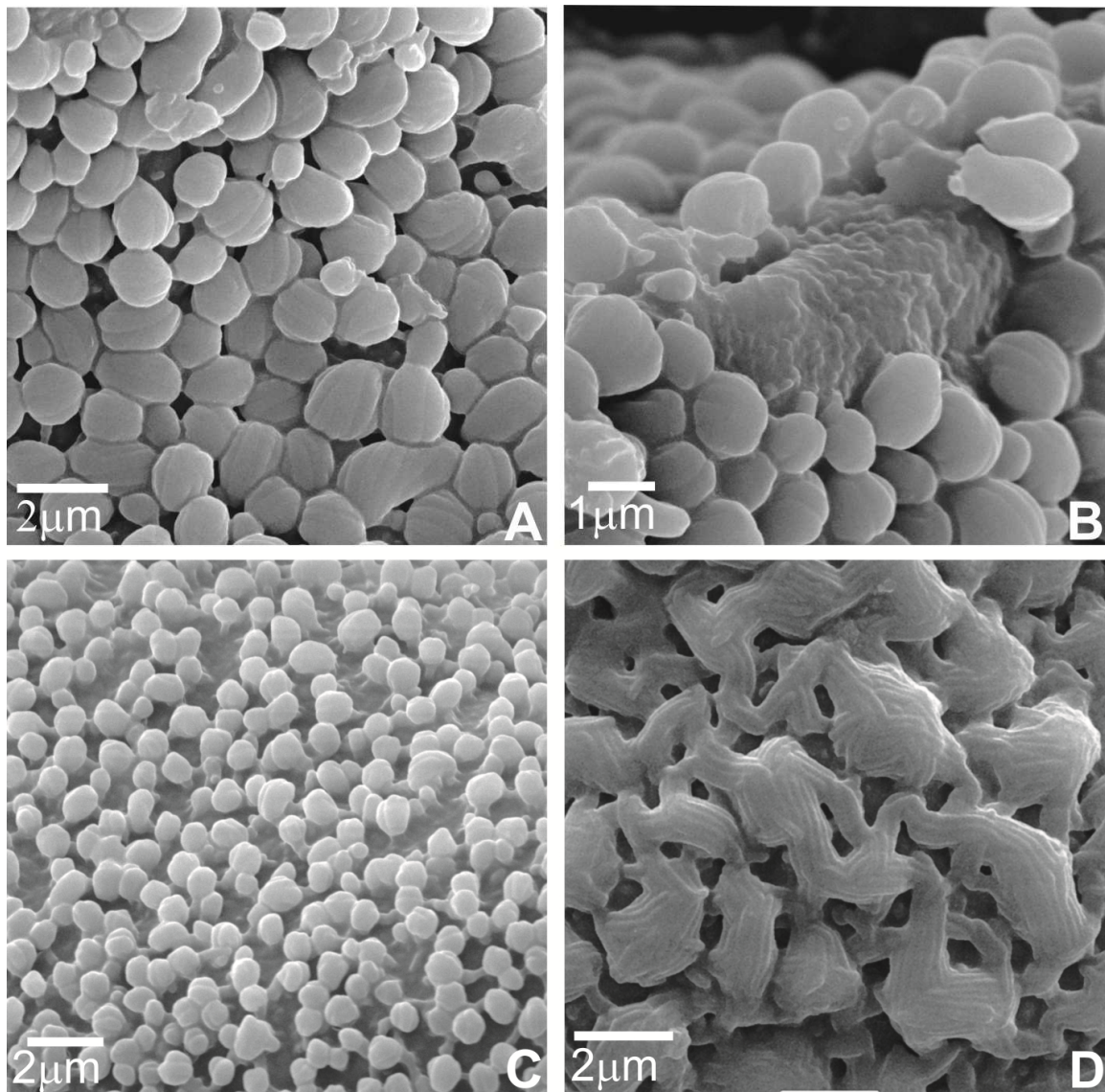


Figura 3. Eletromicrografias do detalhe da superfície dos grãos de pólen dos tipos 4 e 6. Tipo 4- Exina birreticulada: D. *Habranthus irwinianus*. Tipo 6- Exina pilada: A, B. *Habranthus bahiensis*; C. *Habranthus sylvaticus*.

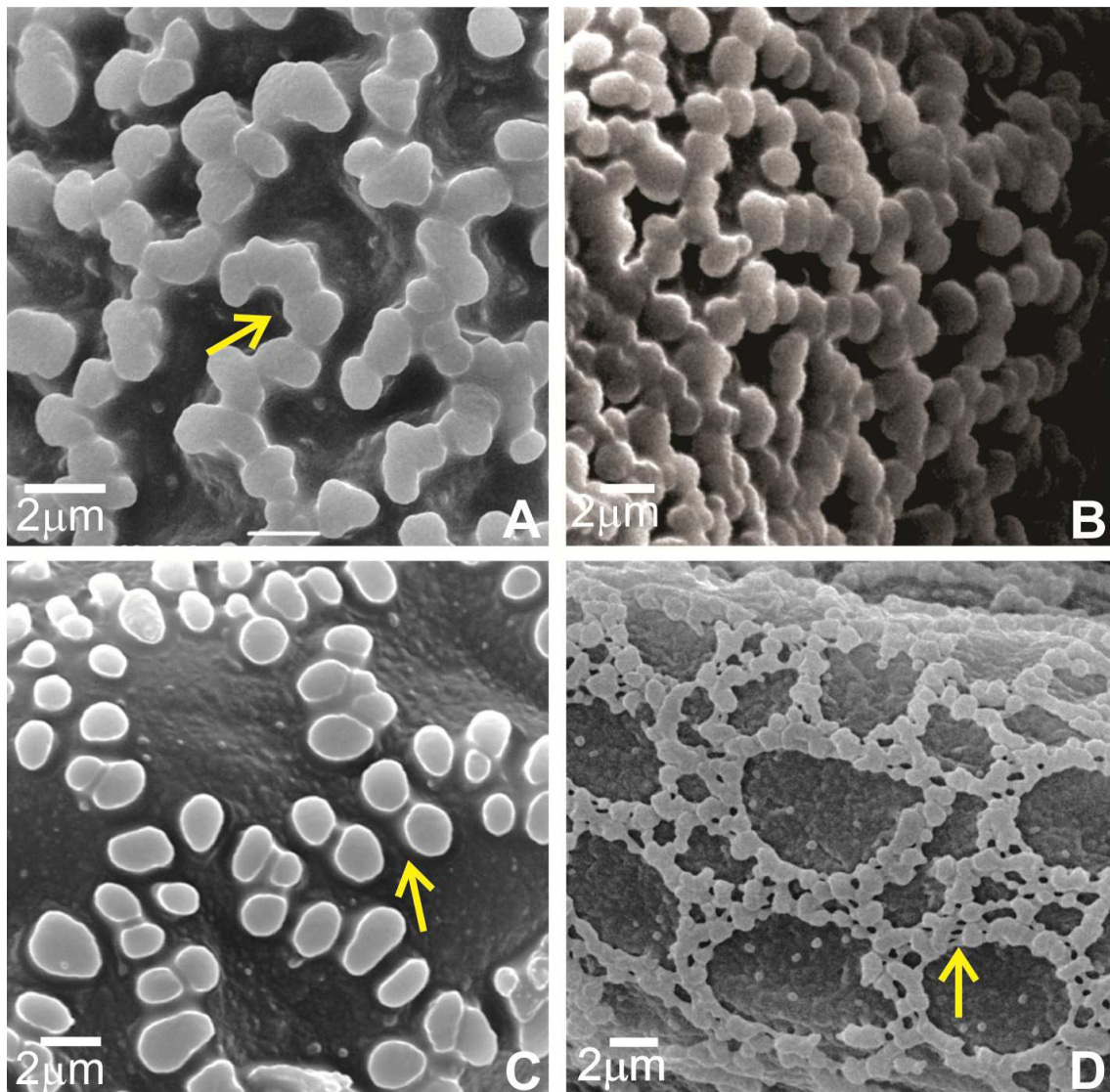


Figura 4. Eletromicrografias do detalhe da superfície dos grãos de pólen dos tipos 5. Tipo 5- Exina retipilada: A, B, C, D. Espécies de Hippeastrum: A. *Hippeastrum elegans*; B. *Hippeastrum goianum*; C. *Hippeastrum puniceum*; D. *Hippeastrum reginae*.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Amaryllidaceae in **Flora do Brasil 2020 em construção**. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/reflora/floradobrasil/FB33515>>. Acesso em: 18 Jun. 2017

Dutilh, J.H.A.,Oliveira, R.S. 2015. *Amaryllidaceae* in Lista de Espécies da Flora do Brasil. Jardim Botânico do Rio de Janeiro. Disponível em: <<http://floradobrasil.jbrj.gov.br/jabot/floradobrasil/FB33515>>.